

Laboratoire d'Aquaculture Tropicale
Centre Océanologique du Pacifique
BP 7004 Taravao
Tahiti
Polynésie Française

Laboratoire de Recherche Aquacole
Station d'Aquaculture de Saint Vincent
Quai des Scientifiques
B.P. 2059 Nouméa Cédex
Nouvelle Calédonie

Expériences sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de *Penaeus stylirostris*.

*Rapport des travaux menés du
26 novembre au 7 décembre 1995
à la Station Saint Vincent par :*

J.C. Cochard
C. Goarant
E. Boglio
H. Lemonnier



Laboratoire d'Aquaculture Tropicale
Centre Océanologique du Pacifique
BP 7004 Taravao
Tahiti
Polynésie Française

Laboratoire de Recherche Aquacole
Station d'Aquaculture de Saint Vincent
Quai des Scientifiques
B.P. 2059 Nouméa Cédex
Nouvelle Calédonie

Expériences sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de *Penaeus stylirostris*.

*Rapport des travaux menés du
26 novembre au 7 décembre 1995
à la Station Saint Vincent par :*

J.C. Cochard
C. Goarant
E. Boglio
H. Lemonnier

Type de rapport : RST	
Numéro d'identification du rapport : DRV/AQ/TAH 96.71	date de publication 25/11/956
Diffusion : libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/>	nombre de pages 23
Validé par :	bibliographie (Oui / Non)
Adresse électronique :	illustration(s) (Oui / Non)
- chemin UNIX :	langue du rapport
- adresse WWW :	Français
Titre et sous-titre du rapport : Expériences sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de <i>Penaeus stylirostris</i> . <i>Rapport des travaux menés du 26 novembre au 7 décembre 1995 à la Station Saint Vincent</i> Titre traduit :	
Auteur(s) principal(aux) : Cochard Jean Claude Goarant Cyrille Boglio Eric Lemonnier Hugues	Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER/DRV/RA/LAT IFREME/DRV/RA/SASV IFREME/DRV/RA/SASV IFREME/DRV/RA/SASV
Collaborateur(s) : nom, prénom	Organisme / Direction / Service, laboratoire
Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse	
Titre du contrat :	n° de contrat Ifremer
Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s)	
Responsable scientifique :	
Cadre de la recherche :	Convention :
Programme :	
Projet :	Autres (préciser) :
Campagne océanographique : (nom de campagne, année, nom du navire)	

Résumé :

L'influence des boues du fond du bassin d'élevage sur l'état physiologique de crevettes *Penaeus stylirostris* élevées en bassin à fond de terre en Nouvelle Calédonie a été évaluée par la mesure de l'évolution sur 24 à 48 heures de la capacité osmorégulatrice et de la magnésiémie d'échantillons de 20 de ces crevettes capturées dans le bassin et confinées dans des cages grillagées (poches ostréicoles préformées) posées sur le fond.

Une première expérience a été perturbée par le développement d'une pathologie à *Vibrio penaeicida* (impliquée dans le Syndrome 93) vraisemblablement due au stress de la mise en place des cages.

La seconde expérience montre que la dépression de la capacité osmorégulatrice des crevettes confinées est fonction de la qualité du sédiment : plus celui-ci est réduit plus la dépression est importante.

Abstract :

The influence of the soil quality of culture pond on the physiological state of *Penaeus stylirostris* reared in earthen shrimp pond in New Caledonia was investigated by the measurement of the osmoregulatory capacity and magnesium hemolymph concentration of samples of 20 of these shrimp captured in the pond and maintained for 24 or 48h in cages laid on the bottom.

A first experiment was affected by the occurrence of a pathology caused by *Vibrio penaeicida* probably due to initial handling stress.

The second experiment showed that the osmoregulatory capacity is depressed as a function of the soil quality : the more it is reduced the more the depression is important.

Mots-clés :

Crevettes, *Penaeus*, *P. stylirostris*, Nouvelle Calédonie, capacité osmorégulatrice, stress, sédiment.

Keywords :

Shrimp culture, *Penaeus*, *P. stylirostris*, New Caledonia, osmoregulatory capacity, stress, soil

Commentaire :

Types de documents : Rapport Scientifique et Technique

SOMMAIRE

1. OBJECTIFS	2
2. MATERIEL ET METHODES	3
2.1 PRINCIPE DE L'EXPERIMENTATION	3
2.2 ÉTUDE DU FOND DU BASSIN	3
2.3 LES PRELEVEMENTS D'HEMOLYMPHE	4
2.4 MESURE DE LA CAPACITE OSMOREGULATRICE	4
2.5 DOSAGE DU MAGNESIUM DANS L'HEMOLYMPHE	5
2.6 PREMIERE EXPERIENCE	5
2.7 DEUXIEME EXPERIENCE	7
2.8 TEST DE TRANSFERT DES CREVETTES	8
3. RESULTATS	9
3.1 ÉTUDE DU FOND DU BASSIN	9
3.2 PREMIERE EXPERIENCE	10
3.3 DEUXIEME EXPERIENCE	15
3.4 LE TEST DE TRANSFERT	18
4. DISCUSSION	20
5. BIBLIOGRAPHIE	22
6. ANNEXE	23

1. OBJECTIFS

Au cours de l'année 1995, une série d'expériences a été menée au Centre Océanologique du Pacifique (COP) dans le but de mettre au point un test permettant d'évaluer in situ la toxicité des boues s'accumulant au fond des bassins d'élevage de crevettes pénéides. Les travaux réalisés par Heyvang (1995) ont permis de constater que dans un environnement homogène (bassin à fond nu) la capacité osmoréglatrice (CO) des crevettes (*P.stylirostris*) confinées dans des cages posées sur le fond n'est pas modifiée significativement par rapport à celle des individus libres. Dans des bassins expérimentaux à fond meuble de 500 m² dont le profil des pentes provoque la concentration des boues organiques près des buses d'évacuation de l'eau, une dépression significative était observée sur les fonds réduits mais pas sur les zones dont le sédiment reste bien oxydé.

Cette mission en Nouvelle Calédonie avait pour objectif initial de vérifier sur des bassins de dimension industrielle normale les résultats obtenus au COP sur l'hétérogénéité spatiale de la qualité du fond des bassins et d'évaluer l'évolution de la qualité de ces boues au cours de l'élevage. En raison de la répartition des âges des différents lots de crevettes élevés à la station au moment de la mission et des risques de contamination dus aux transferts de crevettes d'un bassin à un autre, il a été décidé, en concertation avec l'équipe de la SASV de limiter les objectifs des travaux devant être menés sur la station à l'étude de la seule variabilité de la qualité du fond et de son effet sur la capacité osmoréglatrice des crevettes. Deux expériences ont été menées successivement.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Principe de l'expérimentation

•Résultats préalables acquis au COP

La capacité osmorégulatrice des crevettes confinées dans des enceintes grillagées posées sur un fond dur ou oxydé n'est pas significativement modifiée pendant les premières 48 heures de confinement (aux risques $\alpha = 0,05$ et $\beta = 0,10$). En revanche, sur des fonds meubles réduits une dépression significative de la capacité osmorégulatrice est observée pour des lots de plus de 8 individus au stade d'intermue C (HEYVANG, 1995). Les lots étaient constitués de 20 individus, ce nombre permet en général d'obtenir 10 à 12 individus stade C soit une puissance expérimentale de 0,90.

•Expériences réalisées en Nouvelle Calédonie

Les animaux ont été placés dans des poches ostréicoles préformées de 8 mm de vide de maille lestées et renforcées par un écarteur de bois (Figure 1). Les lests étaient constitués d'un demi tube de PVC de 10 cm rempli de béton fixé à l'intérieur de la poche et d'un tube de PVC Ø 32 rempli de béton lui aussi et fixé sur la poche. Ces enceintes expérimentales étaient posées sur le fond du bassin, les crevettes étaient donc en contact direct avec le sol du bassin à travers la maille.

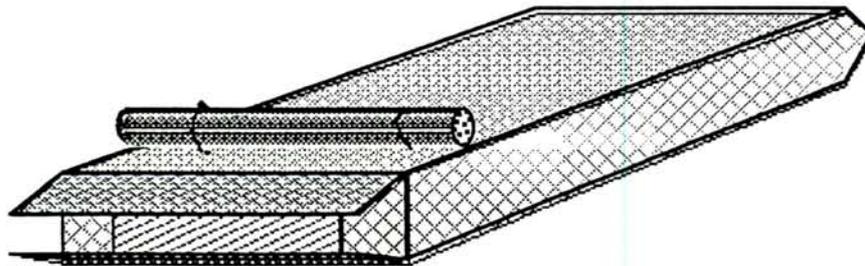


Figure 1. Poche ostréicole préformée utilisée comme cage de confinement.

2.2 Étude du fond du bassin

Le sédiment sur lequel reposaient les cages a été caractérisé par des mesures et des prélèvements réalisés en plongée au début de la première expérience à proximité immédiate des cages.

Le potentiel d'oxydo-réduction a été déterminé in situ à l'aide d'une électrode spécifique Schott PT 5700. Deux mesures ont été réalisées, la première sur l'horizon 0-1 cm et la seconde sur l'horizon 1-2cm.

Le premier centimètre du sédiment a ensuite été récupéré pour différentes analyses :

- la teneur en eau a été déterminée par différence de poids après dessiccation à 60°C pendant 7 jours, elle est exprimée par rapport au poids du sédiment sec ;
- la teneur en matière organique a été déterminée par crémation au four à moufle pendant 4 heures à 550 °C. Le résultat est exprimé par rapport au poids sec.

Afin de doser les concentrations en azote ammoniacal dans l'eau interstitielle du sédiment, les échantillons ont été centrifugés à 2000g pendant 30mn. Le surnageant était ensuite récupéré et analysé par dosage colorimétrique suivant la méthode de Koroleff (1969) adaptée aux mesures automatiques en flux continu (Autoanalyser Technicon) par Tréguer et Le Corre (1975).

Afin de comparer globalement les différentes stations entre elle, celles-ci ont été classées, pour chacun des paramètres étudiés par valeurs croissantes pour les taux de matière organique, la teneur en eau et l'azote ammoniacal interstitiel et par valeurs décroissantes pour le potentiel d'oxydo-réduction. Les stations systématiquement classées dernières sont celles qui accumulent le plus d'indices négatifs et seront donc considérées comme moins favorables à l'élevage.

2.3 Les prélèvements d'hémolymphe

Le stade d'intermue de chaque individu a été contrôlé au microscope sur une partie de l'uropode. Seuls les sujets aux stades C et éventuellement D0 ont été ponctionnés.

Les prélèvements d'hémolymphe ont été pratiqués par insertion ventrale d'une aiguille de 0,45 mm montée sur une seringue hypodermique de 1 ml de volume, au niveau des lacunes hémolympatiques de la base des derniers péréiopodes.

2.4 Mesure de la Capacité Osmorégulatrice

Les crevettes pénéides sont de puissants hyper-hypo-osmorégulateurs, en eau de mer ils maintiennent la pression osmotique de leur hémolymphe au dessous de celle du milieu ambiant. Cette régulation n'est toutefois pas parfaite comme chez les vertébrés et il est maintenant établi qu'une situation de stress (au sens d'une difficulté d'adaptation à l'environnement) provoque une dépression de la capacité osmorégulatrice. L'évaluation de la différence de pression osmotique entre l'hémolymphe et le milieu ambiant permet d'évaluer l'état physiologique de la crevette (Charmantier *et al*, 1989, Aquacop *et al*, 1993).

Les mesures de pression osmotique des hémolymphe et des milieux d'élevage ont été réalisées à l'aide d'un osmomètre WESCOR 5500 à tension de vapeur . Celui-ci permet des mesures précises sur des échantillons de 10 µl seulement. Il mesure l'abaissement de la tension de vapeur d'une solution par rapport à la tension de vapeur théorique du solvant pur. Après une augmentation de température provoquant la vaporisation du liquide, la condensation de cette vapeur (consécutive à la baisse de température par effet Pelletier) sur un thermocouple permet de déterminer le point de rosée et donc la pression osmotique de la solution. L'appareil donne en lecture directe la pression osmotique en mOsmol/kg du liquide introduit dans l'osmomètre.

2.5 Dosage du Magnésium dans l'hémolymphe

Au même titre que la capacité osmorégulatrice des crevettes diminue face à un stress, une augmentation de la teneur en magnésium dans l'hémolymphe due à un stress a été constatée chez le homard *Homarus gammarus* et la crevette *Penaeus monodon* (Whiteley et Taylor, 1992, Boglio, 1995). La magnésiémie pouvant être considérée comme une autre mesure de l'état physiologique de la crevette, elle a donc été étudiée parallèlement à la capacité osmorégulatrice.

Un volume de 50 μ l a été réservé au dosage du magnésium. Il a été dilué dans 300 μ l de solution de citrate de sodium à 2,5 % dans un tube Eppendorf de 1,5 ml. Lorsque des comptages d'hémocytes ont été effectués 100 μ l de cette ce liquide ont été prélevés et placés sur une cellule de Malassez, 5 comptages (5 surfaces de base) ont été effectués pour chaque échantillon.

Le tube contenant le reste de la solution a été centrifugé à l'aide d'une perceuse équipée d'un disque de ponçage sur lequel était collé un capuchon de bombe aérosol percé de 6 trous qui servaient de support aux tubes Eppendorf. La vitesse de rotation était de 2500 rpm le rayon de rotation était de 3 cm environ soit environ 350 à 400g au fond du tube. La durée de centrifugation était de 15 mn. Le taux de magnésium du surnageant recueilli a été dosé en utilisant la méthode « Calmagite » Biomérieux, la lecture se faisant au spectrophotomètre à 520 nm.

2.6 Première expérience

Les 20 cages disponibles ont été placées par groupes de deux en 10 points du bassin N°8. Ce bassin, d'un hectare environ est de forme trapézoïdale, de manière générale les sédiments sont plus meubles du côté de la mangrove où ils ont tendance à s'accumuler (Figure 2).

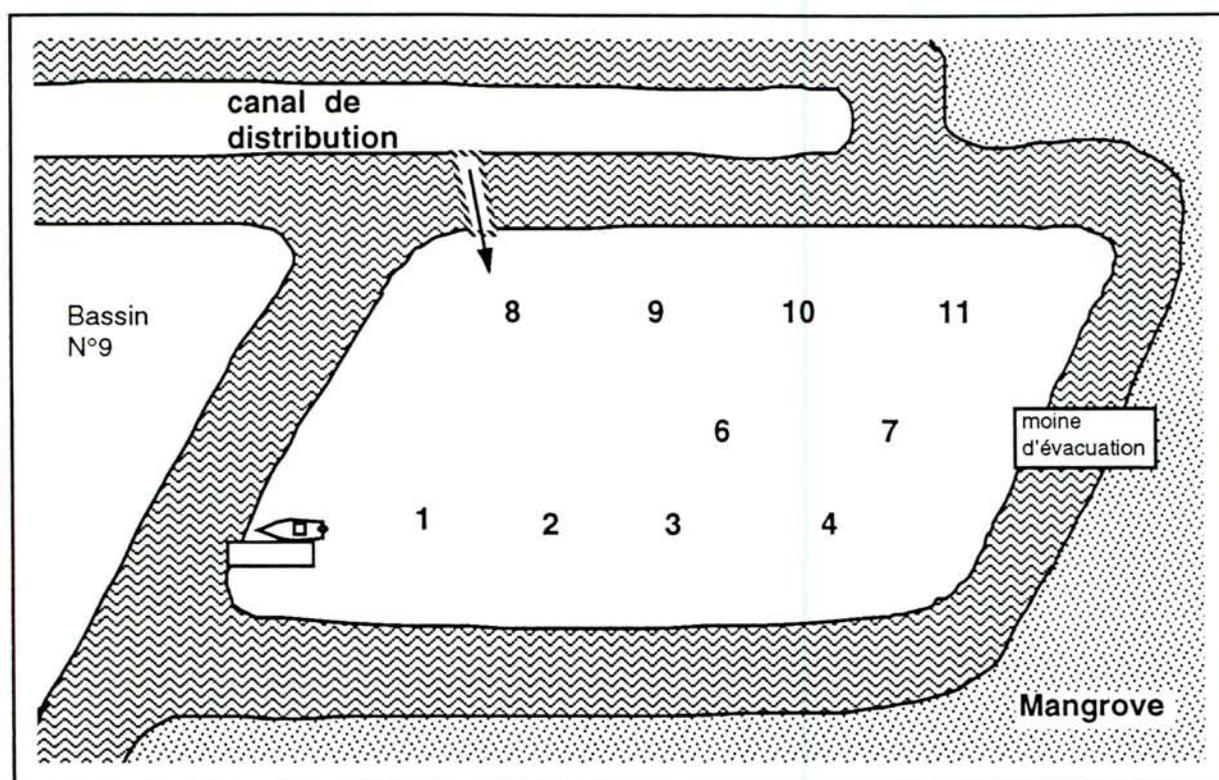


Figure. 2 - Schéma précisant la disposition des cages dans le bassin d'élevage N°8 lors de la première expérience.

Les crevettes ont été pêchées à l'épervier dans le bassin d'élevage lui-même et aussitôt placées dans les poches ostréicoles par lot de 20 individus. Les poches terminées, fermées par un lien ont été déposées dans 20 à 40 centimètres d'eau en lisière du bassin près de l'estacade de service pendant la préparation des suivantes. Elles ont ensuite été rapidement transportées à leur point respectif à l'aide du bateau servant à la distribution de nourriture, l'ordre de l'implantation étant déterminé au hasard. Les cages étaient traînées dans l'eau afin d'éviter toute émergence supplémentaire des crevettes. L'opération a duré au total moins de 2 heures. Les cages du point N° 1 ont été mises en place à pied.

Les cages ont été relevées pour moitié le lendemain de la mise en place soit environ après 24 heures, pour moitié à 48 heures (une cage par point et par jour). Elles ont été transportées à la main depuis leur position jusqu'au point le plus proche du bord. Les cages étaient alors vidées dans un récipient contenant 20 à 30 litres d'eau prélevée sur place. Les crevettes étaient ensuite transportées en camionnette jusqu'au laboratoire pour la mesure des PO. Deux à trois cages étaient traitées à chaque opération, le choix de celles-ci ayant été déterminé par tirage au sort préalable. Les récipients en attente de traitement étaient aérés par bullage. Un échantillon témoin a été capturé à l'épervier à proximité de l'estacade de service et traité de la même manière que précédemment.

En raison des fortes mortalités observées les prélèvements ont été réalisés sur les crevettes aux stades C et D0. Le premier jour, seule la concentration en magnésium des crevettes dont la pression osmotique était anormalement élevée a été étudiée, le second jour une mesure systématique a été réalisée.

2.7 Deuxième expérience

Les mortalités observées au cours de la première expérience ayant été très importantes, le second test a été conçu en privilégiant la réduction du stress à la mise en place et la puissance expérimentale. L'expérience s'est déroulée dans le même bassin. Les cages ont été regroupées par lot de quatre sur cinq points (Figure 3).

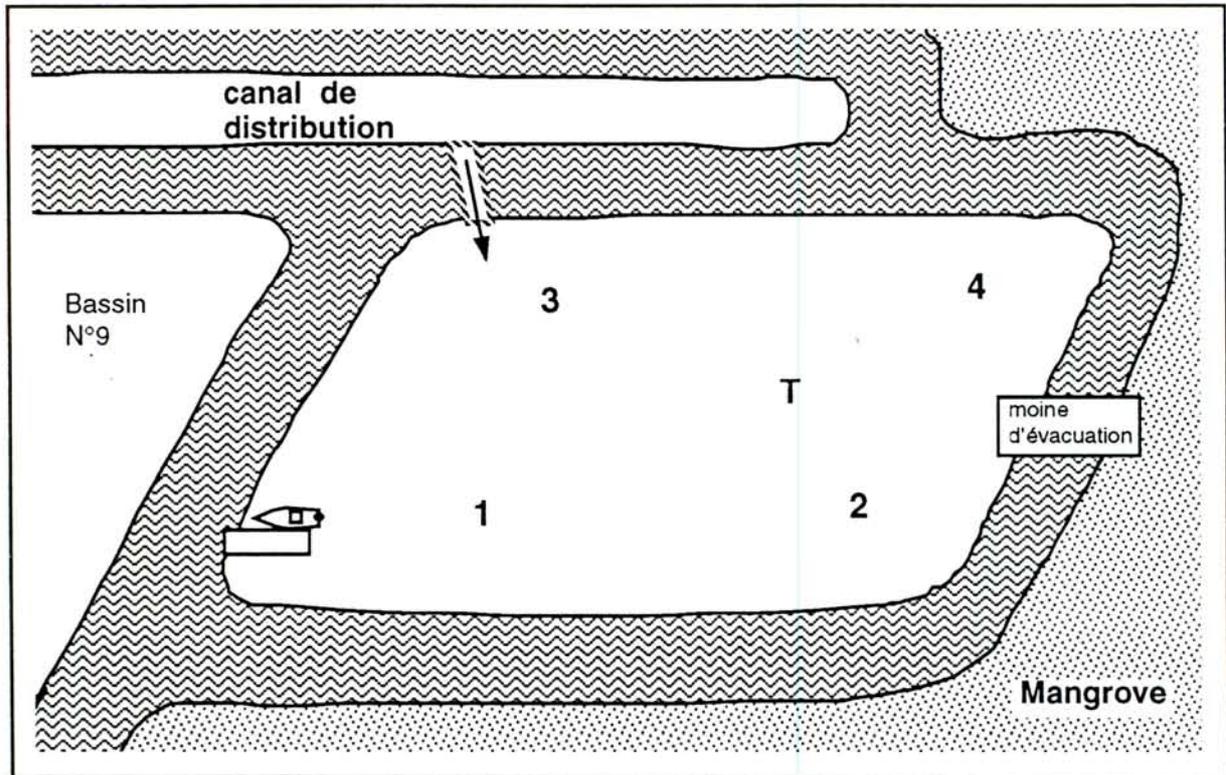


Figure. 3 - Schéma précisant la disposition des cages dans le bassin d'élevage N°8 lors de la deuxième expérience

Les sites 1 et 2 étaient a priori situés dans la zone d'accumulation de dépôts vaseux, ils correspondent aux points 1 et 4 de la première expérience. Les fonds des points 4 et 5 (points 8 et 11 de la première expérience) étaient plus durs (présence de graviers) ; un chantier ostréicole portant un lot de cages a été installé au centre du bassin en un point (point T) correspondant au point N°6.

Les crevettes ont été pêchées à l'épervier depuis le bord du bassin à proximité immédiate de chaque point d'expérimentation. Dès qu'une cage était complète, elle était transportée à pied en veillant à réduire au maximum les perturbations des crevettes et le délai entre la capture et la mise en place.

Les prélèvements ont été réalisés sur les crevettes aux stades C et D0 en quatre temps (t1 à t4) au cours des 48 heures suivantes de la même manière que pour la première expérience (une cage par point et par temps). Un prélèvement témoin a été réalisé pour chaque temps. Une évaluation du nombre d'hémocytes a été réalisée le premier jour (t1 et t2) et du taux de magnésium le second (t3 et t4).

2.8 Test de transfert des crevettes

Pendant la période hivernale, au moment des fortes incidences du « Syndrome 93 » et malgré les précautions prises, le simple transfert des crevettes provoque rapidement une mortalité très significative. L'équipe de la SASV a donc développé une procédure d'évaluation de la fragilité des crevettes qui consiste à les transférer en bassins de scobalite et à évaluer la mortalité consécutive.

Parallèlement aux expériences décrites précédemment, un lot d'une centaine de crevettes a été pêché et placé en bassin de scobalite à la station afin de mesurer le stress provoqué lors de la réalisation de ces tests. La pression osmotique de 10 crevettes a été mesurée 7 et 24 heures après leur transfert et comparée à celle de témoins prélevés dans le bassin au début et à la fin de cette période.

3. RESULTATS

3.1 Étude du fond du bassin

Les résultats de l'analyse des prélèvements des sédiments du fond du bassin N°8 présentés dans le Tableau 1 montrent que :

- les stations 1, 2, 3, 4 ont des taux de matière organique importants, associés à des valeurs élevées d'azote ammoniacal et des valeurs faibles de potentiel d'oxydo-réduction;
- les concentrations en azote ammoniacal dans les sédiments superficiels sont relativement importantes mais pas exceptionnelles en Nouvelle Calédonie.

Tableau 1 - Résultats de l'analyse des sédiments aux différents points de prélèvements

Station	Matière Organique	Teneur en eau	Azote Ammoniacal		Potentiel d'oxydo-réduction	
	%	%	g/100g de sédiment sec	μmole/l	mV 0-1cm	mV 1-2cm
1	9,8	115,3	1,12	692,4	-100	-140
2	8,41	125,2	0,45	256,6	-15	-180
3	10,27	156,5	1,23	561,1	-50	-73
4	10,83	184,1	1,26	487,6	-20	-175
6	7,22	78	0,43	396,6	53	51
7	6,99	64	0,39	435,1	40	31
8	5,64	62,9	0,19	219,8	47	18
9	6,64	65,4	0,24	263,6	32	30
10	6,18	74,4	0,27	263,6	65	57
11	5,39	64,9	0,31	345,8	20	-70

Le classement des différentes stations pour chacun des paramètres étudiés est illustré par la figure 4. Celle-ci représente la répartition du total des points obtenus en classant les différents sites de prélèvement par ordre croissant pour le taux de matière organique, le taux d'humidité et un seul des deux taux d'ammoniaque évalués (en concentration) et par ordre décroissant pour le potentiel redox. Les zones les plus claires correspondent aux points qui ont été le plus fréquemment classés les premiers a priori les moins stressants. Le fond du bassin apparaît hétérogène, la partie constituée par le groupe de prélèvements 1, 2, 3 et 4 constitue

une zone d'accumulation de boues organiques, celle des prélèvements 8, 9 et 11 est plus dense et mieux aérée, les prélèvements 6, 7 et 10 peuvent être considérés comme intermédiaires.

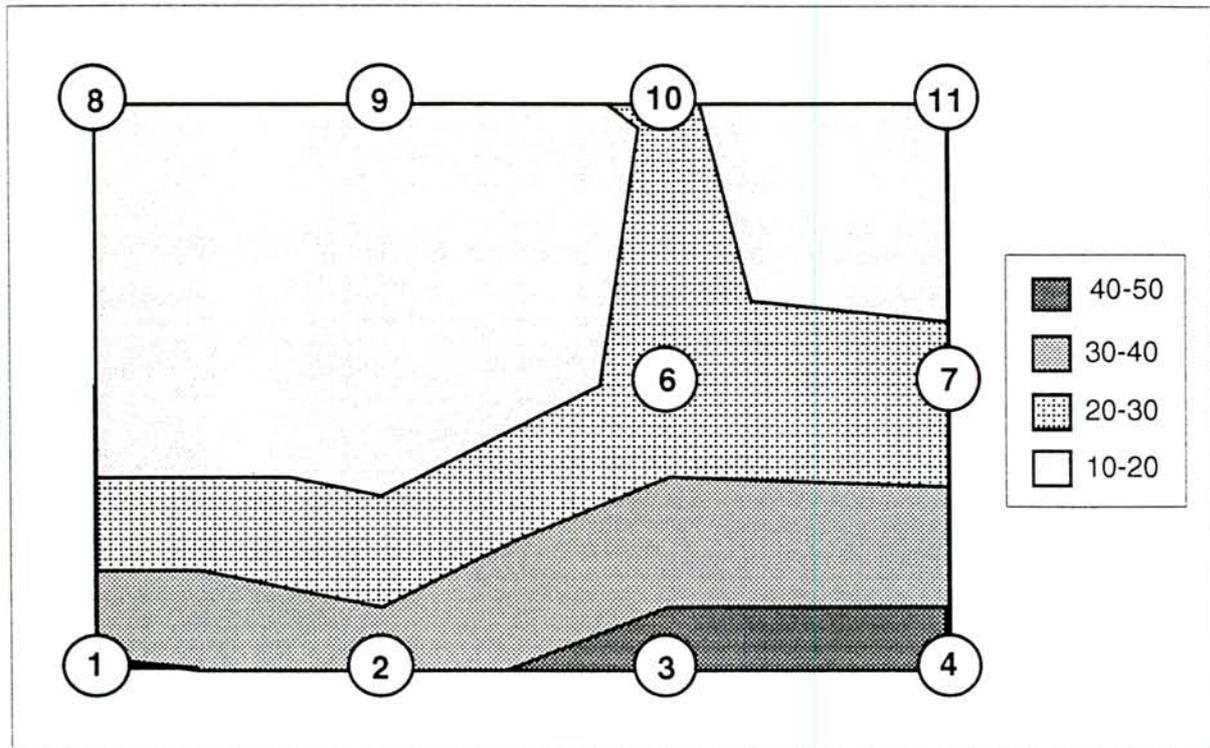


Figure 4 - Schéma de répartition des dépôts au fond du bassin 8. La zone la plus foncée correspond aux points où la concentration d'ammoniaque interstitiel, les taux de matière organique et la teneur en eau étaient les plus élevées et les valeurs de potentiel redox les plus faibles.

3.2 Première expérience

Vingt quatre heures après la mise en place de l'essai, les crevettes présentaient des lésions diverses probablement dues pour l'essentiel aux chocs répétés contre les mailles de la cage. La plus grande partie d'entre elles étaient de couleur sombre indiquant un niveau de stress élevé, leur apparence générale (corps sombre brun violacé, pattes marquée de pourpre) était très similaire à celle de crevettes ayant reçu une injection létale du vibron AM23 (*Vibrio penaeicida*). Les premières cages relevées contenaient peu de crevettes mortes mais les mesures de pression osmotique révélaient un effondrement de la capacité osmorégulatrice comme cela avait été observé au cours d'infections expérimentales par LeGroumellec et al (1996). Au cours de la journée les chiffres de mortalités observés sont devenus plus importants (Figure 5), les cadavres étant toujours récents (pas de rougissement des pigments tégumentaires, appendices encore présents ou peu cannibalisés). Quatre prélèvements d'hémolymphe provenant de sujets dont la pression osmotique dépassait 1000 mOsm/kg ont été mis en culture sur boîte de Pétri (Voir Annexe 1).

En raison de ces fortes mortalités, il n'a pas été possible d'atteindre le nombre de 10 prélèvements théoriquement nécessaires pour mettre en évidence un écart statistique de 50 mOsm/kg entre les différents lots expérimentaux aux risques $\alpha = 0,05$ et $\beta = 0,10$. L'analyse

de variance révèle cependant une hétérogénéité significative entre les différents lots ($F(10-57) = 4$; $p = 0,001$).

La comparaison des différents lots avec le témoin constitué par les crevettes pêchées dans le bassin d'élevage montre que la capacité osmorégulatrice des crevettes n'a pas été significativement affectée dans les cages 1, 8, 10 et 11 (Tableau 1). Aucune corrélation significative globale n'a pu être mise en évidence entre les caractéristiques physico-chimiques du site des points où étaient situées les cages et la pression osmotique, néanmoins la Figure 6 montre que les dépressions de la capacité osmorégulatrice ont été plus importantes dans la zone d'accumulation de boues.

Tableau 2 - Moyennes des pressions osmotiques observées à 24 heures. La colonne de droite précise les probabilités d'égalité entre la PO du témoin de crevettes libres et la PO des crevettes confinées dans les cages en comparaison multiple (Protected Least Significant Difference).

	Nombre	Moy.	Err. Std	Prob. α
Témoin	10	834	7	
1	10	853	21	0,86
2	5	965	23	0,00
3	4	929	44	0,02
4	5	903	28	0,05
6	5	937	19	0,07
7	9	953	16	0,00
8	5	911	48	0,00
9	5	914	9	0,19
10	4	873	19	0,00
11	6	895	34	0,08

La mortalité constatée dans les cages relevées à 48 heures était en moyenne de 63%. En raison du faible nombre de crevettes survivantes au stade C, il n'a pas été possible d'évaluer la capacité osmorégulatrice dans la totalité des cages. L'analyse de variance réalisée sur les 7 cages utilisables et le témoin ne permet pas de mettre en évidence une différence significative entre les lots ($F(7-40) = 1,57$; $p = 0,173$).

Le taux de magnésium dans l'hémolymphe variait significativement d'une cage à l'autre après 48 heures de confinement ($F(7-40) = 4,35$; $p = 0,0011$) mais seule la cage 11 différait significativement du témoin de crevettes libres.

La comparaison des valeurs du taux de magnésium observé avec celles de la pression osmotique des individus permet de mettre en évidence une corrélation significative ($F(1-46) = 12,84$; $p = 0,001$), mais les données apparaissent faiblement corrélées $R^2 = 0,2146$ (figure 7). Cette corrélation est supérieure ($R^2 = 0,70$) lorsque la comparaison est effectuée sur les

moyennes mesurées dans les cages, elle reste toutefois trop faible pour que l'on puisse déduire la valeur du taux de magnésium de celle de la pression osmotique (Figure 8) ou inversement.

En revanche aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre les paramètres mesurés sur les boues et le taux de magnésium.

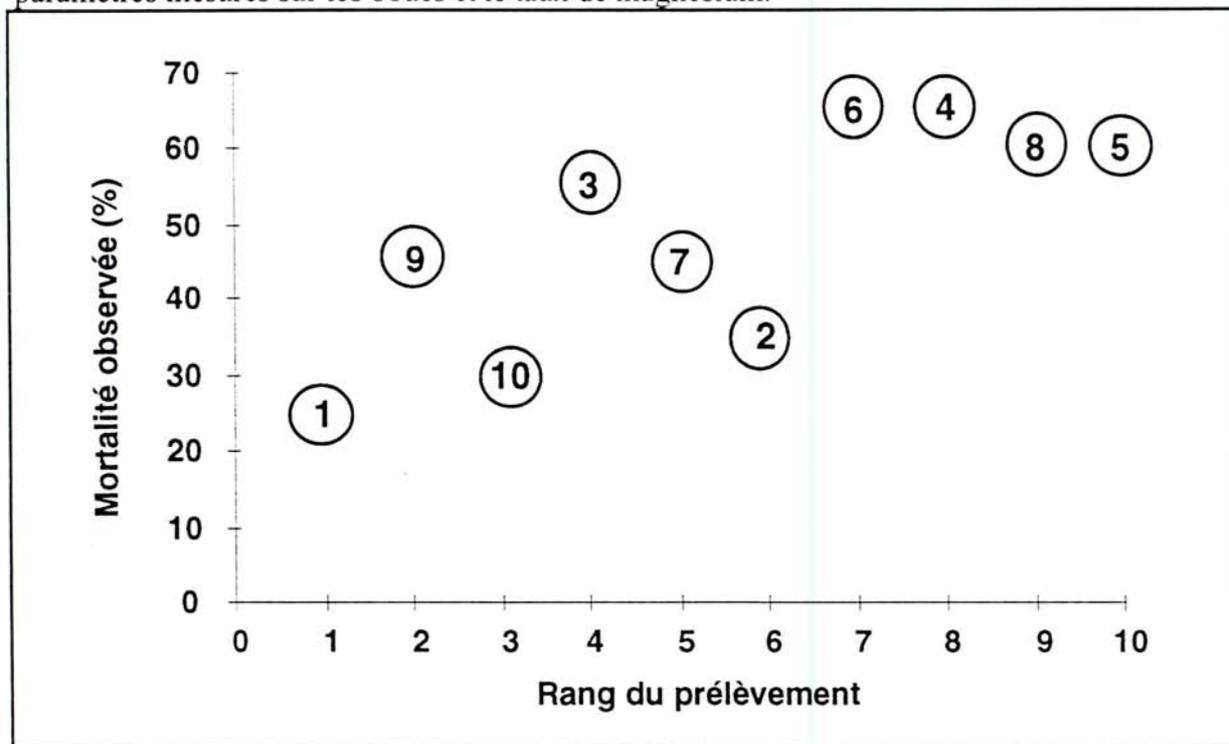


Figure 5 - Évolution de la mortalité observée au cours de la première journée de prélèvement

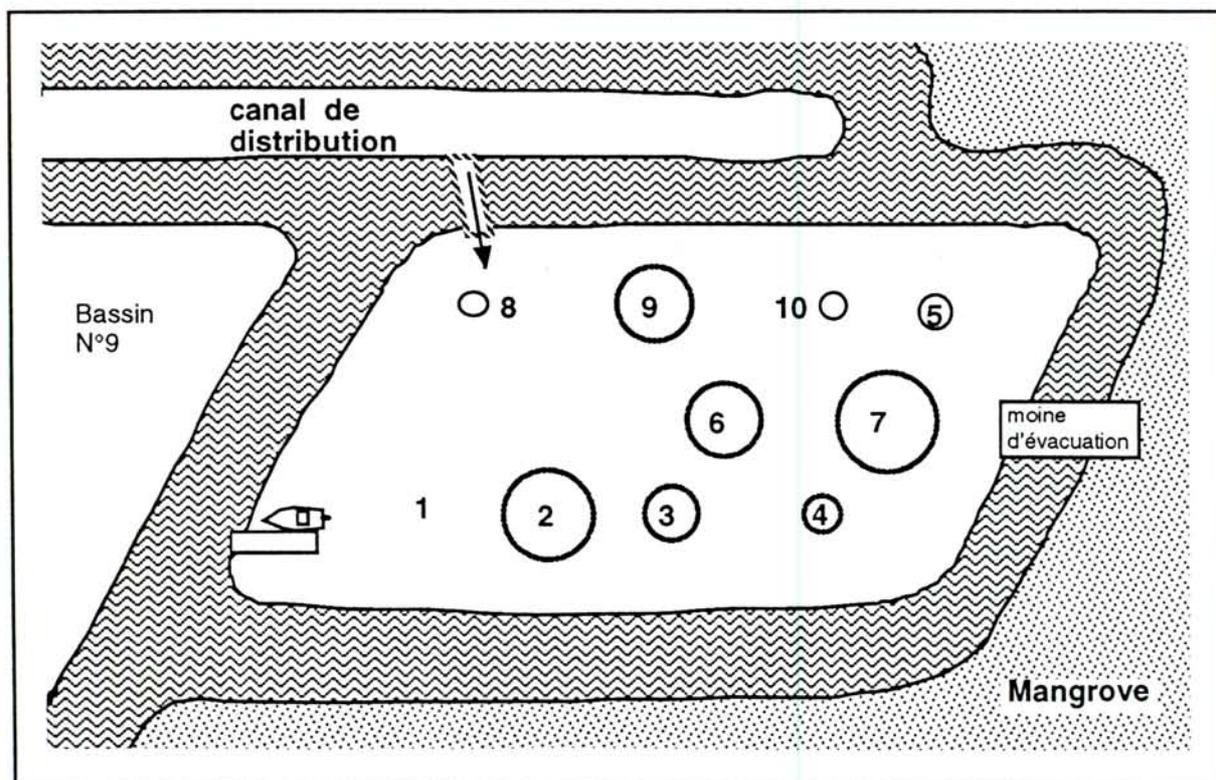


Figure 6 -Schéma illustrant les différences de capacité osmorégulatrice observées entre les crevettes libres témoin et celles confinées dans les cages. Le diamètre des cercles est proportionnel à la dépression de Capacité Osmorégulatrice. Les traits épais indique une dépression significative au seuil de 5%.

	Nombre	Moyenne	Écart-Type	Prob. α
Témoin	9	5,42	0,44	
1	4	6,37	0,69	0,156
2	5	5,63	0,31	0,733
4	5	5,18	0,32	0,692
7	4	5,54	0,91	0,860
8	7	6,51	0,44	0,055
10	6	4,56	0,25	0,143
11	8	7,34	0,26	0,001

Tableau 2 - Taux moyens de Magnésium Mg^{++} dans l'hémolymph des crevettes confinées 48 heures en cage comparée à celle du témoin. La probabilité α a été calculée par PLSD.

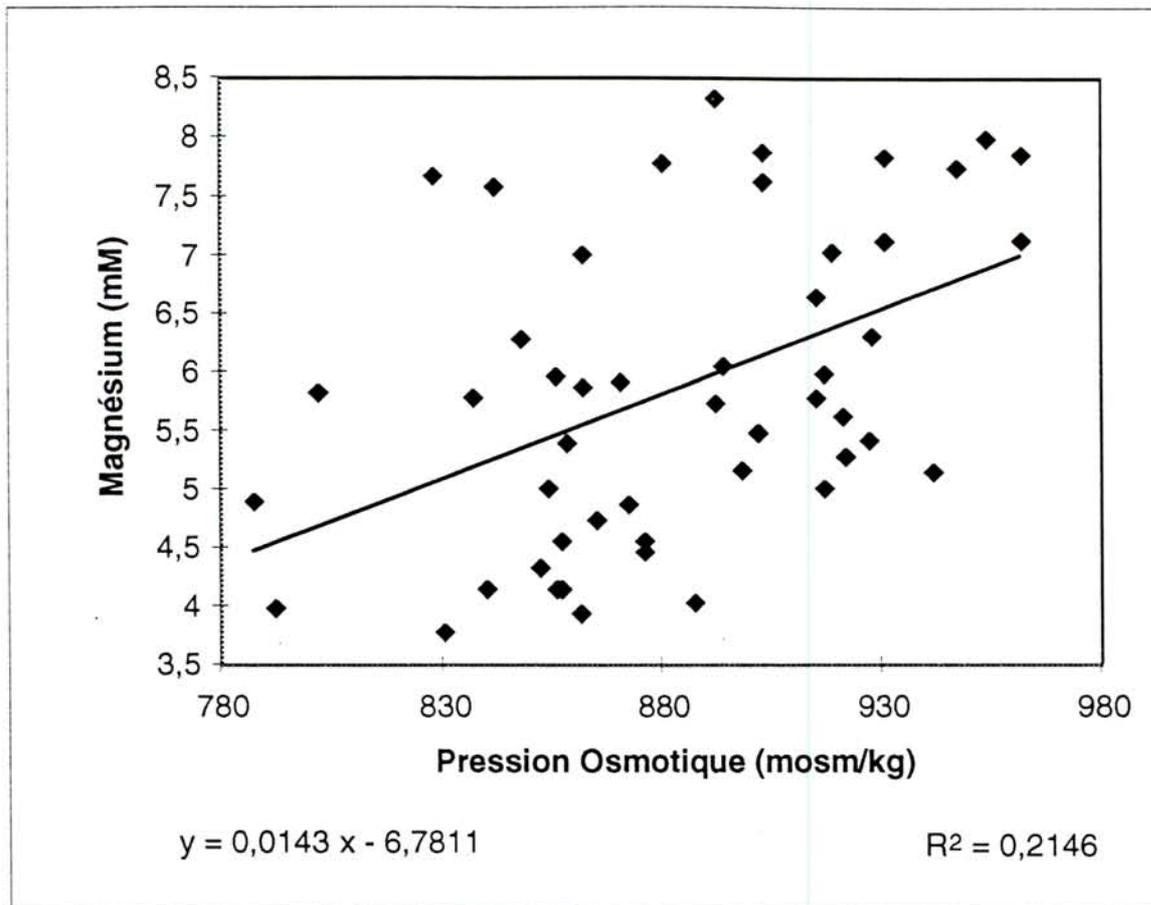


Figure 7 - Relation entre le taux de magnésium de l'hémolymphe et la pression osmotique.

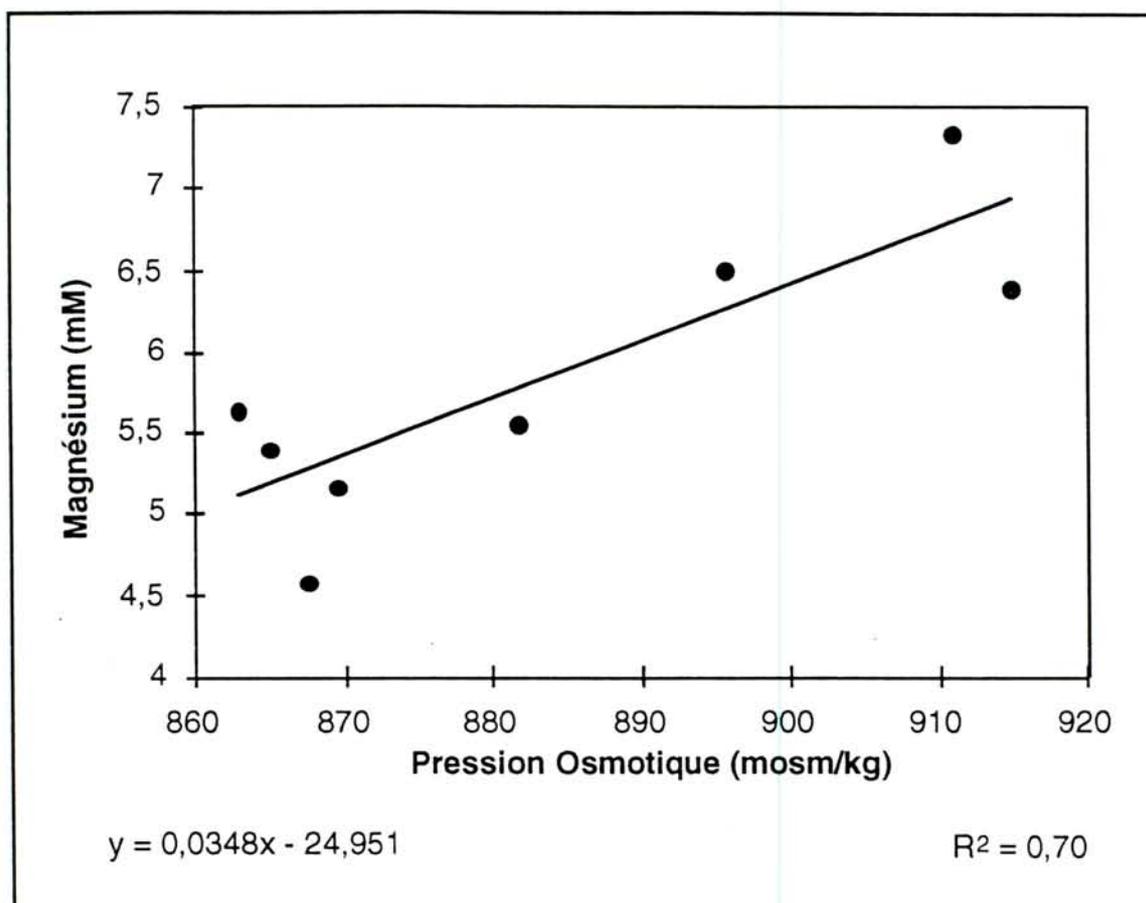


Figure 8 - Relation entre le taux de magnésium moyen et la pression osmotique moyenne des cages et du témoin.

3.3 Deuxième expérience

Les précautions prises lors de la mise en place des cages au début de la seconde expérience ont permis de limiter très sensiblement la mortalité. Après 48 heures la survie moyenne était supérieure à 80%. Les prélèvements d'hémolymphe ont été réalisés comme pour la première expérience sur les stades C et D0. L'analyse de variance à deux facteurs Cages et Témoins / Temps (tableau 4) met en évidence des différences significatives sur les deux facteurs.

Tableau 4 - Comparaison des mesures de la pression osmotique de l'hémolymphe des crevettes par analyse de variance à deux facteurs.

	D.D.L.	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p
Cages	5	10770,06	9,52	<,0001
Temps	3	14472,37	12,80	<,0001
Interaction	15	7004,90	6,19	<,0001
Résidus	216	1130,87		

L'analyse a posteriori par PLSD montre que seules les cages positionnées au point N°4 ne diffèrent pas significativement du témoin libre. L'effet maximal est observé dans les

cages du point N°2. Un effet significatif est constaté dans les cages posées sur la table ostréicole.

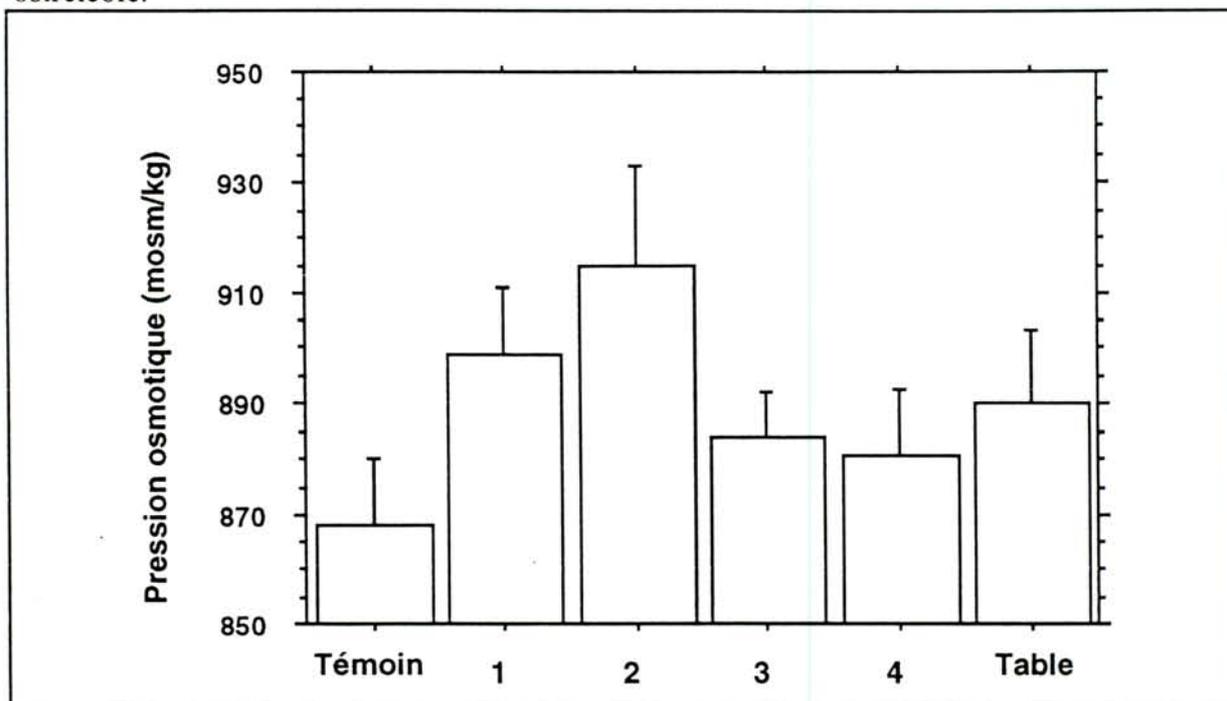


Figure 9 - Pressions osmotiques moyennes observées au cours de la seconde expérience. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%

L'analyse de variance réalisée sur les taux d'hémocytes permet de rejeter l'hypothèse d'égalité des moyennes ($F(5 - 42) = 13,21$; $p < 0,0001$). Le confinement en cage provoque une diminution très significative de la concentration des hémocytes (Figure 10) mais aucune différence entre les cages n'a été mise en évidence par PLSD. Une des explications possibles de cette chute du nombre d'hémocytes est la mobilisation des hémocytes aux lésions engendrées par le frottement et les chocs contre le Netlon® des cages, ces lésions étaient pratiquement omniprésentes chez les crevettes en cage.

L'ensemble des données recueillies sur le nombre d'hémocytes ne permet pas de mettre en évidence une corrélation significative entre ce nombre et la pression osmotique. Si l'on exclut les données recueillies sur les témoins, bien que faible ($R^2 = 0,13$), la corrélation devient significative ($F(1 - 42) = 6,28$; $p = 0,0162$) : les crevettes qui ont la plus forte pression osmotique ont tendance à avoir aussi moins d'hémocytes (Figure 11).

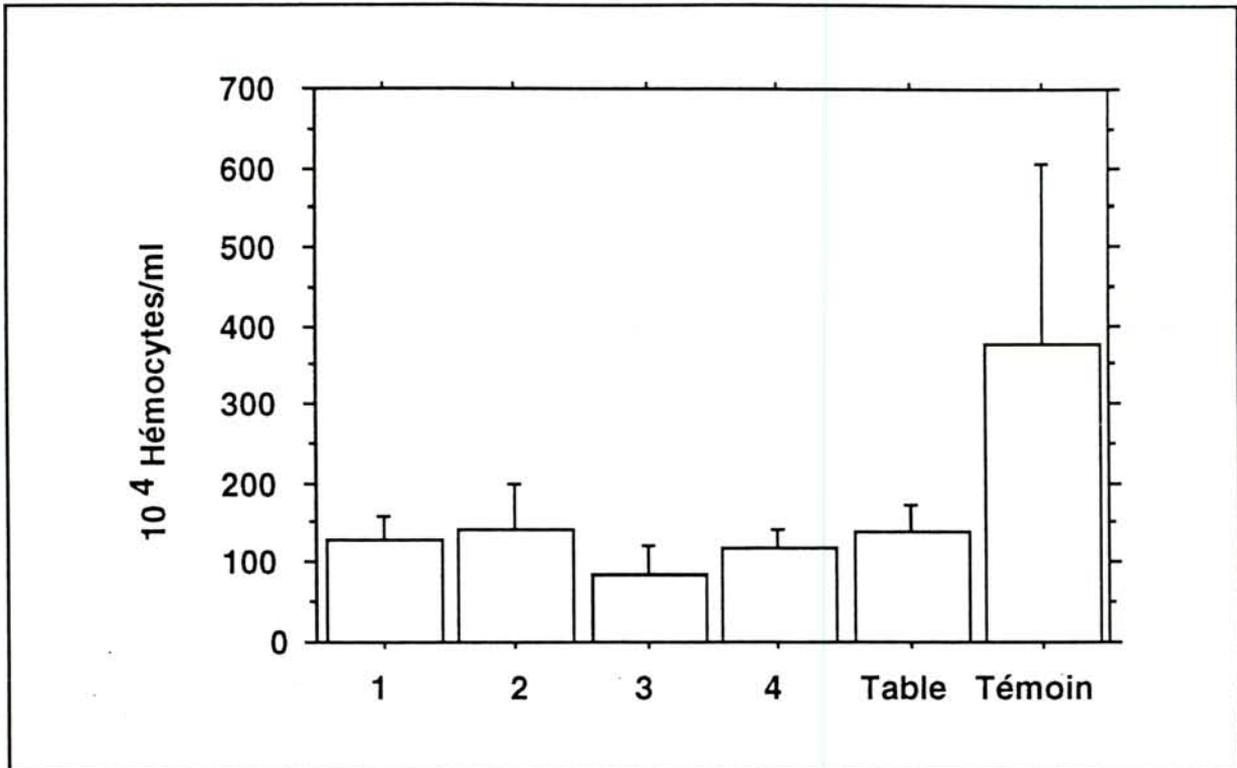


Figure 10 - Influence du confinement en cage sur le nombre d'hémocytes. Les lots maintenus en cage ont tous un taux d'hémocytes significativement diminué par rapport au témoin. (Barres d'erreur = intervalles de confiance à 95%)

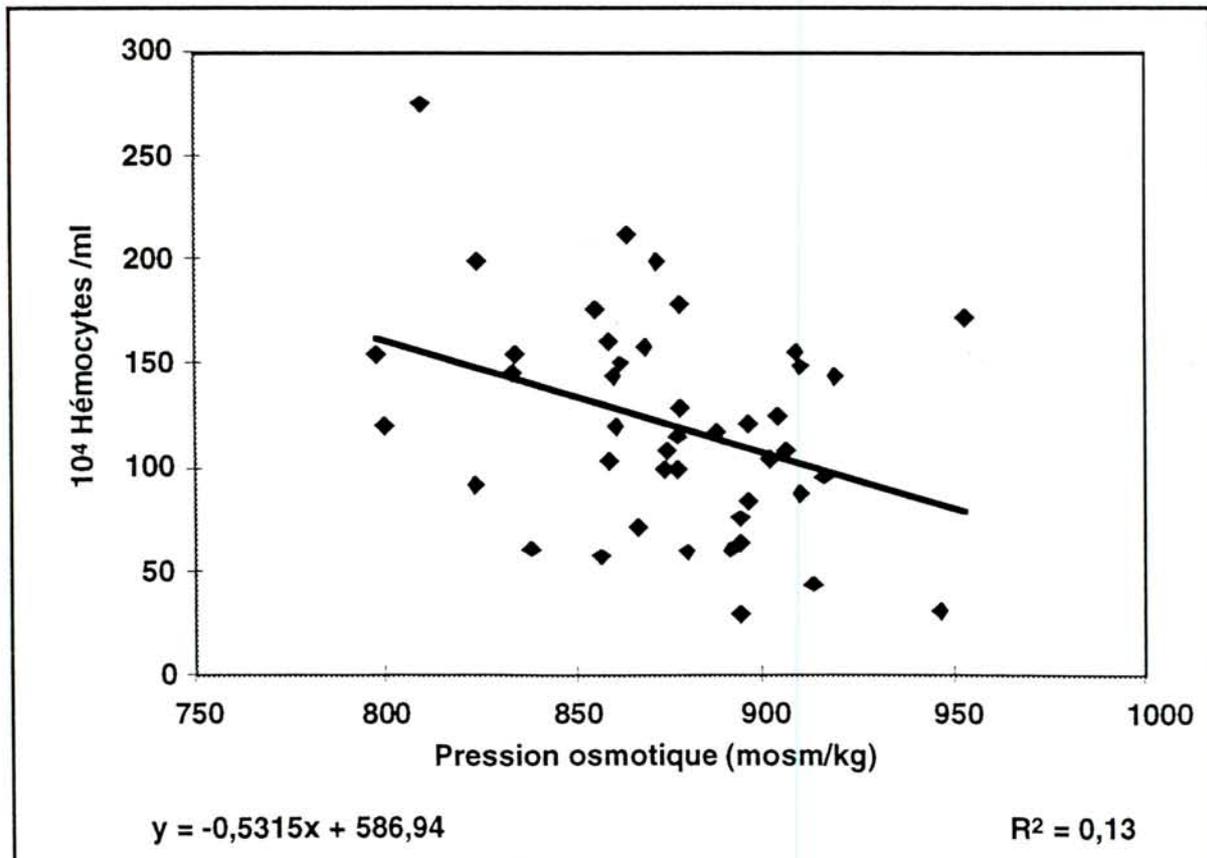


Figure 11 - Relation entre la pression osmotique de l'hémolymphe et le taux d'hémocytes chez les crevettes maintenues en cage.

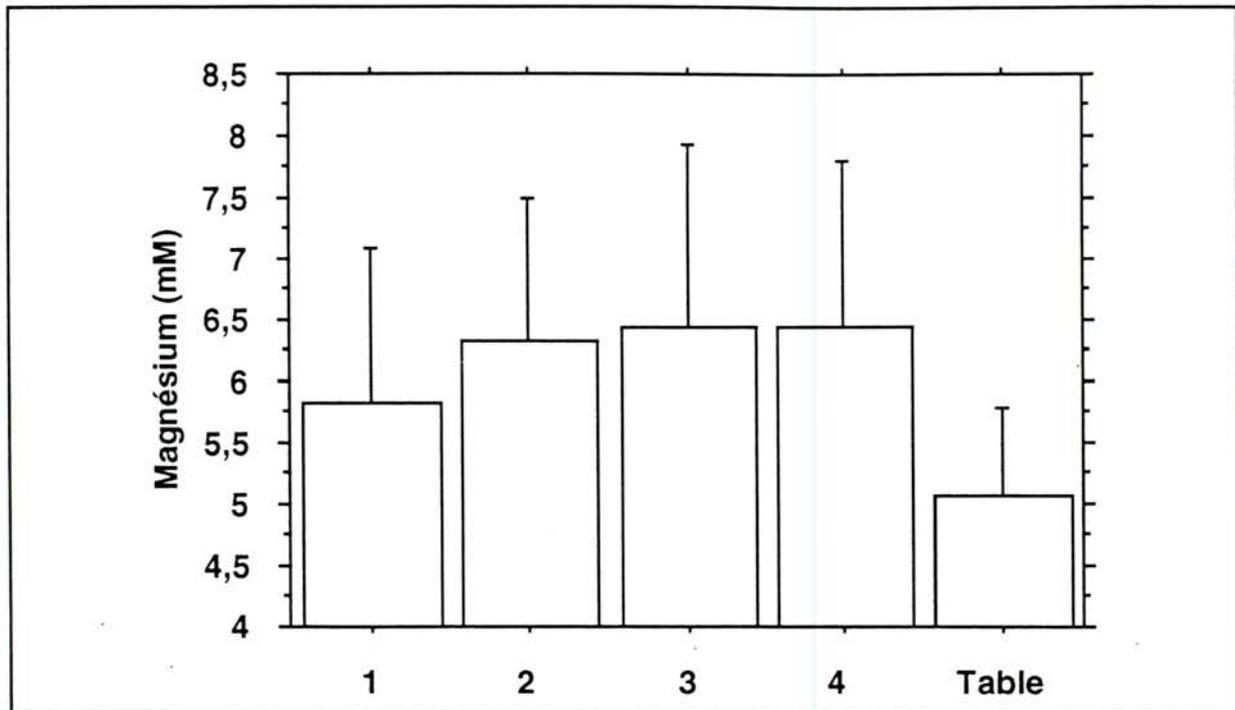


Figure 12 - Comparaison des taux de magnésium hémolympatique chez les crevettes maintenues en cage. Les résultats ne diffèrent pas significativement (Barres d'erreur = intervalles de confiance à 95%).

L'analyse de variance réalisées sur le taux de magnésium hémolympatique ne permet pas de mettre en évidence de différence significative entre les lots ($F(4 - 40) = 1,00$; $p = 0,4185$). Les prélèvements réalisés sur les témoins n'ayant pas pu être exploités, il n'est pas possible de mesurer l'effet de la localisation des cages sur le taux de magnésium (Figure 12). De même aucune corrélation significative n'a été mise en évidence entre le taux de magnésium et la pression osmotique.

3.4 Le test de transfert

Les résultats obtenus à l'issue du test de transfert sont présentés Figure 13, ils sont conformes à ce qui est habituellement constaté lors des pêches de crevettes au COP, une augmentation de la pression osmotique de l'hémolymphe est observée dans les heures qui suivent la perturbation et un retour à la normale. L'analyse de variance ne permet cependant pas de rejeter l'hypothèse nulle au seuil conventionnel de 5%. La valeur de F obtenue est de 2,54 pour 3 et 36 degrés de liberté soit une probabilité de 0,0718. Il est à noter que la comparaison deux à deux par PLSD (Tableau 5) met en évidence des différences significatives entre la valeur de la Pression osmotique 7 heures après le transfert et les trois autres prélèvements. Il est raisonnable de considérer que le transfert a été la cause d'un stress modéré que le nombre insuffisant de prélèvement réalisés ne permet pas de démontrer statistiquement.

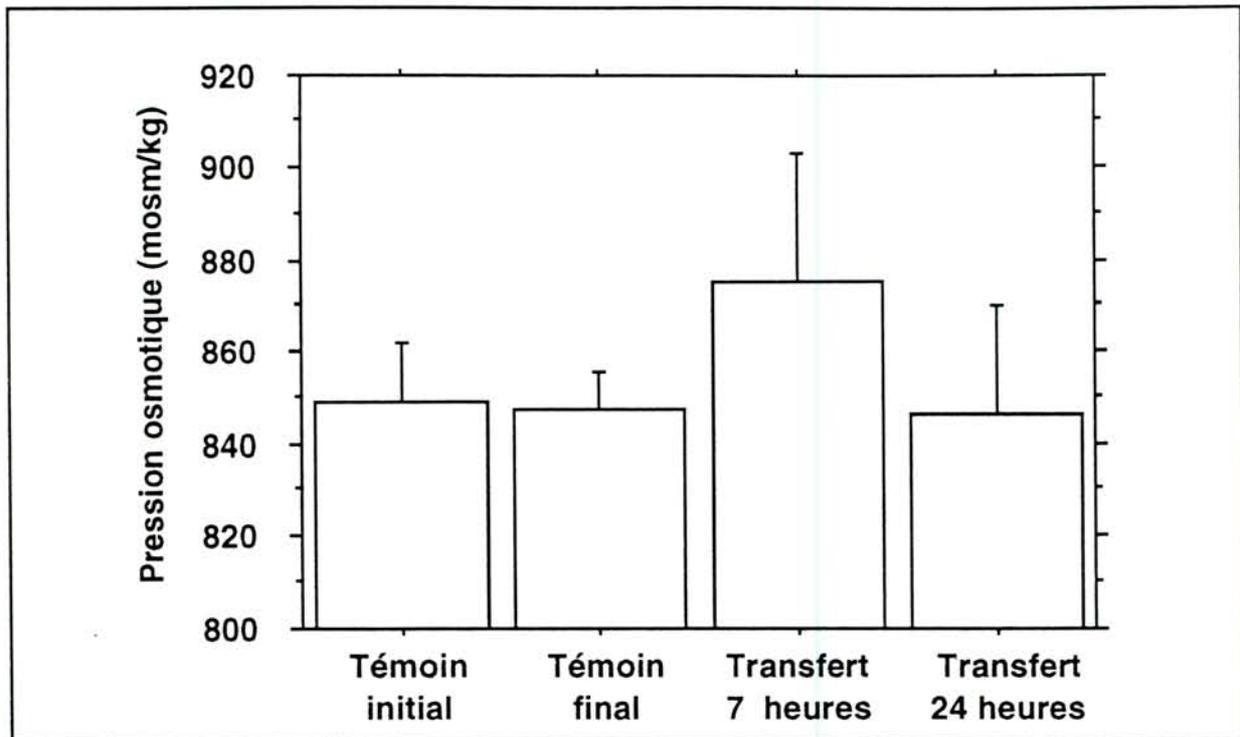


Figure 14 - Influence du transfert sur la capacité osmorégulatrice des crevettes (Barres d'erreur = intervalles de confiance à 95%)

Tableau 5 - Pressions osmotiques observées lors du transfert des crevettes en bac scobalite et comparaison multiples de moyennes par PLSD. Les valeurs en grisé sont significatives.

	Témoin initial	Témoin final	Transfert 7h	Transfert 24H
Moyennes (±s)	849 (5,8)	848 (3,6)	876 (12,3)	846 (10,4)
Témoin final	0,9103			
Transfert 7h	0,0399	0,0310		
Transfert 24H	0,8217	0,9103	0,0239	

4. DISCUSSION

L'analyse des paramètres caractérisant les boues du fond du bassin N°8 de la Station de Saint Vincent montrent clairement une hétérogénéité spatiale de la composition de ces boues. Les points de prélèvement 1, 2, 3, et 4 sont caractérisés par une forte abondance de matière organique, d'azote ammoniacal et d'eau. Les potentiels rédox bas indiquent une faible oxygénation de ces sédiments. Bien que les valeurs enregistrées ne soient pas exceptionnelles, cette partie du bassin peut être considérée comme une zone de dépôts de matières moins favorable à l'élevage que le reste du bassin. À l'inverse les points 8, 9 et 11 ont des taux de matière organique plus faible, les potentiels rédox peuvent être considérés comme normaux. Les points 6, 7, et 10 sont intermédiaires et constituent une zone de transition entre les deux précédentes.

La première des deux expériences menées a été perturbée par le déclenchement d'une vibriose à *Vibrio penaeicida* en raison de la mise en place trop brutale des cages d'expérimentation. Cette constatation tend à confirmer l'hypothèse que le stress joue un rôle essentiel dans le déclenchement de cette pathologie. Les fortes mortalités enregistrées ne permettent pas une interprétation précise de la relation entre les boues et la capacité osmorégulatrice, la plus grande partie des données ont été acquise pendant le développement de la vibriose ainsi qu'en témoigne l'augmentation des mortalités constatées au cours de la première journée de prélèvement. Celle-ci se caractérisant par un effondrement de la capacité osmorégulatrice beaucoup plus important que le phénomène recherché il n'est pas possible de conclure sur les relations entre la composition des boues et la capacité osmorégulatrice.

L'analyse des variations du taux de magnésium entre les différentes cages permet elle aussi de mettre en évidence un effet significatif de la cage mais avec une puissance plus faible puisque seule une cage testée différait significativement du témoin libre. Au niveau individuel la concentration de l'hémolymphe en magnésium est faiblement corrélée à la pression osmotique, les deux paramètres varient dans le même sens. La corrélation est plus forte lorsque l'unité d'échantillonnage est la cage. Ces deux paramètres déjà connus comme indicateurs de l'état physiologique reflètent selon toute vraisemblance le même état de stress chez les crevettes.

Au cours de la seconde expérience, aucun effet cage n'a été mis en évidence sur le taux de magnésium, ce paramètre n'apparaissait pas significativement corrélé à la pression osmotique de l'hémolymphe. Il est raisonnable de penser que le stress intense de la vibriose a été responsable de l'augmentation du taux magnésium hémolympatique comme de l'effondrement de la capacité osmorégulatrice de la première série mais que la régulation de cet ion n'est pas significativement affectée par le contact avec les boues.

Les résultats obtenus lors de la seconde expérience montrent que la position de la cage a eu une incidence significative sur la capacité osmorégulatrice des crevettes. Le nombre

de points étudiés ne permet pas d'établir des corrélations avec les paramètres caractérisant les sédiments, il est néanmoins remarquable que les dépressions les plus importantes ont été observées aux points a priori les plus défavorables.

Le cas des cages posées sur la table ostréicole apparaît plus difficile à interpréter. La dépression de la capacité osmorégulatrice très significative est intermédiaire entre celles des cages situées en zone favorable et celles posées dans la zone d'accumulation des boues. Ce résultat contredit les observations réalisées au COP par Heyvang (1995) et Magliozzi (1996) dans des bassins à fond nu, il est en revanche cohérent avec la nature du sédiment sous la table dont la qualité est intermédiaire entre celle sous les cages des points 1 et 2 et les cages des points 3 et 4. Il eût sans doute été préférable de positionner la table à proximité immédiate d'un groupe de cages posées au fond afin de séparer l'effet du confinement en cage de l'effet attribué au sédiment.

Les résultats obtenus par le comptage des hémocytes démontrent une perturbation évidente des crevettes due au confinement en cage : la diminution très significative du taux d'hémocytes est identique sur les cinq points étudiés. La corrélation significative entre le taux d'hémocytes et la pression osmotique de l'hémolymphe reste très faible et ne se retrouve pas lorsque l'unité expérimentale est la cage.

Ces deux expériences avaient pour objectif d'évaluer l'impact de la qualité des sédiments déposés au fond d'un bassin d'élevage sur la physiologie des crevettes. La méthode choisie consistant à maintenir les crevettes captives dans des cages a posé quelques problèmes de mise en place qui ont perturbé le déroulement de la première expérience. Le protocole utilisé pour la seconde ne permettait plus l'établissement de corrélations entre les paramètres caractérisant les boues et l'état physiologique des crevettes, il a néanmoins démontré que le stress provoqué était fonction du lieu de dépôt de la cage. Les effets de dépression observés sont en accord avec ce qui était attendu à l'examen des sédiments.

En résumé, il apparaît donc que:

- lorsqu'il n'y a pas de problème de vibriose, la CO des crevettes (et donc leur niveau de stress) est influencée par la qualité du fond sur lequel reposent les cages ;
- la capture et la mise en cage des crevettes ont provoqué une chute prononcée du nombre d'hémocytes circulants qui a pu faciliter la vibriose et donc la forte mortalité observée lors de la première expérience ;
- la mortalité au sein d'une cage et la CO moyenne des crevettes survivantes n'étaient pas significativement corrélées, dans le cas d'une vibriose la CO n'est pas un indicateur de l'état sanitaire des crevettes, l'effondrement de la CO apparaît au cours du développement de la maladie quelques heures seulement avant la mort des sujets.

Les résultats de ces expériences montrent que la qualité des fonds de bassin a une influence sur l'état physiologique de la crevette, et donc sur sa capacité à résister au stress. La relation entre ce dernier et le déclenchement de la pathologie de type "Syndrome 93" a été évoquée fréquemment. Un état physiologique affaibli par un sol de "mauvaise" qualité pourrait être un des facteurs déclenchant des épisodes de mortalité. L'utilisation des cages de confinement pourrait permettre une expérimentation dans cet objectif sous réserve que soient pris en compte notamment l'effet de la capture et du confinement sur le nombre d'hémocytes circulants et donc le risque accru d'infection lié au protocole lui même.

5. BIBLIOGRAPHIE

Aquacop, Cochard, J.C., Soyez, C., Lemaire, P., Roy, P., Langy, S., Capuano, T., Thuet, P., Trilles, J.P., Charmantier, G. (1993). Un nuevo taller diagnóstico : la capacidad osmoreguladora como indicador de estrés en el camarón. Memorias I Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, 215-220

Boglio E.C. (1995). Measurement of stress in broodstock leader prawns (*Penaeus monodon*) following capture by trawling and transport to hatcheries. PhD thesis, Department of Zoology, University of Queensland, Brisbane, Australia. 155pp

Charmantier, G., Bouaricha, N., Charmantier-Daures, M., Thuet, P., Trilles, J.-P., (1989). Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicators of the physiological state of penaeid shrimp. European Aquaculture Society, Special Public.,10, 65-66.

Heyvang, I. (1995). Évaluation de l'effet des boues de fond de bassin sur la physiologie de *Penaeus stylirostris* en élevage. Rapport MST « Sciences de l'Environnement », Université de Caen, 45pp

Koroleff, F. (1969). Determination of Ammonia in Methods in Seawater Analysis (Grasshof, K. ed.), Verlag Chemie, Weinheim, RFA, 126-133.

Le Groumellec, M., Mongodin, M.E., Cochard, J.C. and Aquacop (1996). Modification of osmoregulatory capacity of *Penaeus stylirostris* experimentally infected by pathogenic *Vibrio spp.*. SICCP, SEAFDEC/AQD, Iloilo City, Philippines, 14-17 May 1996, 48.

Magliozzi A. (1996). Caractérisation des boues d'élevages par leurs effets sur la physiologie de la crevette *Penaeus stylirostris*. Rapport de stage de Formation de chef de projet en Aquaculture. CREUFOP-Université de Montpellier II. 43pp

Treguer, Y et Le Corre, P. (1975). Manuel d'analyses des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'Autoanalyseur II Technicon R. Rapport UBO; 110pp.

Whiteley, N.M., Taylor, E.W. (1992). Oxygen and acid-base disturbances in the hemolymph of the lobster *Homarus gammarus* during commercial transport and storage. J. Crust. Biol. 12 : 19-30

6. ANNEXE

6.1 Résultats des infections expérimentales

Les prélèvements réalisés sur des sujets dont la capacité osmorégulatrice s'était effondrée ont été étudiés au COP par l'équipe de pathologie. L'examen visuel des cultures effectuées sur boîte de Petri indiquait une très forte contamination de l'hémolymphe par des bactéries. L'apparence générale des colonies était similaire à celle observée dans le cas du Syndrome 93. Trois souches dominantes isolées de ces prélèvements avaient un profil biochimique identique à la souche de *Vibrio penaeicida* AM101. Leur pathogénicité a donc été évaluée expérimentalement par injection intramusculaire sur des crevettes *P. stylirostris* de 10 g. L'inoculum était constitué de 50 µl d'une suspension bactérienne de 24 heures diluée à 10^{-4} dans de l'eau de Lewis stérile. La survie de ces animaux a été suivie pendant 70 heures, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 - Évolution de la mortalité chez *Penaeus stylirostris* après injection intramusculaire des souches isolées en Nouvelle Calédonie

Souche	CFU/g	22h	24h	28h	30h	46h	70h
Z8Cr32	$1,5 \cdot 10^3$	20	20	30	30	40	60
T9	$1,3 \cdot 10^3$	50	60	70	80	100	
Z7Cr33	$1,2 \cdot 10^3$	80	80	80	90	90	90