

Lemonnier H.<sup>1</sup>, Barri K.<sup>1</sup>, Pham D.<sup>1</sup>, Wabete N.<sup>1</sup>, Boulo V.<sup>1</sup>, Lignot J.H.<sup>2</sup>, Royer F.<sup>1</sup>, Hubert M.<sup>1</sup>, Blockmans B.<sup>3</sup>, Pierrot T.<sup>4</sup>, Laugier T.<sup>1</sup>, Tostin N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> IFREMER-LEAD Nouvelle-Calédonie

<sup>2</sup> Adaptation Ecophysiological et Ontogénèse, UMR 5119 ECOSYM, Université Montpellier 2

<sup>3</sup> Groupement des Fermes Aquacoles

<sup>4</sup> Centre Technique Aquacole - Adecap Technopole

## Introduction

L'aquaculture est une activité importante du paysage économique de la Nouvelle-Calédonie. Elle se focalise essentiellement sur une seule espèce, la crevette Bleue du Pacifique, *Litopenaeus stylirostris* élevée dans des bassins de terre de 4 à 10 hectares.

Une coloration orange prononcée au niveau des branchies (BO), comparable à celle observée suite à un stress hypoxique alors qu'aucun déficit en oxygène n'est constaté, est apparue récemment engendrant une décote du produit à la vente et donc un risque économique supplémentaire pour cette filière déjà fragilisée par des vibrioses.



Témoin



Branchie orange (BO)

## Matériel et méthodes

Les échantillons (animaux, eaux, sédiments) ont été prélevés sur la ferme La Sodacal fortement impactée par ce phénomène au cours de la saison de production (2013/2014).

Différentes expérimentations et suivis ont été réalisés sur ce site pour étudier la variabilité spatiale (à l'échelle du bassin et de la ferme) et temporelle de ce phénomène (proportion d'animaux touchés).

Deux expérimentations ont été conduites avec des cages placées dans un bassin pour analyser l'influence du sédiment sur l'apparition des BO. Les influences de la mue, du sexe et du poids ont été étudiées sur plusieurs centaines d'animaux.

Les branchies ont été disséquées puis observées par microscopie optique et par microscopie électronique à balayage (MEB). Des coupes histologiques associées à différentes colorations ont été réalisées sur plusieurs branchies. Une analyse chimique des métaux dans les branchies a été réalisée sur des pools de 5 individus (Témoin et BO) pour confirmer les observations réalisées par histologie. Enfin, les éléments chimiques (C, N, O, Fe...) ont été cartographiés par microscopie électronique à balayage.

Les eaux interstitielles des sédiments ont été prélevées à l'aide de Rhizons en évitant tout contact avec l'air pour une analyse des métaux et des sulfures. Le pH et le potentiel d'oxydo-réduction ont été mesurés à l'aide de sondes insérées directement dans le sédiment prélevé. Les données environnementales (T°, O<sub>2</sub>, pH, salinité) et zootechniques ont été extraites de la base Stylog.



## Résultats et discussion

Le phénomène se déclare à un poids moyen de 18 g pour une durée moyenne d'élevage de 80 jours (Fig. 1).

L'intensité de la couleur évolue avec le stade de mue, les animaux au stade pré-mue étant les plus touchés (Fig. 2 et 3).

Cette coloration disparaît avec la mue.

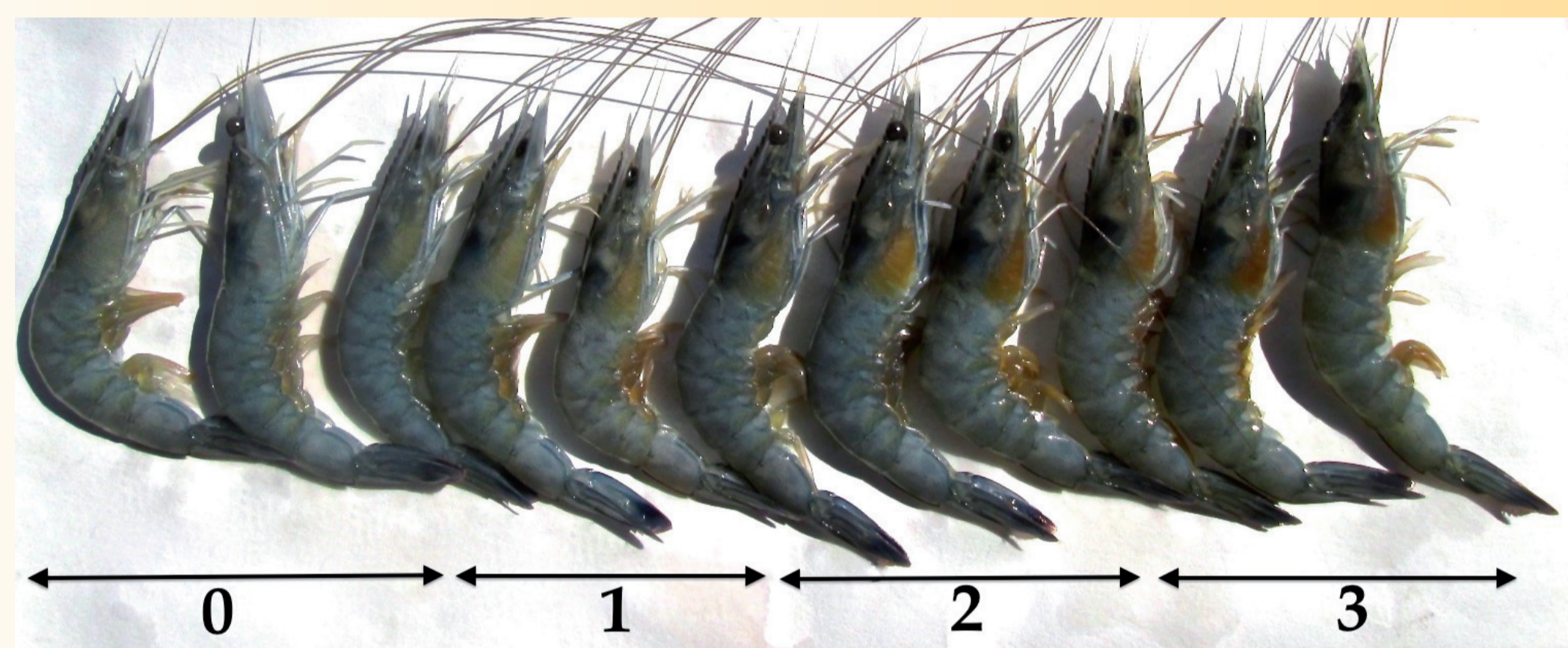


Figure 2 : Variations de l'intensité de la couleur orangée (BR) : 4 classes ont pu être distinguées

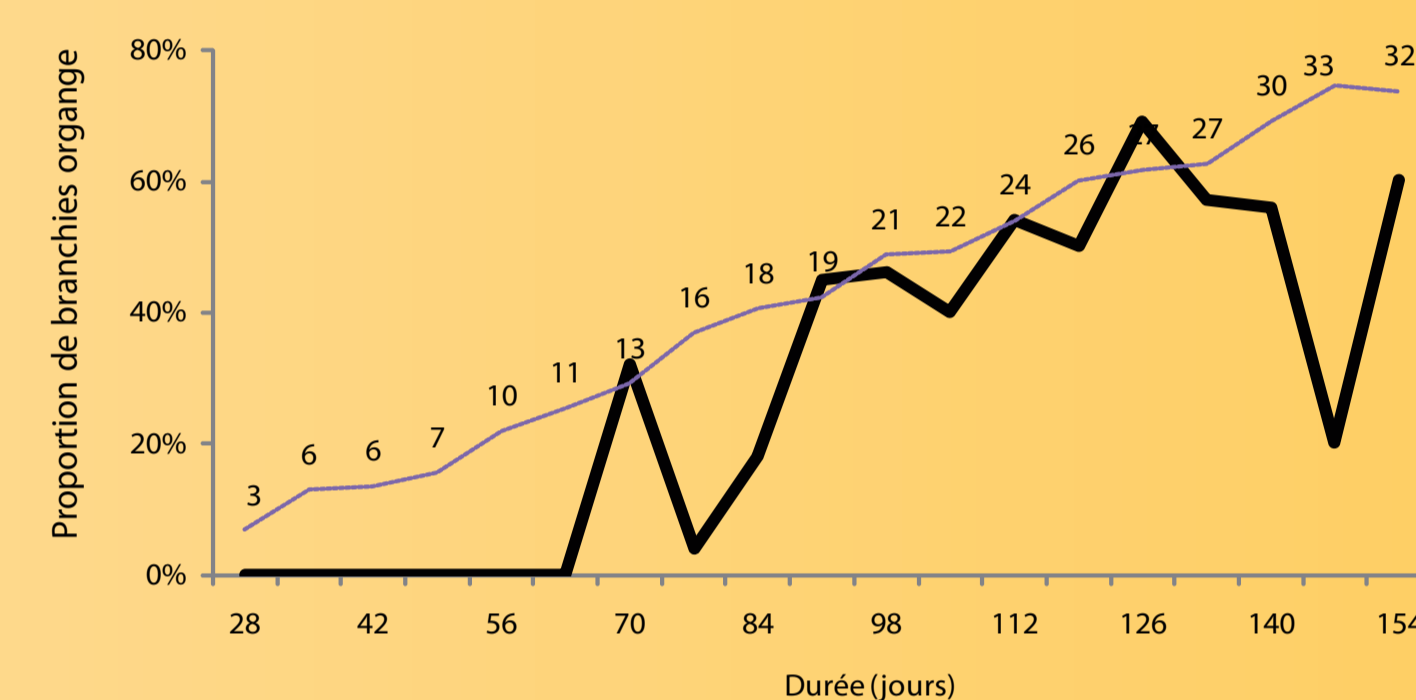


Figure 1 : Exemple d'évolution de la proportion de branchies orange dans un bassin d'élevage. Les chiffres sur le graphe représentent l'évolution du poids moyen des animaux

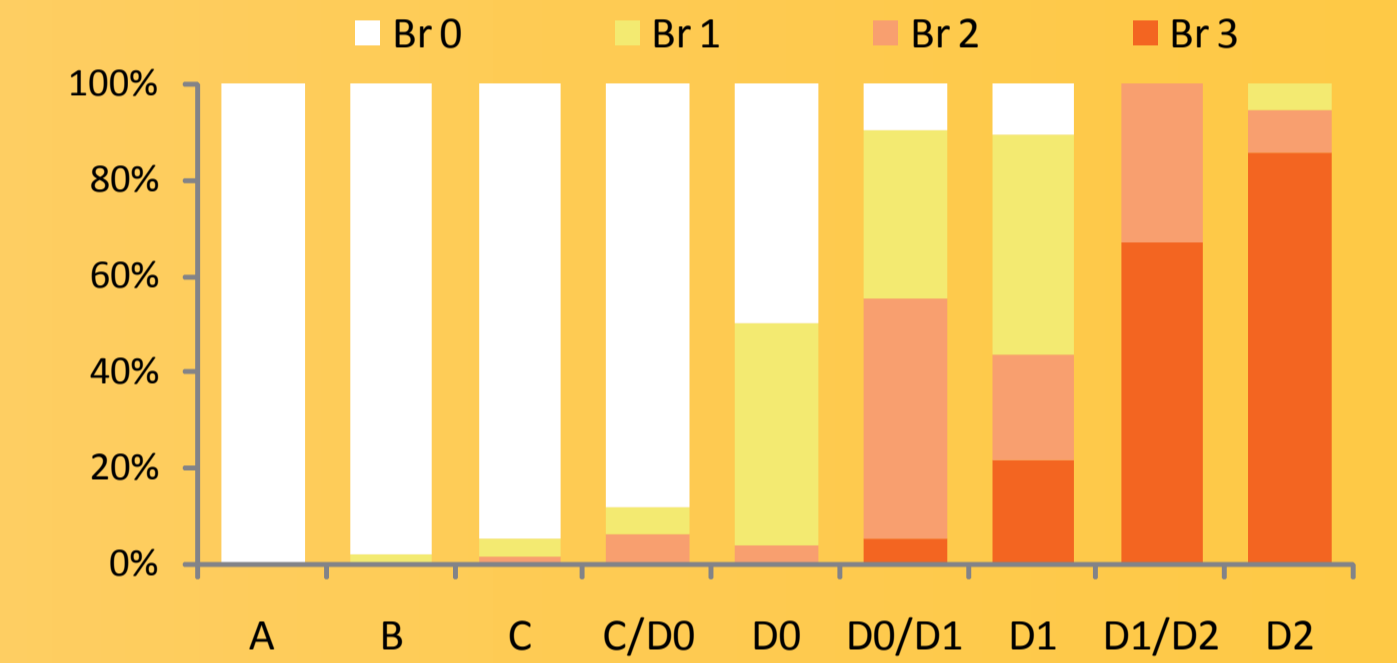


Figure 3 : Intensité de la couleur des branchies en fonction du stade de mue

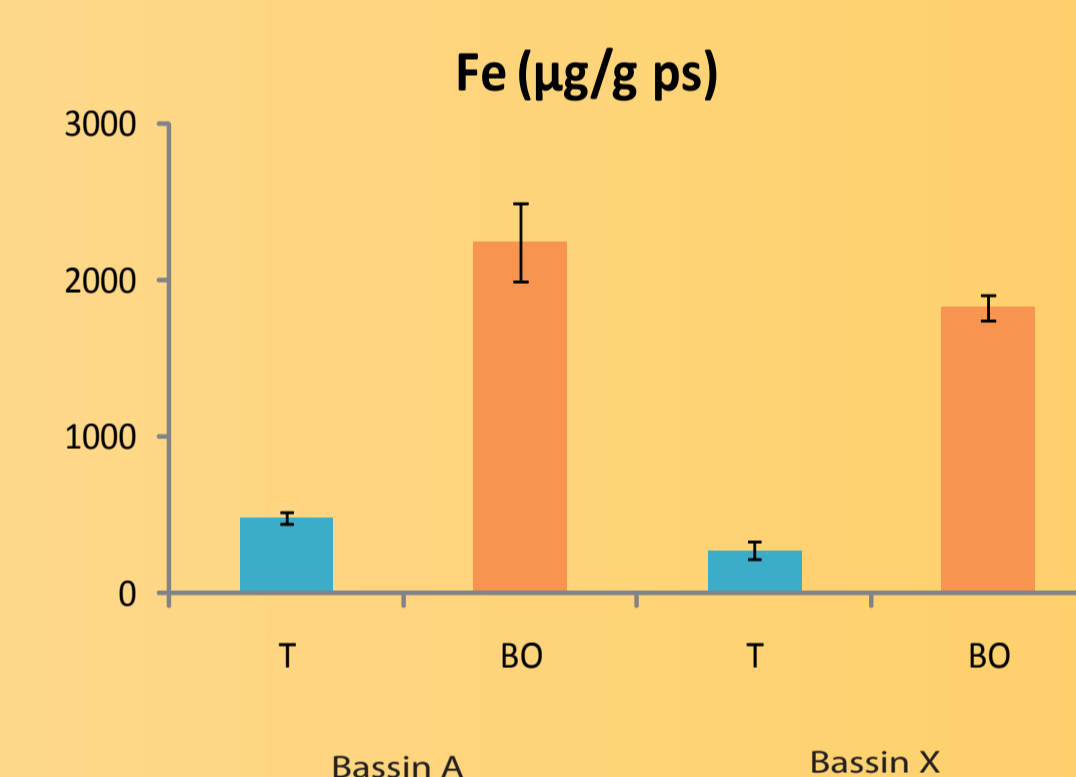


Figure 4 : Comparaison des concentrations en fer (N = 5) dans les branchies entre BO et témoins dans deux bassins différents de la même ferme

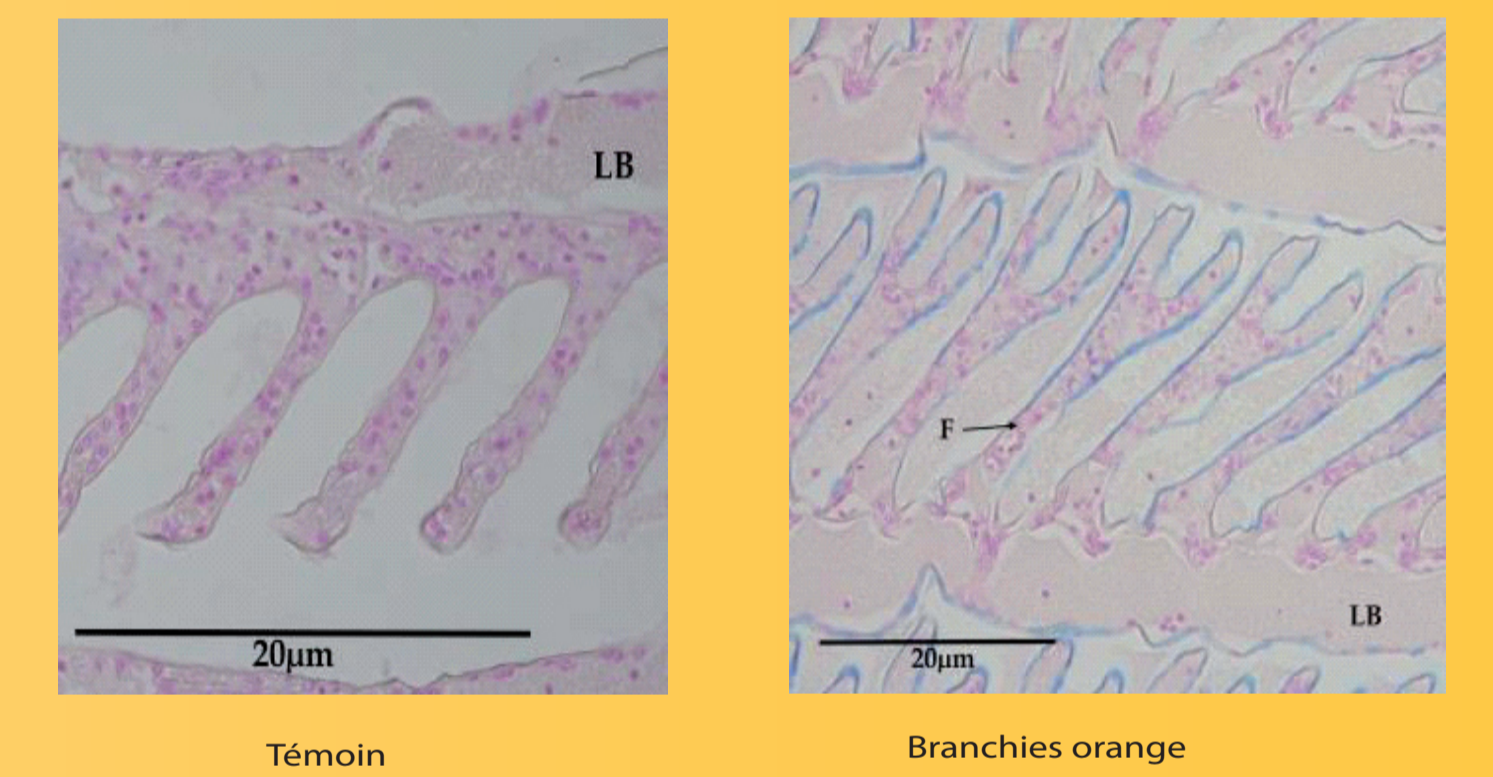


Figure 5 : Coupe histologique des lamelles branchiales après coloration. La coloration bleue montre des dépôts de fer oxydé à la surface des lamelles

Différentes techniques ont montré qu'elle était due à un dépôt d'oxyde de fer à la surface des tissus.

- L'analyse chimique du tissu montre une concentration 3 à 4 fois supérieure en fer dans des BO que chez les témoins (Fig. 4). Elle montre également une accumulation de cobalt (0,5 µg/g PS) et de chrome (1 µg/g PS) et dans un cas de plomb (1,8 µg/g PS).
- L'analyse par histologie montre une accumulation du fer à la surface des lamelles branchiales (Fig. 5).
- Une micro-analyse par MEB (Fig. 6a) suggère une répartition non homogène du fer sur ces lamelles et une concentration jusqu'à dix fois supérieure dans les branchies orange par rapport aux branchies non colorées (Fig. 6b).

La quantification des bactéries au niveau des branchies sur milieu gélosé montre que la flore hétérotrophe est 10 fois plus élevée chez les animaux avec BO que les animaux sans BO. Une analyse par MEB confirme la présence de bactéries à la surface des branchies (Fig. 6c).



Des animaux avec BO placés dans des cages sans contact avec le sédiment pendant 15 jours dans un bassin touché par ce phénomène perdent leur coloration orange. Des animaux avec des branchies non colorées placés dans ces mêmes cages ne développent pas de coloration. Ces résultats suggèrent un effet du sédiment pour expliquer cette accumulation de fer.

De très fortes concentrations en fer dissous ( $Fe^{2+} + Fe^{3+}$ ), jusqu'à 70 µM, ont été mesurées dans les eaux interstitielles des sédiments. Les premières analyses suggèrent une augmentation des concentrations dans les sédiments pour un potentiel d'oxydo-réduction d'environ -50 mV (Fig. 7). On observe une augmentation de la concentration en sulfures pour des redox inférieurs à -150 mV.

Une coloration orangée du branchiostégite (tissu recouvrant la cavité branchiale) a également été observée chez la crevette *Rimicaris exoculata* vivant dans les eaux hydrothermales de la dorsale médio-Atlantique (Zbinden et al., 2004). Cette couleur est associée à la présence de fortes concentrations en fer sous forme dissoute. Les conditions environnementales (T°, pH, oxygène, H<sub>2</sub>S,  $Fe^{2+} + Fe^{3+}$ ) semblent étonnamment similaires entre la zone de vie de ces crevettes dans les eaux hydrothermales et celles élevées dans ce bassin d'élevage de Nouvelle-Calédonie.

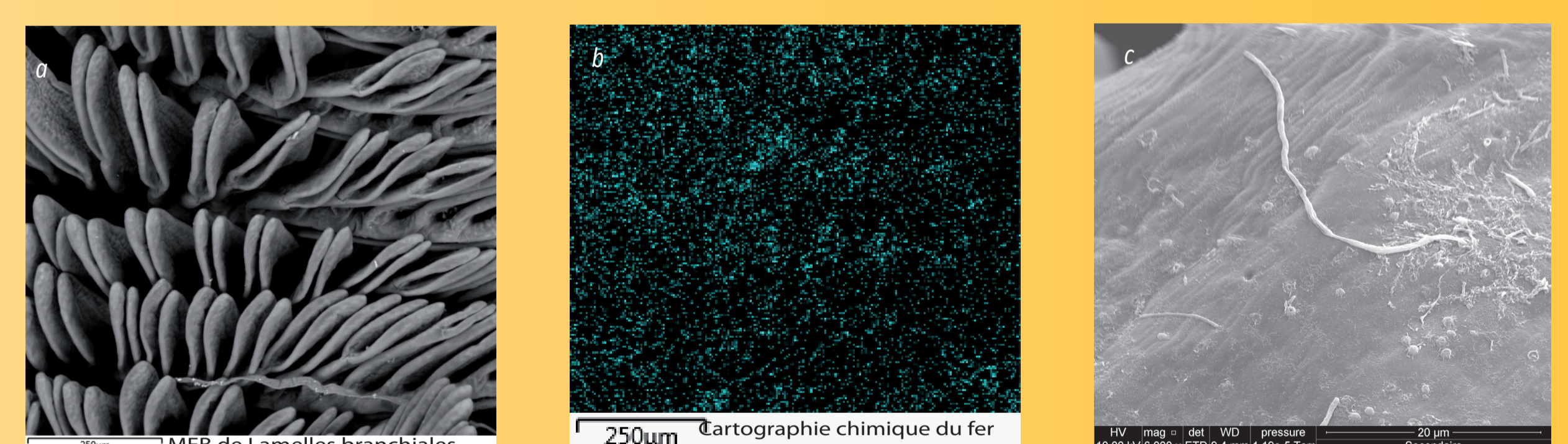


Figure 6 : Micro-analyses par Microscopie électronique à Balayage (Quanta F200) – Cartographie du fer des lamelles branchiales.

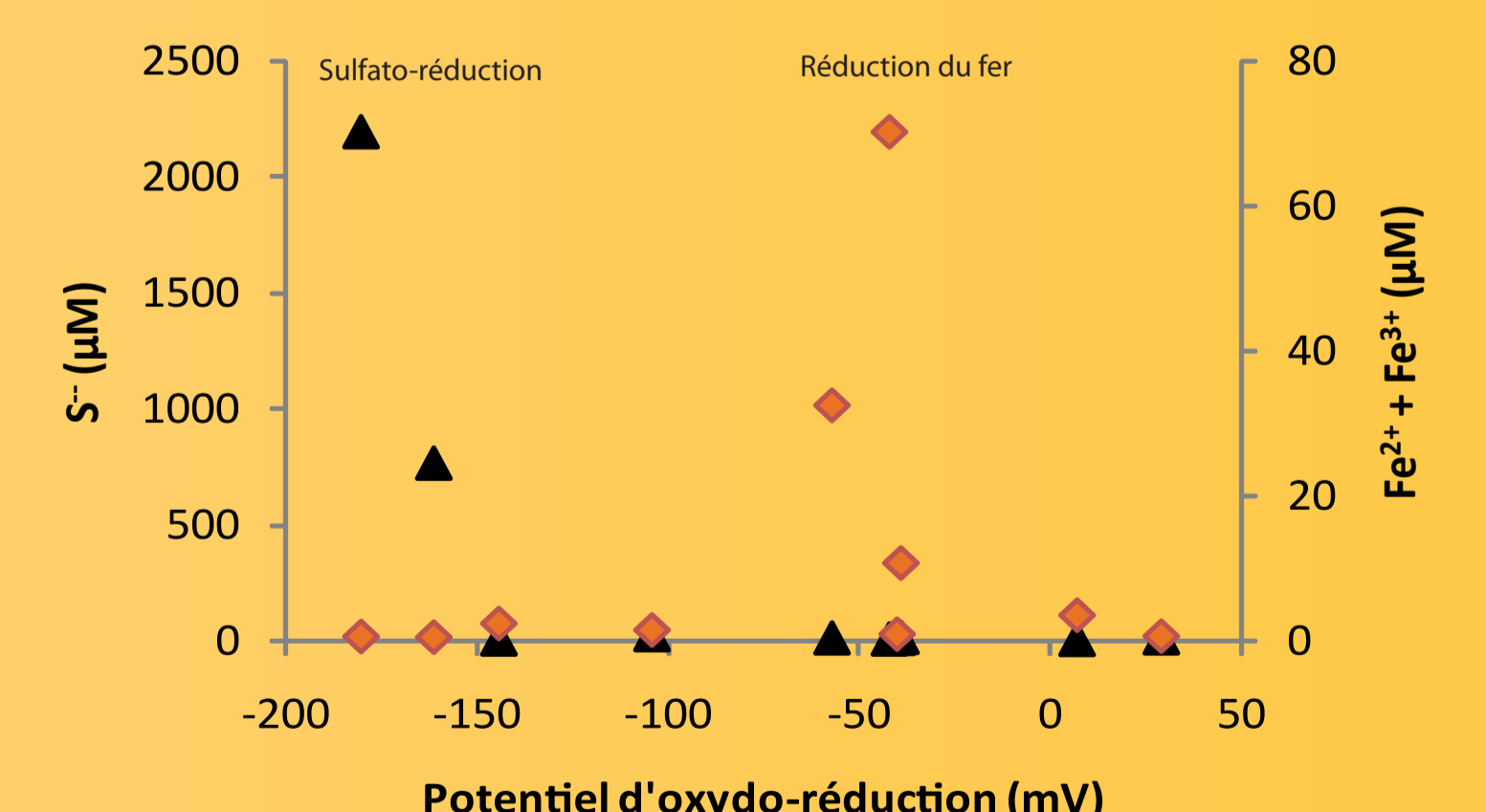


Figure 7 : Concentration en S<sup>2-</sup> (symbole noir) et en Fe (symbole orange) dans les eaux interstitielles sur le premier centimètre de sédiment en fonction du potentiel d'oxydo-réduction

Référence  
Zbinden M, Le Bris N, Gall F, Compière P (2004) Distribution of bacteria and associated minerals in the gill chamber of the vent shrimp *Rimicaris exoculata* and related biogeochemical processes. Marine Ecology Progress series, 284, 237-251

## Conclusions et perspectives

Les différentes approches ont permis la mise en place d'un premier diagnostic autour du phénomène des branchies orange. Toutefois, de nombreuses questions restent en suspens. Il s'agit d'analyser :

- les conditions environnementales qui favorisent l'apparition du fer sous forme dissoute et plus généralement celles de certains métaux (Cobalt, Chrome),
- le mécanisme à l'origine de ces dépôts d'oxyde de fer sur les branchies. La présence d'oxyde de fer est-elle liée à un processus abiotique ou à la présence des bactéries sur les branchies ?
- si cette accumulation de fer au niveau branchial affecte la santé de l'animal : Y a-t-il un impact sur les réponses physiologiques de l'animal face aux différents stress de l'environnement et à l'émergence des maladies régulièrement observées dans les élevages ?