

Université de La Rochelle

**Thèse de Doctorat**

Discipline : Océanologie biologique

Par

Hugues LEMONNIER

**Effet des conditions environnementales  
sur le développement des pathologies à *Vibrio*  
dans les élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie**

Soutenue le 9 mai 2007 devant le jury composé de :

Pierre Chardy, Professeur, Université de Bordeaux I

Rapporteur

Jean-Louis Martin, Cadre de Recherche CRELA- IFREMER

Rapporteur

Gérard Blanchard, Professeur, Université de La Rochelle

Examineur

Paco Bustamante, Professeur, Université de La Rochelle

Examineur

Denis Saulnier, Cadre de Recherche LGP IFREMER

Examineur

Alain Herbland, Cadre de Recherche DAC IFREMER

Examineur et

Directeur de thèse

Small is Beautiful  
Raven J.A.  
Functional Ecology 1998

## Résumé

L'aquaculture mondiale de crevettes est un secteur à très forte croissance. Toutefois, les problèmes liés aux maladies dans les élevages ne cessent d'augmenter depuis 1980. Au cours du développement de la filière de Nouvelle-Calédonie, deux épisodes saisonniers de mortalités associées à la présence de *Vibrio* pathogènes sont apparus et ont fortement perturbé les techniques et les schémas de production. Les premières mortalités hivernales, décrites sous le nom de « **syndrome 93** » ont été observées en mai 1993. Elles ont affecté depuis tous les élevages de saison froide de toutes les fermes de production. Les conditions climatiques pendant les périodes de transitions entre les deux principales saisons caractérisant le climat de la Nouvelle-Calédonie, seraient responsables d'un stress environnemental à l'origine du déclenchement du syndrome 93. La densité initiale d'ensemencement, apparaît comme le principal facteur de risque, augmentant la probabilité d'apparition de la maladie et l'ampleur de ses effets.

Le « **syndrome d'été** » a été identifié pour la première fois en 1997 dans une ferme pratiquant une production intensive. Il s'est déclaré depuis 2003 dans deux autres fermes géographiquement proches. Les mortalités apparaissent 58 jours en moyenne après l'ensemencement des post-larves dans les bassins. La recherche d'une croissance maximale des animaux a induit, avec les années, une intensification progressive du système caractérisée par une augmentation de la quantité d'aliment distribuée. L'examen des données historiques fait apparaître une eutrophisation du milieu de plus en plus précoce concomitante au déclenchement des mortalités. En l'état actuel de nos connaissances, cette évolution précoce de l'écosystème en présence de façon récurrente de la souche hautement pathogène du *Vibrio* incriminé et à une période où la fréquence des mues des crevettes est élevée, constitue le principal facteur de risque de la maladie.

Avec l'apport croissant en aliment, la colonne d'eau évolue vers une autotrophie croissante alors que le sédiment devient de plus en plus hétérotrophe au fur et à mesure que l'élevage progresse. Au cours du processus d'eutrophisation, le compartiment autotrophe montre une succession de deux assemblages. Le picophytoplancton domine sur la première partie de l'élevage et laisse place à du nanophytoplancton en seconde partie. Cette phase de transition, concomitante à l'apparition des mortalités quel que soit le syndrome, caractérise un stress environnemental dont l'intensité pourrait favoriser ou non le déclenchement des mortalités. Les suivis de différents indicateurs dans les sédiments - pH, potentiel d'oxydoréduction et concentration en ammoniacque dans l'eau interstitielle – indiquent dans les bassins déclarant les épizooties des conditions qui ont été définies expérimentalement comme potentiellement plus stressantes pour les animaux.

**Mots clés** : Aquaculture, Pénéides, *Litopenaeus stylirostris*, Crevette, Santé de l'écosystème bassin, Eutrophisation, Pratiques d'élevage, Vibrioses, Stress environnemental, Facteur de risque, Nouvelle-Calédonie.

## Abstract

Shrimp aquaculture in New Caledonia is a developing industry, exclusively based on the species *Litopenaeus stylirostris*. However, it is subject to mortalities during grow out as observed all over the world. Since 1993, shrimp reared during the cold period are affected by a disease named “syndrome 93”. As a consequence, the whole industry has become seasonal and produces essentially during the warm season. The climatic conditions during the periods of transition between the two main seasons could be responsible for an environmental stress and the origin reason for mortality outbreaks. Stocking density is the main risk factor. It increases the probability of the appearance and development of the epizooty in the pond. The "Summer Syndrome", a septicemic vibriosis caused by *Vibrio nigripulchritudo*, was identified for the first time in December 1997 in an intensive shrimp farm (DF). It has become enzootic ever since and is expressed after 50d of rearing. Since 2003, two others farms located near DF have developed the disease. As a consequence, the summer syndrome is considered to be a potential threat for all the industry. Between 1991 and 2005, the increase of feed input and nitrogen levels in feed has led to a significant increase in the growth rate over the years in the farms affected by the disease. In consequence, an early eutrophication of the water is observed, which is concomitant with the beginning of the mortality outbreaks. An early eutrophication and the virulence level of the pathogen are considered as the main risk factors of the disease. Factors may act synergistically to explain the summer syndrome. As part of a multidisciplinary approach (pathology – physiology – environment), two high-frequency surveys were carried out to analyse the pond ecosystem. Since the feed quantity increases with the biomass of shrimp, the eutrophication level of the pond ecosystem will also tend to increase with the duration of rearing. During the first part of the rearing, the abundance of each picoplankton type is exceptionally high and picophytoplankton dominated the autotrophic compartment. The nanophytoplankton dominated the second part of the rearing and was more unstable. The shift from pico to nanophytoplankton could be considered as an environmental stress and was observed in relation to the beginning of the mortalities, whatever the disease. Shift intensity could play a role by inducing directly or indirectly a stress for shrimp and/or a growth and/or virulence factors of the pathogen. Results from sediment studies show that mortality was best characterized by TAN concentration in pore water and even more when the TAN concentration was high. TAN and pH are potential stress factors for shrimp reared in ponds affected by these diseases.

**Key words :** Aquaculture, Peneids, *Litopenaeus stylirostris*, Shrimp, Pond health, Eutrophication, Pond management, Epizooty, Vibriosis, Environmental stress, Risk factors, New Caledonia

# Remerciements

Le présent travail de recherche n'aurait pu se construire sans la collaboration active d'aquaculteurs membres du Groupement des Fermes Aquacoles de Nouvelle-Calédonie qui ont effectué mesures et observations et communiqué les données de leurs fermes". Merci à eux.

Je me souviendrai de cette thèse comme d'une période riche d'enseignements. *Merci* aux membres du Jury de me faire l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail, à Pierre Chardy, à Gérard Blanchard, à Paco Bustamente, à Jean-Louis Martin et à Denis Saulnier,

Je me souviens du Mardi d'Animation Scientifique. *Merci* à Alain Herbland pour cette espace de discussion, pour avoir accepté d'encadrer cette thèse, pour ton aide dans la rédaction de ce manuscrit et pour m'avoir apporté les connaissances nécessaires en écologie,

Je me souviens de la motivation apportée par la mise en place du programme DESANS. *Merci* à Yves Harache pour m'avoir permis de réaliser ce travail,

Je me souviens de ces rendez-vous tôt le matin au péage, des arrêts à la boulangerie, du tour des mortes, des échantillonnages, des ponctions, des analyses, des plongées et de ces retours tardifs. *Merci* à Dominique Ansquer, Pierre Brun, Denis Coatanea, Cyrille Goarant, Emmanuel Goyard, Luc Della Patrona, Carole Justou, José Herlin, Frédéric Imbert, Christian Lambert, Alexandre Legrand, Pierrette Lemaire, Anne-Laure Marteau, Chantal Mugnier, Jacky Patrois, Jean-Marie Peignon, Etienne Pita, Jean-michel Ranouil et Benoît Soulard. Sans vous, ce travail ne serait pas. *Merci* plus généralement à toute l'équipe du DAC sans oublier l'administration Evelyne Saulnier, Philippe Boisard et Loïc Gourmelen.

Je me souviens de mon arrivée au séminaire. *Merci* à Gérard Blanchard et à Philippe Hatt pour m'y avoir accueilli. *Merci* à l'ensemble du personnel pour leur concours à la réussite de ce travail. *Merci* en particulier à Hervé Chartois pour l'automate, Philippe Souchu pour son enseignement sur l'eutrophisation, à Lucette Joassard pour les analyses CHN, à Bénédicte Charrier pour ma gestion administrative, à Evelyne pour ses conseils bibliographiques, à Gaël, Evelyne, Françoise, Martine et au 3ème étage pour le café, sans oublier bien évidemment les thésards and co Benoît, Christine, François, Marion, Vincent, Yves...

Je me souviens de mes visites régulières dans les couloirs de l'IRD. Vous avez toujours été disponibles. *Merci* à Christophe Chevillon, Sandrine Chifflet, Pascal Douillet, Jean-Michel Fernandez, Francis Galois, Philippe Gérard, Séverine Jacquet, Robert Leborgne, Jean-Yves Panché, Martine Rodier, Jean-Pascal Torréton, Alain Plenecassagne et à toute l'équipe chimie,

Je me souviens de mes visites à Banyuls en février et juin de l'année dernière. Quelle luminosité ! *Merci* à Claude Courties pour m'avoir fait découvrir pico et nano,

Je me souviens de deux naissances à deux jours d'intervalle. *Merci* à toi, pour avoir supporté mes nouvelles théories, pour avoir été là. Cette thèse te doit beaucoup Chantal,

Je me souviens de la fête de départ de Lucas. *Merci* Anne-Laure pour ta bonne humeur, ton naturel et ton sens de la fête,

Je me souviens de cette nuit Bretonne (donc froide pour un calédonien) et du son et lumière à marée basse. *Merci* Denis pour ton soutien ces dernières années,

Je me souviens de la confiance que tu m'as accordée pour l'analyse des données historiques. *Merci* Jacky,

Je me souviens de cette balade dans la mangrove à Nessadiou, de cette mission dans le Nord trois jours durant. *Merci* José pour ta bonne humeur et pour l'aide apportée (l'anglais, les informations sur la filière...),

Je me souviens de ce matin où tu ne souhaitais pas aller recueillir les données et avec raison. On ne fait pas toujours un métier facile. *Merci* Lucas,

Je me souviens de ton arrivée fracassante. Mais tu ne devais pas avoir ton permis bateau. *Merci* à toi Alexandre pour l'aide si précieuse que tu m'as apporté,

Je me souviens de tes multiples fêtes de départ. Mais enfin tu l'as eu ce CDI. *Merci* Benoît pour être à l'autre bout de la toile et pour toutes ces informations,

Je me souviens de ces discussions autour de ces fameux syndromes sur la route, sur la piste, à une terrasse de café à Florence. *Merci* à Yann et à Sophie,

Je me souviens de cette fête de départ et de ce mariage. *Merci* à mes calédoniens préférés Christian, Etienne, José (encore lui) et Pierre,

Je me souviens de cette dernière sortie en bateau, les baleines étaient au rendez-vous. *Merci* Yoann pour le travail que tu as réalisé. Mon après thèse va être bien occupé.

Pardon à ceux que j'oublie !!!!

*Merci* à mes parents et à mon frère pour le soutien apporté à notre arrivée en métropole.

A Cathy et Théo

# Sommaire

<b>Sommaire</b> .....	<b>1</b>
<b>Contexte général de l'étude</b> .....	<b>5</b>
<b>1. L'aquaculture Crevettes dans le monde</b> .....	<b>5</b>
1.1. Production mondiale et principaux pays producteurs .....	5
1.2. Le cycle de production .....	6
1.3. Les techniques de grossissement .....	6
<b>2. L'aquaculture Crevettes en Nouvelle-Calédonie</b> .....	<b>8</b>
<b>3. Bref historique des principales maladies et syndromes</b> .....	<b>10</b>
<b>4. Les vibrioses calédoniennes</b> .....	<b>12</b>
4.1. Le syndrome 93 .....	13
4.2. Le syndrome d'été .....	15
<b>5. Le programme DESANS</b> .....	<b>15</b>
<b>6. Objectifs de recherche et présentation du manuscrit</b> .....	<b>18</b>
<b>Chapitre 1 : L'écosystème bassin – Synthèse des connaissances</b> .....	<b>19</b>
<b>1. Généralités</b> .....	<b>19</b>
1.1. Un agrosystème .....	19
1.2. Dynamique de la matière organique .....	19
1.3. D'un état oligotrophe à eutrophe à hypereutrophe .....	20
1.4. Le climat .....	21
1.5. La qualité des eaux côtières .....	22
1.6. Les facteurs édaphiques .....	22
1.7. L'énergie lumineuse .....	23
1.8. La température .....	24
1.9. La salinité .....	26
1.10. Le dioxyde de carbone, l'alcalinité et le pH .....	27
1.11. L'oxygène dissous .....	28
1.12. Le phytoplancton .....	29
1.13. L'azote .....	30
1.14. Le phosphore .....	32
1.15. La matière organique des sédiments .....	34
1.16. L'ammoniaque, le potentiel d'oxydoréduction et le pH des sédiments .....	36
<b>2. Influence de la gestion sur les principaux paramètres de l'écosystème bassin</b> .....	<b>39</b>
2.1. Influence des taux de renouvellement .....	39
2.2. Influence des densités .....	46
2.3. Bilan de matière .....	50
<b>3. Influence des pratiques zootechniques et de l'âge des bassins sur les caractéristiques sédimentaires</b> .....	<b>53</b>
3.1. Caractéristiques sédimentaires des bassins de production à la pêche finale .....	53
3.2. Influence de l'enrichissement organique sur les caractéristiques sédimentaires .....	56
<b>4. Schéma conceptuel</b> .....	<b>60</b>

<b>Chapitre 2 : Etude historique des deux syndromes.....</b>	<b>63</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>63</b>
<b>2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>64</b>
2.1. Informations issues des fermes .....	64
2.2. Données météorologiques et température de l'eau .....	66
2.3. Analyse des données.....	66
<b>3. Résultats.....</b>	<b>67</b>
3.1. Evolution des pratiques zootechniques de la filière de 1987 à 2004 .....	67
3.2. Le syndrome 93 .....	72
3.3. Le syndrome d'été .....	82
<b>4. Discussion.....</b>	<b>93</b>
Evolution des pratiques zootechniques de la filière.....	93
Le syndrome 93 .....	94
Le syndrome d'été .....	96
La propagation du syndrome d'été .....	98
<b>5. Conclusion et perspectives.....</b>	<b>100</b>
 <b>Chapitre 3 : Variabilité et dynamique du compartiment colonne d'eau en relation avec les vibrioses .....</b>	 <b>107</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>107</b>
<b>2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>108</b>
2.1. Sites d'étude et zootechnie .....	108
2.2. Choix des variables.....	110
2.3. Stratégie d'échantillonnage .....	110
2.4. Analyses de laboratoire .....	112
2.5. Analyse des données.....	114
<b>3. Résultats.....</b>	<b>115</b>
3.1. Le syndrome d'été .....	115
3.2. Le syndrome 93 .....	132
<b>4. Discussion.....</b>	<b>142</b>
Des syndromes au rendez-vous .....	142
Une variabilité essentiellement temporelle.....	142
Un milieu variable susceptible d'être stressant pour les animaux ?.....	144
Le phytoplancton, indicateur d'un stress environnemental .....	145
Les facteurs limitants la croissance phytoplanktonique.....	147
Le phytoplancton à l'origine des mortalités ?.....	150
Un milieu variable favorable aux bactéries hétérotrophes, aux Vibrio... et aux pathogènes ?.....	152
<b>5. Conclusions.....</b>	<b>153</b>
 <b>Chapitre 4 : Caractéristiques des sédiments et vibrises .....</b>	 <b>155</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>155</b>
<b>2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>157</b>
2.1. Descriptifs des suivis sédimentaires .....	157
2.2. L'échantillonnage .....	157
2.3. Analyses au laboratoire .....	157
2.4. Analyse des données.....	158
<b>3. Résultats et discussion .....</b>	<b>158</b>
3.1. Le syndrome 93 .....	158



3.2. Le syndrome d'été .....	164
<b>4. Conclusions et perspectives .....</b>	<b>175</b>
Evolution et fonctionnement des sédiments .....	175
Conditions favorisant le stress des animaux : difficultés d'une approche pertinente .....	176
Conditions environnementales favorisant la croissance des pathogènes .....	176
<i>Conclusion générale.....</i>	<i>177</i>
<i>Perspectives.....</i>	<i>181</i>
<b>Le couplage des données environnement - physiologie – pathologie .....</b>	<b>181</b>
<b>Recherche sur les mécanismes de l'eutrophisation .....</b>	<b>181</b>
Dynamique des populations phytoplanctoniques .....	181
Dynamique des populations bactériennes.....	181
Caractérisation du couplage biogéochimique entre sédiments et colonne d'eau en milieu dystrophe .....	182
La matière organique dans l'écosystème bassin .....	182
<b>Recherche d'un indicateur d'eutrophisation.....</b>	<b>183</b>
<b>Vers un modèle déterministe.....</b>	<b>183</b>
<i>Références bibliographiques.....</i>	<i>185</i>
<i>Annexes.....</i>	<i>204</i>



## Contexte général de l'étude

### 1. L'aquaculture Crevettes dans le monde

#### 1.1. Production mondiale et principaux pays producteurs

L'aquaculture de crevettes Pénéides est une industrie relativement récente et importante dans les pays subtropicaux et tropicaux avec une production estimée à 2,3 millions de tonnes en 2004 soit sensiblement autant que la pêche (FAO, 2005). Quatre-vingt-cinq pour cent de la crevette est produite en Asie par plus d'un million de petites exploitations (Rosenberry, 2005). Elle fournit aujourd'hui des centaines de milliers d'emplois, des billions de dollars en termes de revenus et un produit alimentaire de qualité. En 2003, pour une production de 1,8 millions de tonnes, la valeur a été évaluée à environ 9

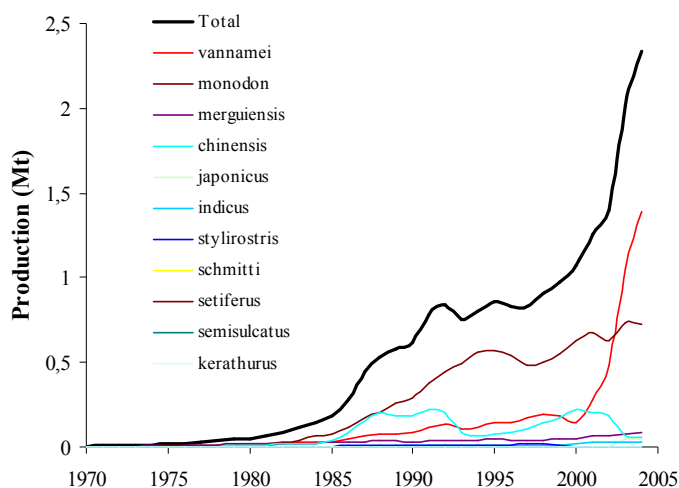


Figure 1 : Evolution de la production des Pénéides au niveau mondial. Les espèces sont classées par niveau de production pour l'année 2004 (FAO, 2006).

323 millions US \$ (FAO, 2003). La production a démarré à partir des années 1970 suite à une phase expérimentale (fig. 1). Cette industrie se développe encore aujourd'hui tellement rapidement, et bien souvent sans plan de gestion, qu'elle a été comparée par Lightner & Redman (1998) à la ruée vers l'or qui a eu lieu dans l'Ouest Américain à la fin du XIX<sup>ème</sup> Siècle. La croissance de cette filière était respectivement sur les périodes 1970-1980, 1980-1990 et 1990-2000 de 23,1%, de 25,1% et de 4,9%

(FAO, 2003). En 2003, Rosenberry a évalué la croissance dans ce secteur à 12-15% pour les années à venir. Quelques pays dominent la production. La Chine est récemment passée en tête avec la crevette charnue (*Penaeus chinensis*) et la crevette à pattes blanches (*Litopenaeus vannamei*) suivie par la Thaïlande, l'Indonésie et le Vietnam qui eux produisent de la crevette tigre (*Penaeus monodon*), puis le Brésil, le Mexique et l'Equateur qui cultivent la crevette à pattes blanches et l'Inde qui élève à la fois de la crevette blanche des Indes (*Penaeus indicus*) et de la crevette tigre. Les crevettes sont généralement exportées vers les pays riches de l'Union Européenne, vers le Japon et les Etats-Unis

(Primavera, 1997). Ce dernier consomme aujourd'hui à lui seul 50% de la production mondiale (Rosenberry, 2005). Plusieurs espèces de Pénéides sont élevées au niveau mondial mais trois espèces sont très largement majoritaires (fig. 1). Elles représentaient 86% de la production totale de crevettes d'aquaculture en 2000 (FAO, 2003). La crevette tigre est principalement élevée en Asie et a jusqu'à peu était la principale espèce élevée. La crevette à pattes blanches était principalement élevée en Amérique du Sud et en Amérique Centrale. Elle est depuis peu fortement produite en Chine, producteur à plus de 99% de la crevette charnue (FAO, 2003). Bien que la crevette n'apparaisse en 2000 qu'au vingtième rang pour la production d'aquaculture toutes espèces confondues, elle arrivait au premier rang en terme de valeur (FAO, 2003). En 2003, c'est la crevette à pattes blanches avec 3 800 millions de US\$ qui représentait la plus forte valeur suivie par les huîtres du Pacifique (*Crassostrea gigas*), la crevette tigre et le saumon (*Salmo salar*) (Lowther, 2005).

### ***1.2. Le cycle de production***

La crevetticulture en lagunes à partir de jeunes nés en mer date de plusieurs siècles en Asie, mais l'obtention de pontes de femelles en captivité est relativement récente (un demi-siècle). Au cours des années 70, la maîtrise de la reproduction en éclosion, puis du grossissement, est à l'origine du boom économique de cette filière. Les géniteurs sont élevés en bassin pour permettre une reproduction en toute saison. Une fois mature, de nombreuses pontes sont nécessaires pour obtenir un nombre suffisant d'animaux pour approvisionner les bassins. Après éclosion et une phase de développement embryonnaire en éclosion, les animaux sont placés dans des nurseries pour s'acclimater aux conditions qu'elles vont rencontrer. A la fin de cette période, les juvéniles sont comptés et relâchés (ouensemencés) dans les bassins de grossissement pour une durée comprise entre 4 et 8 mois<sup>1</sup> avant d'être pêchés pour être commercialisés. Toutefois, une partie de la pénéculture mondiale repose encore sur les stocks sauvages pour la fourniture des post-larves nécessaires à l'ensemencement des bassins de grossissement soit par capture des post-larves en zones estuariennes, soit par capture de géniteurs sauvages.

### ***1.3. Les techniques de grossissement***

Les différents types de production sont classés en fonction de la densité des animaux à l'ensemencement. Dans les **élevages extensifs**, les post-larves (PL) sont pêchées dans le milieu extérieur pour être ensemencées dans les bassins de grossissement ou rentrent directement dans les bassins avec la marée. Les densités à l'ensemencement sont faibles et inférieures à 2,5 PL par m<sup>2</sup>. Les

---

<sup>1</sup> Pour plus d'informations, voir l'animation sur le site de l'IFREMER à l'adresse suivante : <http://www.ifremer.fr/aquaculture/fr/pedagogie.htm#crevette>

animaux se nourrissent sur le milieu, enrichi par des engrais organiques et/ou chimiques. Les échanges d'eau sont compris entre 0 et 5% et dépendent de la marée. Les élevages sont souvent intégrés à d'autres productions aquacoles (poissons,...).

Les élevages **semi-intensifs** sont conduits dans des bassins de tailles comprises entre 2 et 30 hectares. Les densités à l'ensemencement varient de 10 à 30 PL par m<sup>2</sup>. Les bassins sont renouvelés à l'aide de pompes entre 5 et 25% du volume total du bassin par jour. Les animaux se nourrissent sur du granulé et en partie sur le milieu d'élevage. Les bassins sont généralement fertilisés par des engrais organiques et/ou chimiques. Les rendements sont compris entre 500 et 5000 kg par hectare et par an.

La taille des bassins pour **les élevages intensifs** diminue. Elle est comprise entre 0,1 et 1,5 hectare. Les densités à l'ensemencement sont supérieures à 30 animaux par m<sup>2</sup>. Les élevages sont fortement nourris et aérés. La gestion du milieu d'élevage devient conséquente afin de maîtriser la production des déchets. Les renouvellements peuvent être très importants et supérieurs à 30% du volume du bassin et par jour. La production fluctue entre 5000 et 20000 kg par hectare et par an.

**L'élevage super-intensif** nécessite un important contrôle de l'environnement bassin. Les rendements sont très élevés et compris entre 20 et 100 tonnes par hectare et par an. Cette technologie a été développée dans les années 1980 et 1990 (Aquacop, 1985 ; Wyban & Sweeney, 1990 ; Hopkins et al., 1993 ; Sandifer & Hopkins, 1996). Elle repose sur les floccs bactériens qui épurent le milieu des composés potentiellement dangereux pour les animaux en élevage. Les crevettes se nourrissent en partie de ces floccs diminuant le coût de l'aliment, peu riche en protéine (20%). Il n'y a pas de renouvellement en eau. Ce système est considéré par de nombreux spécialistes comme l'avenir de la production aquacole mondiale (Rosenberry, 2005).

Malgré une tendance à l'intensification ces dernières années, le système de production le plus courant reste l'extensif. Ce système est très bien représenté en Inde, au Vietnam, au Bangladesh, aux Philippines, en Indonésie, en équateur et au Honduras. Le modèle de développement en Chine est plutôt orienté sur les systèmes semi-intensifs et intensifs. Taiwan et surtout la Thaïlande utilisent le système intensif. Les Etats-Unis et la Thaïlande travaillent aussi sur le modèle de production super-intensif. Mais c'est à Belize que l'on trouve la ferme super-intensive la plus connue et la plus étudiée (Browdy et al., 2001 ; Boyd & Clay, 2002 ; Burford et al., 2004).

## 2. L'aquaculture Crevettes en Nouvelle-Calédonie

Texte accepté pour publication dans «la géographie de la Nouvelle-Calédonie en 100 notions». Ouvrage collectif sous la direction scientifique de Christian Jost (CNRS/UNC) – Editions Hachette.



Figure 2 : Vue aérienne de la Ferme Aquacole « Pénéide de Ouano », 2005 (Source : zonéco).

Des conditions climatiques favorables, une eau de mer de qualité, la présence de sites pour la construction de fermes, une volonté forte de développement de la part des institutions (Territoire, Provinces, Etat) et la présence d'organismes de recherche ont été les conditions qui ont permis le développement de la filière crevette, principale filière aquacole en Nouvelle-Calédonie. Après des essais d'élevages infructueux réalisés sur les espèces locales dans les années 70, l'introduction d'une espèce d'origine Mexicaine *Litopenaeus stylirostris* a eu lieu en 1981. Le développement de la filière s'est fait progressivement, dans un premier temps sous l'impulsion technique, scientifique et commerciale de l'IFREMER (Institut Français de recherche pour l'exploitation de la mer) avec la création de la ferme « La Sodacal » (1983) et en

s'appuyant sur la consommation locale. Dans un second temps, on a assisté à la création de fermes privées (fig. 2), d'un atelier de conditionnement et à l'exportation d'une partie grandissante de la production<sup>2</sup>. Elle est passée de 16 tonnes en 1983 à environ 2200 tonnes en 2004 (fig. 3A). Bien que d'importance pour le Territoire en étant la deuxième source d'exportation derrière le nickel, cette production reste néanmoins marginale comparativement au 2,3 millions de tonnes de crevettes produites en 2004 par l'aquaculture mondiale (fig. 3B). Les pouvoirs publics accompagnent le développement de cette filière par un soutien financier à l'export et lors de la création des entreprises. Les fermes de grossissement sont construites sur des tannes, zones sursalées et non exploitées du domaine public maritime (DPM) situées en arrière des mangroves (fig. 2). La concession du DPM est attribuée par les Provinces après étude du dossier de faisabilité et étude d'impact. La filière est composée de deux provendiers, de trois éclosiers et de 19 fermes de grossissement installées sur la

<sup>2</sup> Pour visualiser les fermes, le lecteur peut se rendre sur le site de Google Earth. Elles sont toutes situées le long de la côte Ouest de la Nouvelle-Calédonie.

côte Ouest du pays. Les fermiers se sont regroupés dans une association le GFA (Groupement des Fermes Aquacoles). Avec des coûts élevés de production et de transport vers les principaux marchés (Europe, Japon et Australie) et un marché local limité (estimé à 600 tonnes), le prix de revient du kilogramme de crevettes est élevé (6 à 10 €). Afin de compenser ce handicap, une démarche commerciale a été mise en place pour viser un marché rémunérateur. La SOPAC (Société des Producteurs Aquacoles Calédoniens) a initié et piloté la mise en place d'un cahier des charges avec en

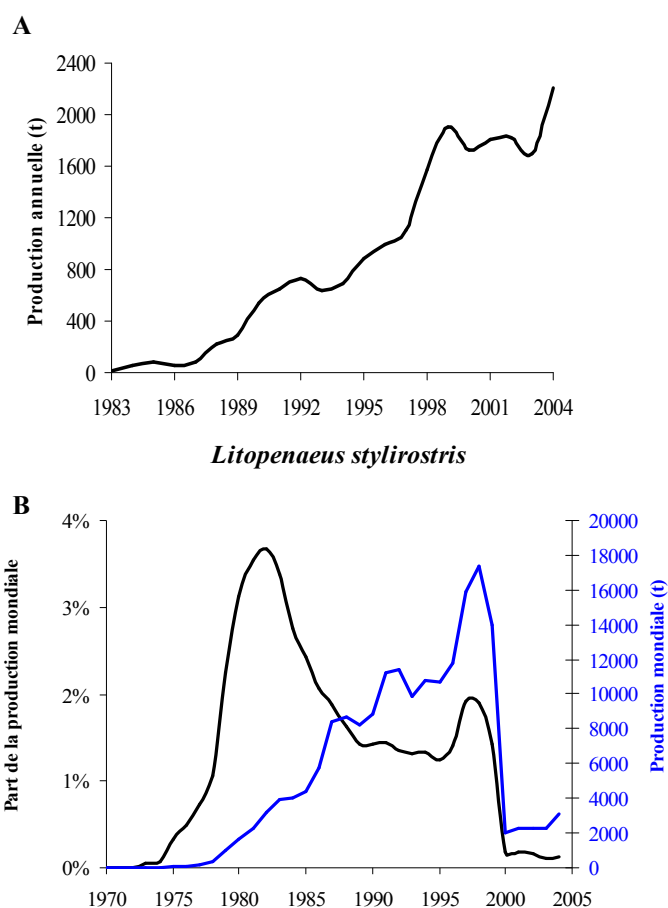


Figure 3 : (A) Evolution de la production annuelle de crevettes de Nouvelle-Calédonie (Origine des données : LAC, 1999 ; GFA, 2004) ; (B) Evolution de la production de l'espèce *Litopenaeus stylirostris* en tonnes et en fonction de la production mondiale de crevettes.

particulier des normes d'élevages (absence de farines d'animaux terrestres dans l'aliment, pas d'antibiotiques, charge en élevage limitée...) et une démarche de maîtrise de la qualité du produit (Normes CEE). Aujourd'hui, la sphère crevette mobilise environ 900 personnes, 300 permanents et 600 occasionnels, pour environ 350 équivalents temps pleins. Ces emplois, souvent non qualifiés, sont pour moitié situés en brousse où ils contribuent au développement économique de zones souvent isolées. Cette activité présente un intéressant potentiel de développement, y compris dans la Province Nord où se situent la majorité des nouveaux sites aménageables. Les perspectives de développement établies courant 2003 indiquaient pour 2007, un doublement des surfaces d'élevage pour une production à terme de 5000 tonnes. Cette filière est une réussite pour l'économie locale, pour l'emploi et elle participe pleinement au rééquilibrage entre la Province Sud et la Province Nord. Toutefois, elle reste fragile. La multiplication des fermes, l'augmentation de la production et le risque d'intensification des systèmes d'élevage sont susceptibles d'augmenter la pression sur l'environnement littoral et de favoriser l'apparition de pathologies. Le challenge pour les acteurs de cette filière est aujourd'hui d'assurer un développement durable de cette activité.

particulier des normes d'élevages (absence de farines d'animaux terrestres dans l'aliment, pas d'antibiotiques, charge en élevage limitée...) et une démarche de maîtrise de la qualité du produit (Normes CEE). Aujourd'hui, la sphère crevette mobilise environ 900 personnes, 300 permanents et 600 occasionnels, pour environ 350 équivalents temps pleins. Ces emplois, souvent non qualifiés, sont pour moitié situés en brousse où ils contribuent au développement économique de zones souvent isolées. Cette activité présente un intéressant potentiel de développement, y compris dans la Province Nord où se situent la majorité des nouveaux sites aménageables. Les perspectives de développement établies courant 2003 indiquaient pour 2007, un doublement des surfaces d'élevage pour une production à terme de 5000 tonnes. Cette filière est une réussite pour l'économie locale, pour l'emploi et elle

### 3. Bref historique des principales maladies et syndromes<sup>3</sup>

L'aquaculture est un secteur à très forte croissance. Toutefois, les problèmes liés aux maladies dans les élevages de crevette ne cessent d'augmenter depuis 1980 (Naylor et al., 1998 ; 2000; Kausky et al., 2000). Elles sont devenues le principal frein à son développement et ont un impact élevé sur le plan social et économique dans de nombreux pays. Les chutes de production ont été importantes ces dernières années à Taiwan, en Chine, en Indonésie, en Inde, à Panama, au Honduras et en Equateur. La première, remarquable, eut lieu à Taiwan en 1988, à l'époque leader mondial de l'aquaculture crevette. En 1993, ce fut le tour de la Chine. Soixante-dix pour cent des bassins de production de Thaïlande ont été abandonnés en 1997 (Stevenson, 1997). L'apparition des maladies a causé des pertes économiques évaluées à 750 millions de US\$ en Chine en 1993 et à 210 millions de US\$ en 1995-1996 en Inde (Primavera, 1998).

Il a été observé des maladies à **étiologies infectieuses**, avec des virus, des bactéries, des champignons, des protistes et des parasites et **des maladies non infectieuses**. Dans ce dernier cas, l'alimentation, les conditions environnementales, des toxiques et/ou les caractéristiques génétiques de la population élevée peuvent être mises en causes (Lightner & Redman, 1998). Les maladies les plus dommageables pour la filière crevettes ont été et sont encore les maladies à Virus. Elles ont provoqué d'importants dégâts dans les élevages. Sept maladies, toutes à virus, ont été identifiées par l'organisation Internationale des épizooties (OIE) pour les crevettes Pénéides du fait de leur importance. Il s'agit du :

- White spot disease,
- Taura syndrome,
- Yellowhead disease,
- Tetrahedral baculovirus (*Baculovirus penaei*),
- Spherical baculovirus (*Penaeus monodon*-type baculovirus),
- Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis,
- Spawner-isolated mortality virus disease.

Toutefois nous limiterons notre description à titre d'exemple aux deux maladies à virus les plus connues<sup>4</sup> : le White Spot Syndrome Virus (WSSV) et le Taura Syndrome (TS).

---

<sup>3</sup> Les termes de maladie et de syndrome ont plusieurs définitions. Nous définirons la maladie dans la suite de ce document comme toute altération d'un état normal de santé et un syndrome comme un ensemble de signes et de symptômes qui appartiennent à une même entité clinique mais dont les causes peuvent être diverses (Berthe, 1995 ; Lightner et Redman, 1998).

<sup>4</sup> Pour plus d'informations, voir le site de l'OIE à l'adresse suivante <http://www.oie.int/eng/normes/fmanual>



**Le White Spot Syndrome Virus (WSSV)** a été reporté pour la première fois en 1993 au Japon sur *Penaeus japonicus* (Inouy et al., 1994). La maladie s'est par la suite propagée en Asie puis en Amérique. En 1999, son effet a été dévastateur en Amérique centrale et en Amérique du Sud (GAA, 1999a et b). Les symptômes sont des points blancs sur la carapace et un hépatopancréas rouge. La maladie se caractérise par un arrêt de l'alimentation des crevettes puis l'observation de moribondes nageant en surface et sur le bord des bassins. La maladie touche généralement la production après 60 jours à un moment critique pour l'éleveur où il a déjà fortement investi dans l'élevage et où il ne peut pêcher, le poids individuel des crevettes étant insuffisant. Le WSSV a même été observé dans des élevages extensifs de l'Ouest du Bengale, en Inde et au Bangladesh (Rosenberry, 2005). La perte causée par cette maladie entre 1992 et 2001 a été évaluée par Lightner (1993) pour l'Asie dans une fourchette comprise entre 4000 et 6000 millions de US\$. Elle serait pour l'Amérique entre 1999 et 2001 inférieure à 1000 millions de US\$.

**Le Taura syndrome (TS)**, dont l'agent étiologique est le TS virus (TSV), a engendré d'importants épisodes de mortalité dans les élevages du continent Américain (Brock et al., 1995 ; Dixon & Dorado, 1997 ; Hasson et al., 1999 ; Zarin-Herzberg & Ascencio-Valle, 2001). Les mortalités varient entre 40% et 90% du cheptel. Le virus peut se transmettre d'une ferme à l'autre par les fientes des oiseaux de mer consommant les animaux moribonds ou morts dans les fermes atteintes par le TS (Garza et al., 1997). Cette maladie a été reconnue comme telle et observée en 1992 sur *L. vannamei* en Equateur. Elle s'est propagée rapidement sur toute l'Amérique avec le transport des post-larves et des géniteurs (Brock et al., 1995). Elle est aujourd'hui considérée comme enzootique sur toute cette région du monde (OIE, 2006). Sur la saison 1999-2000, une nouvelle souche du virus a émergé dans des élevages de crevettes de *L. stylirostris*, espèce autrefois résistante à ce pathogène, causant des mortalités sur 90% du cheptel (Zarin-Herzberg & Ascencio-Valle, 2001). Ce virus sévirait actuellement en Asie du Sud-Est suite à son introduction lors de l'importation de *L. vannamei* dans la région. Il a été identifié à Taiwan en 1999 sur une population de crevettes à pattes blanches (Yu & Song, 1999). La perte financière est estimée entre 1000 et 2000 millions de US\$ entre l'année de son apparition et 2001 (Lightner, 2003).

**Aucune bactériose** n'a été répertoriée par l'OIE. Comparativement aux maladies à virus, il existe des traitements par antibiothérapie. Le coût financier des maladies bactériennes est donc moins sévère. Toutefois, des bactéries à l'origine de sévères mortalités ont été identifiées partout sur la planète que ce soit en éclosion ou en grossissement (Anderson et al., 1988 ; Nash et al., 1992 ; de la Peña, 1993 ; Song et al., 1993 ; Karunasagar, 1994 ; Mohney et al., 1994 ; Abraham & Manley, 1995 ; Lee et al., 1996 ; Alapide-Tendencia & Dureza, 1997 ; Abraham et al., 1997 ; Lavilla-Pitago & de la Peña, 1998 ; Lavilla-Pitago et al., 1998 ; Moriarty, 1998 ; Jayasree et al., 2000 ; Sung et al., 2001 , 2001b , 2003 ;

Lyle-Fritch et al., 2006 ; Jayasree et al., 2006). Les souches isolées sont souvent des *Vibrio* avec *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus*, *V. vulnificus* (liste non exhaustive) mais pas seulement. D'autres bactéries comme *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp. et *Aeromonas* spp. ont été identifiées. Il est à noter que *V. harveyi* est particulièrement impliqué dans les mortalités en éclosion (Saulnier et al., 2000). L'intensité des maladies dépend de la souche bactérienne, du stade de développement et de l'âge de la crevette et des conditions d'élevage (Jayasree et al., 2006). Dans de nombreux pays, les éleveurs utilisent des antibiotiques comme moyen de lutte contre ce type de maladie en éclosion comme en bassin (Primavera et al., 1993 ; Gräslund & Bengtsson, 2001 ; Le & Munekage, 2004 ; Lyle-Fritch et al., 2006). La situation en est à terme souvent aggravée par l'émergence de souches résistantes (Karunasagar et al., 1994 ; Paéz-Osuna, 2001 ; Tendancia & de la Peña, 2001 ; Holmström et al., 2003 ; Jayasree et al., 2006). Cette utilisation est aujourd'hui particulièrement remise en cause pour les risques qui y sont associés dans les domaines de l'environnement et de la santé humaine. Des interdictions d'importation sont aujourd'hui émises dans les principaux pays consommateurs en cas de détection de résidus d'antibiotiques dans la chair des crevettes. De part son abondance naturelle en milieu marin, son ubiquité, sa capacité de multiplication et d'adaptation à des changements environnementaux dans les écosystèmes bassin et de par l'interdiction grandissante d'utilisation des antibiotiques, les vibrioses devraient devenir une préoccupation majeure pour la filière crevette mondiale.

#### **4. Les vibrioses calédoniennes**

Au cours du développement de la filière, deux maladies sont apparues et ont fortement perturbé les techniques et les schémas de production. La première a été décrite simultanément sur deux sites de production dans la même zone géographique au cours de l'hiver 1993 et a été nommée « Syndrome 93 ». Cette maladie correspond à une vibriose septicémique ; elle s'exprime essentiellement aux intersaisons et apparaît sous forme de brèves flambées épizootiques conduisant à une mortalité massive (Mermoud et al., 1998). Elle a été attribuée à une bactérie *Vibrio penaeicida* (Berthe, 1995 ; Costa et al., 1998 ; Mermoud et al., 1998). L'épizootie s'est très rapidement généralisée à l'ensemble des fermes de grossissement et a conduit à un abandon progressif des élevages de saison froide (mai à septembre). Une seconde pathologie a été observée en décembre 97 sur un site de production. Elle touche les élevages de saison chaude, d'où la terminologie « Syndrome d'été » et a été attribuée à une autre bactérie du même genre : *Vibrio nigripulchritudo* (Goarant et al., 2006a,b). Elle s'est depuis développée dans une seconde ferme, Aigue Marine proche de la première conduisant à un arrêt de la production deux ans seulement après sa première mise en eau. Une troisième ferme a été récemment

déclarée comme touchée par cette épizootie. D'autres fermes subissent actuellement des mortalités associées à *V. nigripulchritudo* sans que l'on puisse affirmer s'il s'agit ou non du syndrome d'été.

#### **4.1. Le syndrome 93**

Le syndrome 93 a été observé pour la première fois fin mai 1993 pendant la période de transition entre la saison chaude et la saison froide. Cette année se caractérisait par une période de forte sécheresse qui a débuté fin 1992 due au phénomène climatique « El Niño » (Goarant et al., 1996 ; Mermoud et al., 1998). L'apparition des premières crevettes mortes était concomitante à des conditions « anormales » de milieu avec des températures froides et des salinités élevées (Goarant et al., 1996). Aujourd'hui, les chutes de température dans les bassins sont décrites comme un facteur déterminant pour expliquer l'émergence de la maladie. A l'extérieur du lagon, elles sont associées à la présence de vents alizés soutenus pendant plusieurs jours (Données IRD). L'influence de ces vents sur l'émergence du syndrome n'a aujourd'hui pas ou peu prêté attention. Goarant (2000) suggère toutefois que la faible profondeur des bassins, ainsi que leur exposition aux vents, pourraient être considérées comme des facteurs de risque du syndrome 93.

Ce syndrome touche l'ensemble des fermes calédoniennes aussi bien les fermes intensives que semi-intensives. Les mortalités apparaissent dans des bassins neufs et dans des élevages avec une densité inférieure à 1 crevette au m<sup>2</sup> (Mermoud et al., 1998). Toutefois, les hautes biomasses semblent avoir un impact sur le développement de la maladie (Mermoud et al., 1998). Sur le plan historique, son apparition est à relier à une évolution du système d'élevage et particulièrement à une augmentation des densités à l'ensemencement, que ce soit pour les bassins semi-intensifs ou intensifs, et à une diminution de la durée des assecs (Mermoud et al., 1998). Les pics de mortalités peuvent apparaître simultanément sur plusieurs fermes. En revanche, au sein d'une même exploitation, deux bassins adjacents peuvent ne pas avoir les mêmes mortalités (quelques mortes sur l'un, plusieurs centaines sur l'autre) (Mermoud et al., 1998).

Initialement, deux pathogènes ont été décelés dans des épisodes de mortalité de type syndrome 93 : *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*. Ces deux pathogènes ont révélé une haute virulence (Saulnier et al., 1999). Toutefois, *V. penaeicida* est aujourd'hui considéré comme l'agent étiologique majeur du syndrome 93 (Saulnier et al., 2000a). Il existe des porteurs sains à savoir la présence des pathogènes dans l'hémolymphe des crevettes en dehors de tout contexte pathologique (Goarant et al., 2004). Il a été montré que le syndrome 93 est une pathologie contagieuse véhiculée par l'eau et installée de façon enzootique sur les sites où se trouve le pathogène (Goarant et al., 1999). La présence relativement fréquente de *V. penaeicida* dans l'eau de pompage des fermes fait de ce compartiment une voie

d'entrée du pathogène dans l'élevage (Goarant, 2000). Des challenges effectués par immersion de crevettes saines dans de l'eau contenant des souches de *V. penaeicida* isolées de crevettes moribondes issues de bassins d'élevage déclenche des mortalités (Saulnier et al., 2000). Ces auteurs démontrent ainsi la relation entre la maladie et la population du pathogène dans l'eau. Il en est de même pour *V. nigripulchritudo* (Goarant, 2003). Pour une DL<sub>50</sub> à J5, les challenges nécessitent une concentration de 10<sup>4</sup> CFU/ml pour *V. penaeicida* (Saulnier et al., 2000b). Ces résultats démontrent un effet dose « pathogène » dans le cadre d'infections expérimentales. Cet effet dose pourrait également exister dans le cadre du « syndrome 1993 ». En effet, les concentrations utilisées pourraient être naturellement rencontrées en bassin d'élevage (Saulnier et al., 2000b). La température a un effet direct dans les relations entre l'hôte et son pathogène. En effet, Goarant et al. (2000) ont montré que des exotoxines sont émises par *V. penaeicida* à 20°C mais pas à 30°C, température de croissance optimale chez cette bactérie. Les *Vibrio* impliqués ont un pouvoir pathogène très élevé mais dont l'épidémiologie correspond à celle d'agents opportunistes comme le démontre la très grande part jouée par les conditions environnementales dans le déclenchement de la maladie. Goarant (2000) qualifie le syndrome 93 de complexe pathologique d'élevage intensif. En effet, l'auteur signale plus généralement que l'augmentation de la densité d'une espèce dans un écosystème donné se traduit non seulement par une augmentation conjointe de la densité de ses pathogènes mais aussi du pouvoir pathogène de ces agents.

En période de mortalité, les crevettes atteintes sont affaiblies, ont un comportement anormal. Les animaux présumés sains montrent une très faible résistance en cas de manipulation par exemple (Berthe et al., 1995). Mermoud et al. (1998) observent, au cours d'un suivi de trois crises majeures, qu'une grande partie des animaux malades étaient en cours de mue. Il a été montré que des crevettes en stade de prémue sont plus sensibles à une infection expérimentale à *V. penaeicida* que des animaux en intermue (Le Moullac et al., 1997). Une réduction de la température conduit à une diminution de la capacité osmorégulatrice pour des animaux quelle que soit la salinité. Des animaux de 7-10 g sont toutefois beaucoup moins sensibles à des baisses de températures que des animaux de 25 g (Lemaire et al., 2002). Lemoullac et al. (1998) ont montré qu'un stress, comme une hypoxie de 24 heures, augmente la sensibilité de *L. stylirostris* à *V. penaeicida*. Les animaux sont particulièrement fragiles en hiver et aux intersaisons (Berthe, 1995). Un métabolisme oxydatif de repos extrêmement élevé entraînant une capacité d'adaptation faible à des températures basses expliquerait en partie cette fragilité (Wabete, 2005 ; Wabete et al., 2006). A côté des modifications de la prise alimentaire et du transit intestinal, les périodes hivernales sont aussi caractérisées par des problèmes de balance hydrominérale (Chim et al., 2004).

#### **4.2. Le syndrome d'été**

La première ferme affectée par cette maladie est située sur la presqu'île de Bouraké à environ 90 kilomètres au Nord de Nouméa. Elle était constituée de 10 bassins pour une superficie totale de 32 hectares. Le type d'élevage pratiqué était intensif (bassins de taille réduite avec aération). C'était aussi la première ferme intensive construite en Nouvelle-Calédonie.

La maladie est apparue pour la première fois en décembre 1997 sur deux bassins avec en final des survies catastrophiques. Les élevages suivants ont confirmé ces résultats avec des survies finales équivalentes à celles observées pour le syndrome 93, de l'ordre de 25% alors qu'elles devaient être supérieures ou égales à 60%. Cette maladie s'exprime après environ 50 jours d'élevage et apparaît sous forme de brèves flambées épizootiques conduisant à une forte mortalité. Elle peut prendre par la suite une forme chronique. Des modifications du protocole habituel d'élevage ont été apportées par l'éleveur au cours des différentes saisons chaudes 2000-2001 et 2001-2002 sans pour autant diminuer l'impact de la maladie (forte aération, utilisation de probiotiques, fonds de bassin curés) (Goxe, 2001). Seule une antibiothérapie préventive avec de l'oxytétracycline a permis de diminuer les mortalités (Goarant et al., 2003).

Cette maladie correspond à une vibriose septicémique due à *V. nigripulchritudo* (Goarant et al., 2006a,b). Elle est toutefois considérée comme une pathologie opportuniste, dans laquelle les bactéries de l'environnement voire de la flore saprophyte de la crevette expriment leur pouvoir pathogène à l'occasion d'une altération de l'état physiologique ou immunitaire de l'animal (Goarant, 2003). Sur la saison 2000-2001, le pathogène a été détecté dans le sédiment en début de mortalités à des concentrations de l'ordre de  $10^3$  à  $10^4$  CFU/ml d'eau interstitielle (Goarant et al., 2003). Ce résultat a été confirmé en 2001-2002. Le pathogène a été retrouvé dans la colonne d'eau des bassins à des concentrations comprises entre  $2.10^2$  et  $2.10^3$  CFU/ml (Lemonnier et al., 2002). En période de mortalité, il est présent dans la quasi-totalité des échantillons. Les concentrations mesurées dans la colonne d'eau sont proches des concentrations utilisées pour les challenges bactériens en pathologie expérimentale (Saulnier et al., 2000).

### **5. Le programme DESANS**

Il n'est aujourd'hui pas possible d'expliquer l'apparition des mortalités estivales et hivernales par l'action d'un seul facteur. Les mortalités résultent de conditions environnementales particulières découlant des pratiques culturelles, de la saison et des conditions météorologiques, de la présence et de

la virulence de pathogènes, ainsi que de l'état physiologique de la crevette. L'hypothèse de travail est que les mortalités résultent des interactions entre les trois compartiments : l'environnement, l'hôte et les pathogènes (Snieszko, 1973) (fig. 4).

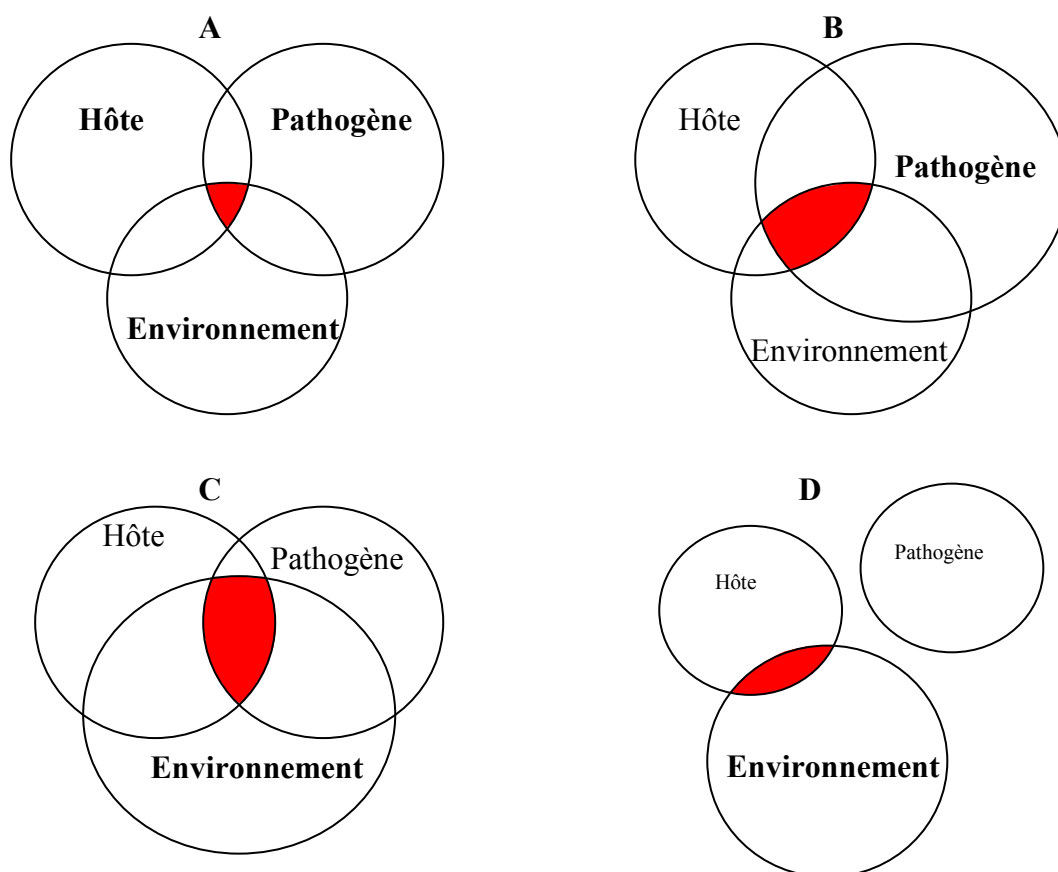


Figure 4 : Schémas représentant l'interaction complexe entre l'hôte, son environnement et le pathogène (Adaptés de Snieszko, 1973 et de Lightner & Redman, 1998). A- l'intensité de la maladie augmente proportionnellement à la circonférence de chaque cercle (augmentation du nombre de pathogènes, de leur virulence, perturbation de l'environnement, stress des animaux en élevage...); B- Illustre une maladie avec un pathogène très virulent (Exemple de certains virus) C- Illustre un environnement fortement dégradé ; D- Illustre une maladie sans intervention d'un pathogène (Toxine, produit chimique...).

Ainsi, la présence d'un pathogène ne signifie pour autant le déclenchement d'une épizootie. Certaines maladies ne se déclenchent que lorsque l'environnement est défavorable (forte demande biologique en oxygène combinée à des concentrations en oxygène faibles par exemple) et avec des densités fortes de la population élevée (Lightner & Redman, 1998). D'autres se déclenchent pour certaines espèces de pénéides et pas pour d'autres. Par exemple, le TSV engendrait de fortes mortalités pour la crevette à pattes blanches mais pas ou peu pour la crevette bleue (Brock et al., 1995).

Pour qu'une maladie infectieuse se déclare, certains critères décrits par Olivier (2002) sont essentiels :

- Présence du pathogène dans l'hôte et dans l'environnement,
- Présence d'un hôte susceptible,
- Viabilité en nombre et en longévité du pathogène dans l'environnement,
- Un mécanisme d'infection viable.

Les multiples paramètres en jeu et la complexité des processus étudiés rendent nécessaire la juxtaposition de compétences complémentaires afin de progresser dans la connaissance des phénomènes observés, et cerner les interactions Milieu- Hôte-Pathogène. Un programme de recherche multidisciplinaire, multi-labo a été élaboré afin de répondre à la problématique "mortalité des crevettes en élevage" : le projet DESANS (DÉfi SANté Stylirostris). L'ambition de ce programme était de fédérer les compétences existantes en Nouvelle-Calédonie, celles des laboratoires thématiques de l'IFREMER ainsi que les collaborations d'autres instituts de recherche (Harache & Herbland, 2004).

Ce programme a été conçu à l'image du programme MOREST (Samain et al., 2004) autour de cinq actions dépendantes les unes des autres et complémentaires dans la durée. Des outils devaient être mis au point car nécessaires pour la conduite des futures recherches (WP1). L'approche générale consistait à mieux documenter les conditions accompagnant la dynamique des mortalités observées en cours d'élevage (WP2) pour émettre des hypothèses qui devaient être testées par la suite par des expérimentations (WP3). Parallèlement, des solutions pour sortir de la crise ont été recherchées.

- WP1 : Mise au point et optimisation d'outils et méthodes
- WP2 : Caractérisation du phénomène *in situ*
- WP3 : Validation expérimentale des hypothèses
- WP4 : Etude des solutions de sortie de crise
- WP 5 : Valorisation des résultats

Les différents facteurs au niveau de l'hôte, du pathogène et de l'environnement doivent être analysés afin de déterminer la ou les cause(s) de la maladie (Lightner & Redman, 1998).

Cette thèse fait partie intégrante du programme de recherche DESANS développé au Laboratoire Aquaculture de Nouvelle-Calédonie pour la période 2002-2006.

## 6. Objectifs de recherche et présentation du manuscrit

Les quelques études préalables réalisées sur les syndromes ont montré un environnement qui se caractérise par de fortes variations, constituant de probables sources de stress pour la crevette. En hiver, les mortalités sont généralement associées à un effondrement brutal des températures et à de fortes variations des blooms phytoplanctoniques (Lemonnier et al., 2003 ; Lefèvre et al., 2004). Lors des mois d'été, la montée des températures, associée à un enrichissement du milieu en matière organique du fait des charges croissantes en animaux, est susceptible de créer des conditions favorables à la prolifération bactérienne et à un stress des animaux (Lemonnier et al., 2002). Toutefois, ces premières observations sont encore trop succinctes pour définir les conditions environnementales associées à l'expression des maladies. Les objectifs du présent travail sont donc de mieux définir le milieu d'élevage, sa gestion et de proposer si possible une solution environnementale adaptée à une sortie de crise.

Dans le premier chapitre, on tentera de décrire l'écosystème bassin en absence de maladie. Nous analyserons dans le chapitre 2 l'évolution des pratiques zootechniques des éleveurs, les conditions zootechniques et environnementales associées à l'apparition des maladies, principalement à l'aide des données historiques fournies par les éleveurs. Dans les deux derniers chapitres, nous présenterons les résultats issus du WP2 - Caractérisation du phénomène *in situ* - du programme DESANS pour la partie environnement. Le chapitre 3 exposera les données de la colonne d'eau pour les deux maladies et le chapitre 4 les données sur le sédiment. En conclusion, nous tenterons d'établir un scénario environnemental conduisant à l'expression des deux vibrioses. Les publications associées à ce travail sont présentées dans les annexes.



# Chapitre 1 : L'écosystème bassin – Synthèse des connaissances

## 1. Généralités

### 1.1. Un agrosystème

Un bassin d'élevage en Nouvelle-Calédonie peut être considéré comme plus proche d'un « agrosystème » que d'un écosystème naturel. Ces systèmes sont considérés comme fortement déstructurés par rapport aux systèmes naturels. L'objectif de l'aquaculteur est à travers une injection continue d'énergie et de matière (eau, aliment, engrais, aération) d'enrayer toute tentative du système biologique pour retrouver sa diversité spécifique et de contrôler la démographie de l'espèce unique (Frontier & Pichod-Viale, 1998). L'écosystème qui en résulte est peu diversifié et montre un réseau d'interactions simplifiées dont la résilience tient à la robustesse des espèces elles-mêmes (Ecosystème qui sélectionne les espèces « r »). Cet « agrosystème » est d'autant plus proche d'un écosystème naturel qu'il est de type extensif, c'est-à-dire avec un apport nul à faible en énergie et en matière par l'action de l'aquaculteur. A l'inverse, un élevage de type intensif nécessite une injection continue pour maintenir le peuplement cultivé dans son état quasi-mono spécifique. Ce type d'élevage nécessite en outre de limiter l'influence du biotope (facteurs édaphiques supprimés, facteurs hydroclimatiques contrôlés au maximum). Les élevages réalisés en Nouvelle-Calédonie sont intermédiaires entre les deux précédents avec un apport en matière et en énergie relativement important.

### 1.2. Dynamique de la matière organique

Au cours du premier mois de grossissement, l'apport en carbone, en azote et en phosphore dans les bassins est limité que ce soit par les post-larves, l'aliment et les fertilisants. Il devient par la suite beaucoup plus conséquent (fig. 1.1). L'aliment est la source d'apport la plus importante, l'apport en azote et en phosphore par l'eau de renouvellement pouvant être considéré comme faible sur le plan quantitatif. La proportion de l'aliment assimilée par les crevettes tourne autour de 20% (Funge-Smith & Briggs, 1998 ; Martin et al., 1998 ; Jackson et al., 2003 ; Lemonnier et al., 2003 ; Lemonnier & Faninoz, 2006). Les déchets qui en résultent se retrouvent sous forme particulaire ou dissoute, se transforment et/ou sédimentent sur le fond du bassin et/ou sont exportés hors du système par les effluents. Le fond des bassins est perturbé par cet apport organique, par l'activité biologique qui y règne et par les déplacements des masses d'eau. Il se forme des dépôts plus ou moins importants et la matière organique s'y accumule au cours des cycles d'élevage (Ayud et al., 1993). En effet, la tendance

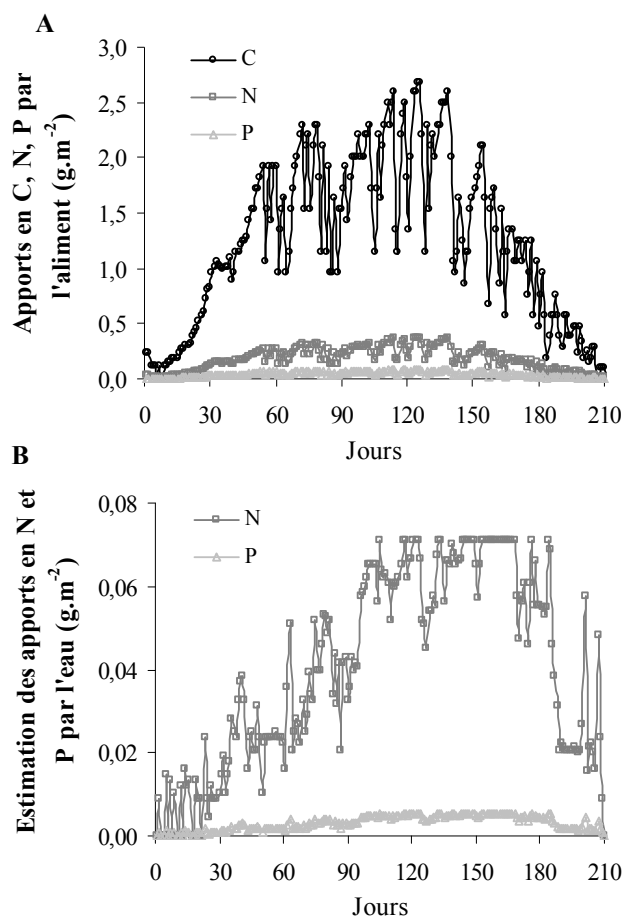


Figure 1.1 : Exemples d'apports journaliers en carbone C, en azote N et en phosphore P par l'aliment (A) et en N et P par l'eau de renouvellement (B) sur une saison d'élevage semi-intensif en 1999. Pour les calculs, la concentration en N total et en P total a été estimée pour l'eau de renouvellement respectivement à 15 et 0,5  $\mu\text{M}$ .

générale de l'ensemble du réseau trophique du bassin est à l'accumulation de matériel organique à l'interface eau-sédiment (Manaud, 1987).

Lorsque, dans les conditions extrêmes d'accumulation, les concentrations en matière organique deviennent trop importantes dans les sols, les processus de dégradation peuvent affecter la viabilité économique du site d'exploitation par relargage de composés toxiques pour les animaux (Avnimelech & Ritvo, 2003).

L'objectif de l'éleveur est de maintenir une eau de qualité, essentielle dans la gestion de sa ferme pour l'obtention d'une croissance et d'une survie optimale (Burford, 1997). Compte tenu de la faible profondeur des bassins ( $\sim 1\text{m}$ ), il s'agit donc pour lui de maîtriser le degré d'enrichissement de son milieu pour éviter les crises d'anoxies préjudiciables à son élevage.

### 1.3. D'un état oligotrophe à eutrophe à hypereutrophe

L'eutrophisation est une forme singulière mais naturelle de pollution de certains écosystèmes aquatiques qui se produit lorsque le milieu reçoit trop de matières nutritives assimilables par les algues et que celles-ci prolifèrent. Les principaux nutriments à l'origine de ce phénomène sont le phosphore (contenu dans les phosphates) et l'azote (contenu dans l'ammonium, les nitrates, les nitrites et l'urée)<sup>5</sup>. Actuellement le terme eutrophisation a évolué pour désigner non plus la progression de l'enrichissement d'un milieu, mais l'état enrichi lui-même, ceci jusqu'à un point tel qu'il en résulte des nuisances (Ménésguen et al., 2001). La définition donnée par l'OSPAR<sup>6</sup> (Tett et al., 2007) similaire à celle donnée par la directive européenne « Urban Waste Water Treatment » est la suivante :

<sup>5</sup> Définition donnée par le CNRS - <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/ecosys/eutrophisat.html>

<sup>6</sup> Commission pour la protection du milieu marin de l'Atlantique Nord-Est - <http://www.ospar.org>

« Eutrophication » means the enrichment of water by nutrients causing an accelerated growth of algae and higher forms of plant life to produce an undesirable disturbance to the balance of organisms present in the water to the quality of water concerned...

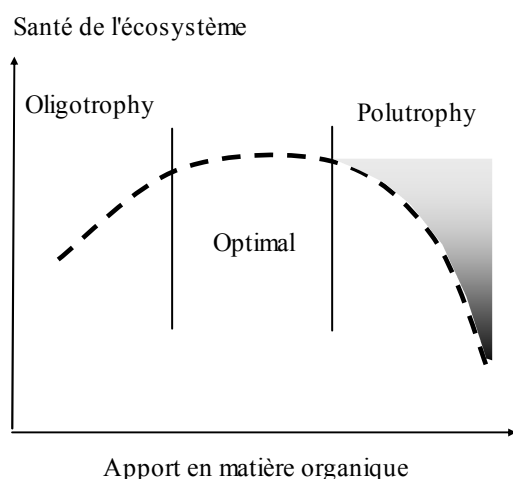


Figure 1.2. : Evolution de la santé d'un écosystème en fonction de la quantité de matière organique apportée (Tett et al., 2007).

Il existe une multitude de réponses biogéochimiques et écologiques (directes ou indirectes) à l'enrichissement organique d'origine anthropique d'un système (Cloern, 2001) et certains systèmes sont moins sensibles que d'autres à cet enrichissement. L'eutrophisation se déclare préférentiellement dans les zones à circulation d'eau réduite et/ou peu renouvelées (confinement des masses d'eau), dans un contexte d'éclairement suffisant de la colonne d'eau et avec des apports en nutriment en excès par rapport à la capacité d'évacuation ou de dilution du site (Ménèsguen et al., 2001). Les bassins sont favorables à cette forme de pollution à tel point que Burford & Longmore (2001) définissent l'écosystème des bassins intensifs en Australie comme hyper-eutrophe. Ils sont soumis à un apport important

en azote et en phosphore, avec une production conséquente de déchets. Les composés azotés et phosphorés pourraient avoir un temps de résidence suffisant pour leur permettent d'effectuer plusieurs cycles «production primaire/reminéralisation» avant d'être exportés vers les eaux du lagon. Enfin ils sont soumis à un éclairage très important de par la position géographique de la Nouvelle-Calédonie, fortement ensoleillée (Pacifique Sud, entre 20°S et 23°S). Les crises anoxiques sont un exemple de nuisance observée dans les bassins. Elles sont liées à un apport organique trop important (fig. 1.2). Dans le cas des lagunes méditerranéennes, ce processus a été bien décrit par plusieurs auteurs (Caumette, 1992 ; Marty et al., 1990 ; Roden & Tuttle, 1992 ; Souchu et al., 1998). Ce sont les malaïgues. La sensibilité à des sur-enrichissements n'est toutefois pas immuable et peut changer en réponse à des facteurs environnementaux (Howarth et al., 2000). La gestion de l'eutrophisation de l'écosystème bassin nécessite donc de distinguer les impacts liés à l'éleveur, des impacts climatiques sur la structure et le fonctionnement de l'écosystème. Dans le cas de l'aquaculture en bassin de terre, la qualité du site est aussi une autre variable qui peut interférer. Elle se caractérise par la qualité des eaux de pompage et des sols sur lesquels est construit la ferme.

#### 1.4. Le climat

Très isolée géographiquement et soumise le plus souvent au courant des alizés, bien que située entièrement dans la zone intertropicale, la Nouvelle-Calédonie bénéficie d'un climat relativement

tempéré. On y distingue quatre saisons qui sont déterminées par la variation annuelle de la ceinture anticyclonique subtropicale et des basses pressions intertropicales :

- *décembre à mars* : c'est la saison chaude, dite saison des cyclones avec des pluies et des vents forts,
- *avril et mai* : c'est une saison de transition. La pluviosité diminue et les températures décroissent,
- *juin à août* : c'est la saison fraîche. La température de l'air passe par son minimum annuel,
- *septembre à novembre* : c'est une saison de transition. L'alizé souffle en quasi permanence, la saison est sèche.

### 1.5. La qualité des eaux côtières

Les eaux du lagon sont dites oligotrophes avec des concentrations en chlorophylle a comprises entre 0,2 et 0,4  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (Bujan, 2000). Ces valeurs peuvent être légèrement plus élevées dans des zones plus abritées et supérieures à 1  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (Ténório et al., 2005 ; Jacquet, 2005).

### 1.6. Les facteurs édaphiques

Les bassins sont construits sur des zones nues, sur-salées appelées « tannes » situées en arrière de mangrove. Ce sont des sols de texture fine avec une forte saturation en sodium et une hydromorphie permanente. S'ils proviennent d'un matériel géologique ultrabasique, ces sols ont une teneur élevée en magnésium. De texture argilo-limoneuse, ils présentent un profil peu différencié. Ils sont faiblement acides et saturés en bases échangeables. Ces sols sont périodiquement inondés par l'eau de mer et reçoivent l'apport sédimentaire des grandes crues (Sautter et al., 1981). Le pourcentage d'argile et le pourcentage de perte au feu augmentent des zones topographiquement les plus élevées vers les zones les plus basses situées au niveau des mangroves (fig. 1.3).

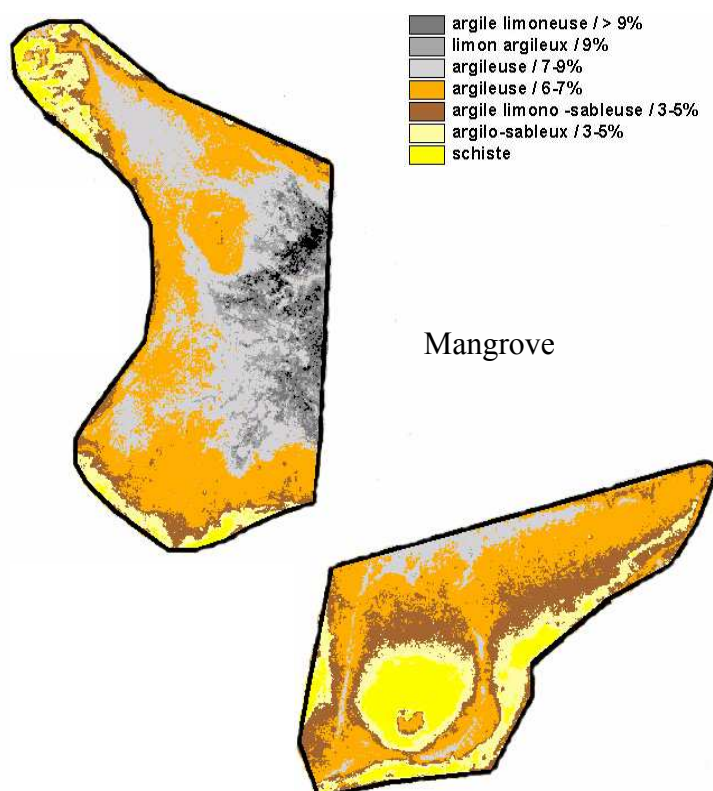


Figure 1.3 : Cartographie établie à partir de la signature spectrale d'une photographie aérienne pour le site FAO (classification non supervisée). Les contours représentent les digues des bassins. Les données de terrain ont permis d'associer chaque signature à un type de sol défini par sa texture et sa perte au feu à 550°C (%). Les bassins ont des surfaces respectives de 7,5 et de 10,5 ha.

### 1.7. L'énergie lumineuse

La Calédonie située entre 20° et 22°30 de latitude Sud est soumise à une irradiance moyenne journalière importante de 1798 J.cm<sup>-2</sup> (Données de 1997-1998, Bujan, 2000). La quantité journalière d'énergie reçue dépend toutefois de la saison. La moyenne mensuelle journalière varie entre 950 et 2700 J.cm<sup>-2</sup> en fonction des années. Cette gamme a été calculée à partir d'une série de données de 14

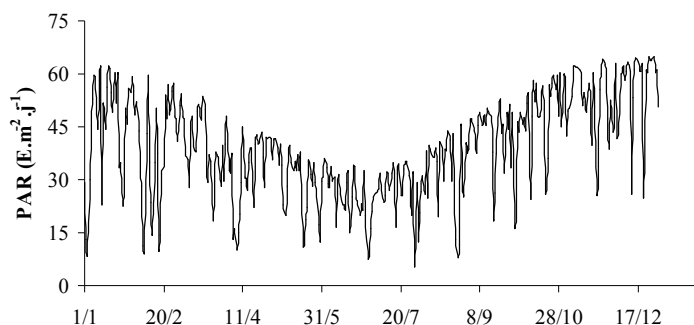


Figure 1.4 : Evolution du PAR sur le site de Nessadiou (165°28'8E ; 21°37'2S) pour l'année 2001 (calculée à partir des données Météo France et de l'équation décrite par Jacquet (2005)).

d'établir la relation suivante : 1 E.m<sup>2</sup>.j<sup>-1</sup> (PAR) = 0,0212 J.cm<sup>-2</sup>.j<sup>-1</sup> (irradiance totale), avec un r = 0,998. Appliquée aux relevés du site de Nessadiou sur la période 1990-2002, la valeur moyenne pour

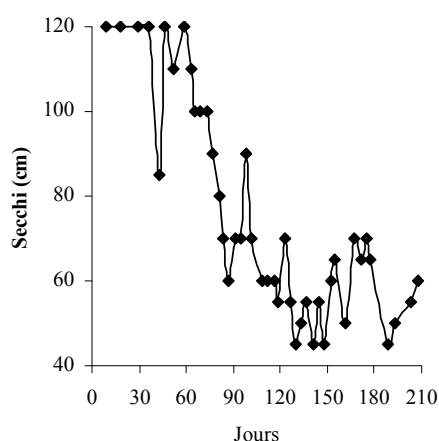


Figure 1.5 : Exemple d'évolution de la valeur du Secchi au cours d'un élevage intensif (date d'ensemencement : nov. 91 ; code d'élevage SF05).

années (1990-2003) relevées sur le site de Nessadiou par Météo France. La quantité reçue peut limiter la photosynthèse surtout dans des milieux aussi turbides que les bassins aquacoles. La photosynthèse s'opère pour des longueurs d'ondes comprises entre 400 et 700 µm. Ce sont les radiations photosynthétiques actives (PAR). La comparaison établie par Jacquet (2005) entre les valeurs de PAR mesurées avec un capteur plan et d'irradiance totale fournies par Météo France a permis

le PAR est ainsi estimée à 38±14 E.m<sup>2</sup>.j<sup>-1</sup> avec un minimum de 2 et un maximum de 66 E.m<sup>2</sup>.j<sup>-1</sup> (N = 4254). La figure 1.4 présente l'évolution du PAR sur ce même site pour l'année 2001 où l'on note de fortes variations d'un jour à l'autre quelle que soit la saison.

Dans le cadre des campagnes océanographiques, on sait empiriquement que le disque de Secchi disparaît à une profondeur z(S) ne recevant plus que 18 à 20% de la lumière de surface. La valeur Z(1%) peut être calculée aisément : Z(1%) = 2,86 x z(S) (Frontier & Pichod-Viale, 1998). Dans les bassins aquacoles, Diana et al. (1997) estiment que la profondeur de la zone photique correspond approximativement à deux fois la valeur du Secchi. En Nouvelle-Calédonie, les valeurs de cette

mesure varient, en relation avec la durée de l'élevage, de transparent (le fond est visible) à environ 40 cm (fig. 1.5). Elle peut atteindre 20 cm. En utilisant la correspondance entre profondeur de la zone photique et Secchi établie par Diana et al. (1997), l'épaisseur de la zone euphotique pourrait être alors d'environ 50 cm à certaines périodes de l'élevage. Dans ce cas, il est possible que la production primaire ne puisse s'effectuer sur toute la colonne d'eau comme le suggère Burford (1997).

Le Secchi peut être dans certaines conditions un indicateur de l'abondance en phytoplancton dans les bassins (Boyd, 1990). Toutefois, la qualité de cette relation dépend de la teneur en matière minérale dans la colonne d'eau et est donc généralement peu fiable pour des comparaisons entre sites de production (Teichert-Coddington et al., 1992) et même parfois pour des comparaisons temporelles au sein d'un même bassin (Diana et al., 1997). La diminution du Secchi en fonction de la durée de l'élevage pourrait être en partie le reflet d'une augmentation de la remise en suspension des sédiments par bioturbation des crevettes. Ritvo et al. (1997) ont déjà montré une relation significative entre la taille des animaux et la turbidité en conditions expérimentales.

### 1.8. La température

Du fait de son climat relativement tempéré, les variations de température de l'eau dans les bassins d'élevage sont marquées. Elles fluctuent entre +18 et +34°C en fonction de la saison, de l'heure dans la journée et des conditions climatiques (fig. 1.6).

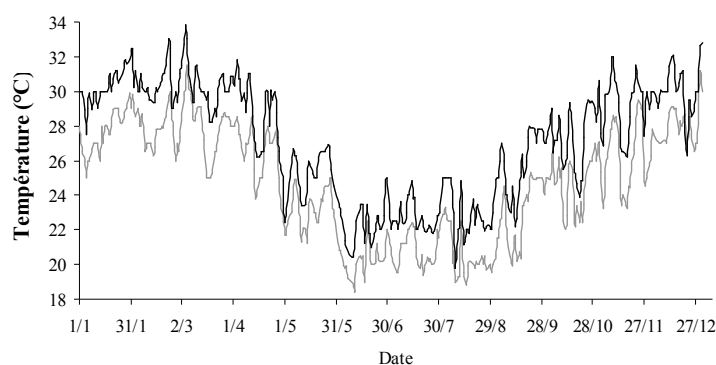


Figure 1.6 : Evolution des températures journalières minimales et maximales (6h00 et 15h00) dans un bassin d'élevage de l'IFREMER en 1995. La mesure est effectuée à environ 50 cm de la surface en sortie de bassin.

L'amplitude de variation journalière en saison chaude comme en saison fraîche est d'environ 7 à 8°C. L'amplitude journalière annuelle sur la période 1995-2004 était en moyenne de  $2,4 \pm 1,2^\circ\text{C}$ . Les minima et maxima de cette amplitude sont respectivement de  $-2^\circ\text{C}$  et de  $+8,1^\circ\text{C}$ . En plus de l'effet saisonnier, une stratification surface – fond peut apparaître dans ces milieux peu profonds. La figure 1.7 compare l'évolution de la température sur deux jours entre la surface et le fond pour deux bassins à deux saisons. Dans le premier cas (fig. 1.7A), on note une très légère stratification le matin expliquée par le réchauffement de la couche de surface liée à l'action des infrarouges. Ils ont la

caractéristique d'être absorbés rapidement dans la colonne d'eau et donc de perdre leur effet calorifique. Elle disparaît dans l'après midi avec l'arrivée des alizés. Dans le second cas (fig. 1.7B), la température décroît progressivement sur 48 heures. Elle est généralement plus basse en surface qu'au fond. Les valeurs passent de 25,5°C à 22°C soit une perte de 3,5°C en 48 heures. Une thermocline a déjà été observée par temps calme lorsque les alizés faiblissent ou si elle est associée à une stratification haline à la suite de pluies abondantes (cyclones et dépressions tropicales).

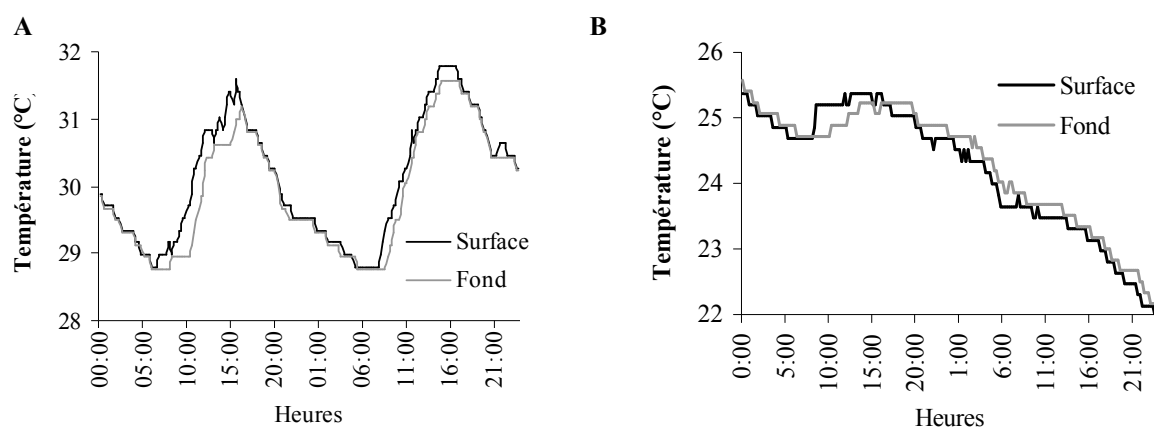


Figure 1.7 : Température de l'eau de deux bassins en surface et au fond sur deux jours (A) le 3 et le 4/01/2003 (ferme Pénéide de Ouano) et (B) le 8 et le 9/06/2003 (Bassin H de l'IFREMER) (pas de temps entre 2 mesures de 15 min.)

Les variations thermiques observées dans les bassins ont une influence sur l'écosystème. Elles agissent aussi bien sur les espèces individuelles que sur l'écosystème entier par modification de la composition spécifique et modification des rapports quantitatifs par espèce (Frontier & Pichod-Viale, 1998). En règle générale, la rapidité des processus biologiques augmente avec les températures. Au cours des six mois que dure un élevage, les animaux élevés vont devoir s'adapter à ces fluctuations thermiques bien marquées. Par exemple, une diminution de la température de 28 à 17°C induit une baisse de la capacité osmorégulatrice des animaux (Lemaire et al., 2002), paramètre considéré comme un indicateur de stress (Lignot et al., 2000).

1.9. La salinité

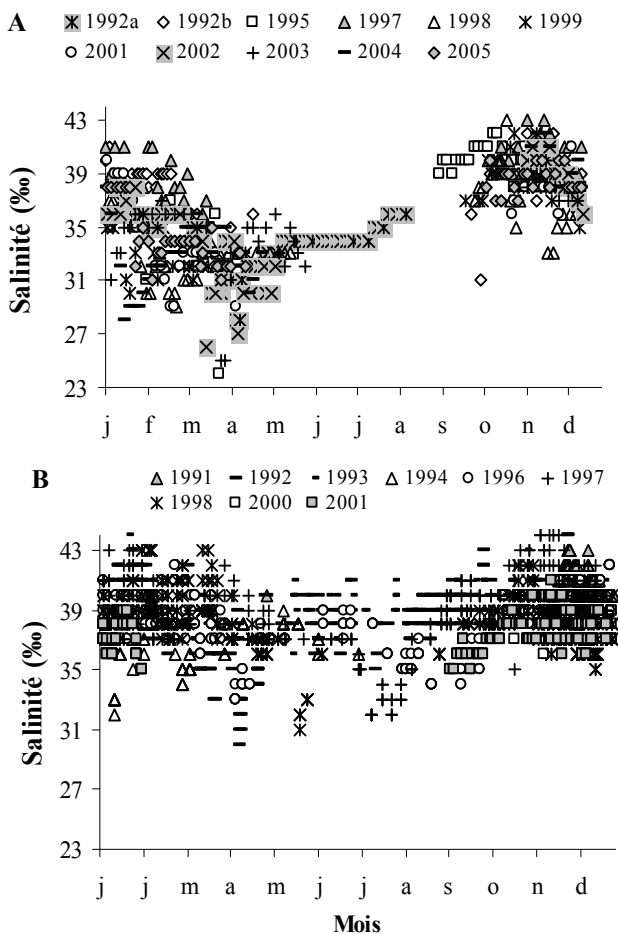


Figure 1.8 : Evolution de la salinité sur deux fermes, (A) la première est située en fond de baie sous l'influence d'un bassin versant important (N = 572), (B) la seconde est proche de la barrière de corail sous influence plutôt océanique (N = 2231).

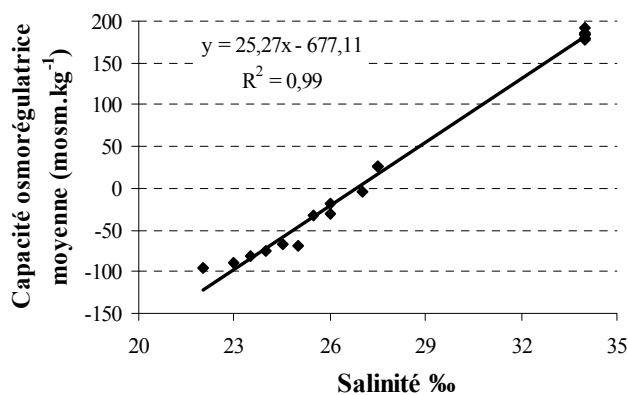


Figure 1.9 : Capacité osmorégulatrice moyenne des animaux dans 6 bassins mesurée à 9, 13 et 17g en relation avec la salinité du milieu.

Les aquaculteurs utilisent pour la mesure de la salinité un réfractomètre dont la précision est de 1‰ (Aminot et Kérouel, 2004). La sensibilité de la mesure est donc peu importante mais *a priori* suffisante pour le suivi zootechnique des élevages. La salinité varie dans les bassins en fonction de la saison et du site d'élevage (fig. 1.8). Les valeurs sont plus faibles entre février et juin période cyclonique (saison des pluies) et varient entre 24 et 44‰ dans les bassins d'élevage. La gamme semble plus resserrée sur la ferme sous influence océanique. Des valeurs plus extrêmes ont été observées sur d'autres fermes. En aquaculture, la survie, la croissance, l'indice de conversion, et la reproduction sont influencés par la salinité (Stickney, 1991). L'espèce *Litopenaeus stylirostris* est hyper-hypo-osmorégulatrice c'est-à-dire qu'elle est capable de s'adapter à une gamme élevée de salinité. Toutefois, une augmentation moyenne de la capacité osmorégulatrice (CO) et de sa variabilité et donc du stress (Lignot et al., 2000) a été montrée avec une baisse de la salinité dans la gamme 35 à 2‰ (Chim et al., 2003). Les animaux présentent aussi un stress plus aigu à la suite d'une baisse de température lorsque la salinité est faible (19 ‰) ou élevée (43 ‰) comparativement à une salinité de 26‰. Cette dernière valeur correspond au point iso-osmotique (Lemaire et al., 2002). La CO moyenne des animaux dans leur milieu d'élevage est une fonction linéaire de la salinité (fig. 1.9).



### 1.10. Le dioxyde de carbone, l'alcalinité et le pH

Les relations entre alcalinité totale, dioxyde de carbone et pH sont bien connues en aquaculture (Boyd, 1990). L'alcalinité totale est la mesure des différents composés alcalins dissous dans l'eau. Ce sont les carbonates, les bicarbonates, les hydroxydes, les phosphates, les silicates et certains composés organiques acides (Boyd, 1990). L'alcalinité totale de l'eau de mer est comprise entre 2,1 et 2,5 meq.l<sup>-1</sup>. Son évolution dans les bassins et dans l'eau de pompage a été mesurée récemment (Herbland, com. pers.). Les valeurs variaient entre 2,7 et 2,9 meq.l<sup>-1</sup> dans des bassins et entre 2,3 et 2,5 meq.l<sup>-1</sup> dans l'eau du lagon pour des pH compris entre 8,2 et 8,6. La concentration en CO<sub>2</sub> pourrait être limitante pour la production primaire à certaines périodes de l'élevage (Herbland, com. pers.).

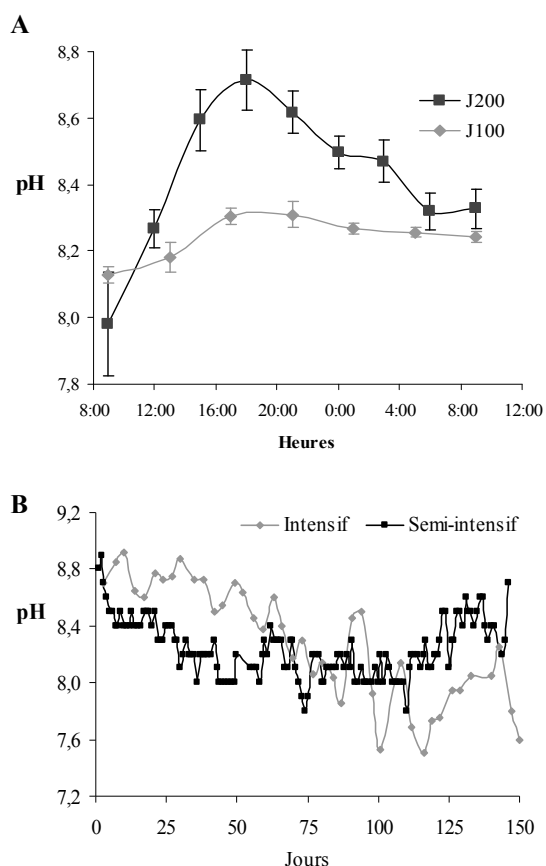


Figure 1.10 : (A) Evolution moyenne du pH sur 24 heures dans 3 bassins semi-intensifs après 100 et 200 jours d'élevage (IFREMER - 1995) et (B) dans deux bassins de deux fermes de production (saison 2004-2005).

À l'image de l'oxygène, le pH fluctue dans la journée en fonction de la production photosynthétique et de la respiration du milieu. Le pH de l'eau de mer, voisin de 8,2 est principalement fixé par la présence des carbonates, CO<sub>2</sub>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Il peut varier d'une unité pH dans la journée. Il baisse généralement avec le nombre de jours d'élevage pour atteindre des valeurs proches de 7,5 (fig. 1.10). Cette tendance a été observée à de nombreuses reprises dans le cadre de suivis réalisés à l'IFREMER-NC.

### 1.11. L'oxygène dissous

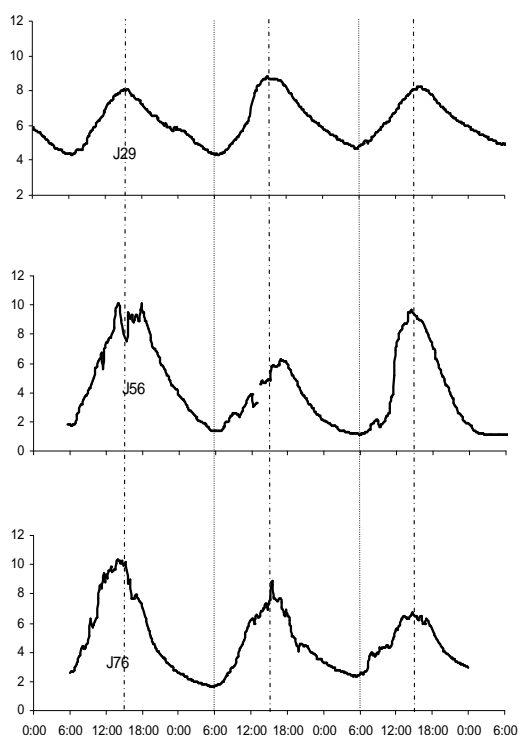


Figure 1.11 : Evolution sur 3 jours après 29, 56 et 76 jours d'élevage des concentrations en oxygène en  $\text{mg.l}^{-1}$  dans un bassin intensif en 2002 (pas de temps de la mesure : 5 min.).

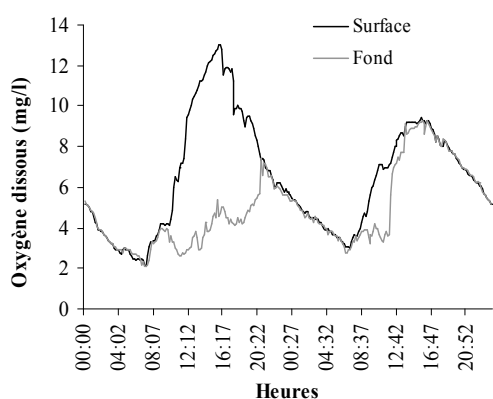


Figure 1.12 : Stratification observée après 84 jours d'élevage dans un bassin semi-intensif (bassin H - 2004 - Ifremer NC)

Un paramètre important pour définir la qualité du milieu d'élevage est l'**oxygène dissous** (Diana et al., 1997). Il gouverne la majorité des processus biologiques des écosystèmes aquatiques. Son influence sur la croissance, la survie et le stress de la crevette a été montrée (Mugnier & Soyez, 2005 ; Wabete et al., 2004 ; Wabete, 2005). Avec l'intensification, il devient souvent un facteur limitant pour la production (Martin et al., 1998). Sa dynamique dans les bassins semi-intensifs est déterminée par les populations phytoplanctoniques. Elles en produisent le jour par photosynthèse augmentant la concentration dans le milieu d'élevage. Toutefois, ces mêmes populations en respirant la nuit le consomment. Cette respiration dans la colonne d'eau représente 79% de la respiration totale du bassin alors que celle du benthos n'est que de 17% et des animaux élevés de 4% pour des élevages de Tilapia (Teichert-Coddington & Green, 1993). La variation journalière qui résulte des périodes de production et de respiration peut être très importante. Des écarts journaliers de plus de  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  ne sont pas rares dans les bassins en fin d'élevage. Des pics de saturation à plus de 200% ont déjà été observés. Les valeurs sont minimales à 6h00 et maximale vers 15h00 (fig. 1.11). Des valeurs inférieures à  $2 \text{ mg.l}^{-1}$  sont régulièrement observées. Les variations journalières de la production primaire et de la respiration peuvent conduire aussi à une stratification surface – fond (fig. 1.12). Une variabilité spatiale peut aussi apparaître. Toutefois, et de manière générale, la colonne d'eau est homogène. L'oxygène est le paramètre le plus surveillé par les aquaculteurs de NC qui l'utilisent comme indicateur pour la gestion du milieu. Avec la température, c'est le paramètre le mieux renseigné dans leurs bases de données.

### 1.12. Le phytoplancton

Le phytoplancton joue un rôle central pour maintenir la qualité d'un milieu d'élevage. Sa biomasse dépend de différents paramètres que sont la lumière, la disponibilité en nutriments, sa croissance, sa reproduction et l'intensité de son broutage par les herbivores (contrôle top-down). Il produit de

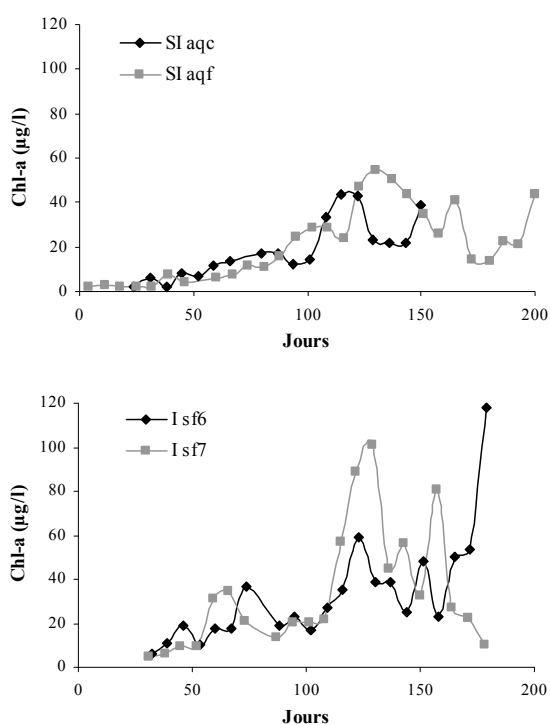


Figure 1.13 : Evolution des concentrations en chlorophylle a (Chl-a) dans 4 élevages de deux fermes industrielles conduits durant la saison chaude 1994 (SI =semi-intensif ; I = intensif).

d'élevage comparativement aux valeurs enregistrées en fin de production. Les valeurs passent de 1 à 2  $\mu\text{g.l}^{-1}$  à des valeurs pouvant atteindre 160 à 180  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (fig. 1.13) Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les valeurs reportées par Burford et al. (2003) pour des élevages intensifs de crevettes en Australie. Des biomasses phytoplanctoniques trop fortes peuvent engendrer des crises dystrophiques préjudiciables à la survie des crevettes. De nombreuses mortalités par anoxie ont été reportées dans les principaux pays producteurs (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003) et en Nouvelle-Calédonie lors d'un bloom de *Protoperidinium steinii* (fig.1.14). Des blooms toxiques entraînant des mortalités ont été identifiés en Chine avec *Alexandrium tamarense* (Huei-Meei et al., 1993), au Vietnam avec *Nitzschia navis-varingica* (Kotaki et al., 2000) et au Mexique avec *Gymnodinium catenatum* (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003).

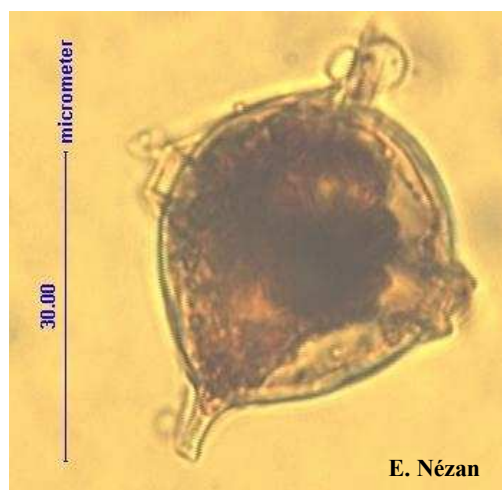


Figure 1.14 : *Protoperidinium steinii* identifié dans des « eaux rouges » et en période de mortalité dans un bassin de SF le 5/01/2002.

l'oxygène, paramètre critique pour la survie des animaux, évite la croissance des algues benthiques, constitue une protection des animaux par ombrage, et est une source alimentaire pour le zooplancton lui-même source de nourriture pour les crevettes. Les concentrations en chlorophylle a dans les bassins sont relativement faibles en début

### 1.13. L'azote

La biogéochimie de l'azote est dominée par les transformations biologiques de l'azote ajouté dans les bassins sous forme inorganique ou organique, sous forme particulaire ou dissoute par les fertilisants et l'aliment. Elle dépend des caractéristiques de l'aliment et de sa gestion, des taux de renouvellement et de la circulation de l'eau, de l'aération et de la profondeur des bassins (Hargreaves, 1998). Les formes minérales sont les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et l'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ). L'ensemble de ces formes est défini comme l'azote inorganique dissous (DIN). Ces formes peuvent être limitantes pour la production primaire dans des bassins de crevettes. Des programmes de fertilisation ont ainsi été développés dans certaines régions pour permettre une meilleure croissance du phytoplancton. Toutefois, certains métabolites tels que  $\text{NH}_3$  sont aussi des toxiques pour les animaux. Cette toxicité s'exprime généralement par une réduction de la croissance et une baisse de l'immunité rendant les crevettes plus sensibles aux maladies. En Nouvelle-Calédonie, quelle que soit la forme de l'azote minéral considérée, les concentrations restent généralement faibles dans la colonne d'eau des bassins et inférieures aux valeurs mesurées dans les eaux de pompage (Martin et al., 1998 ; Lemonnier et al., 2003). Les concentrations de nitrites et de nitrates sont même régulièrement en dessous du seuil de détection de l'analyse ( $<0,05 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ).

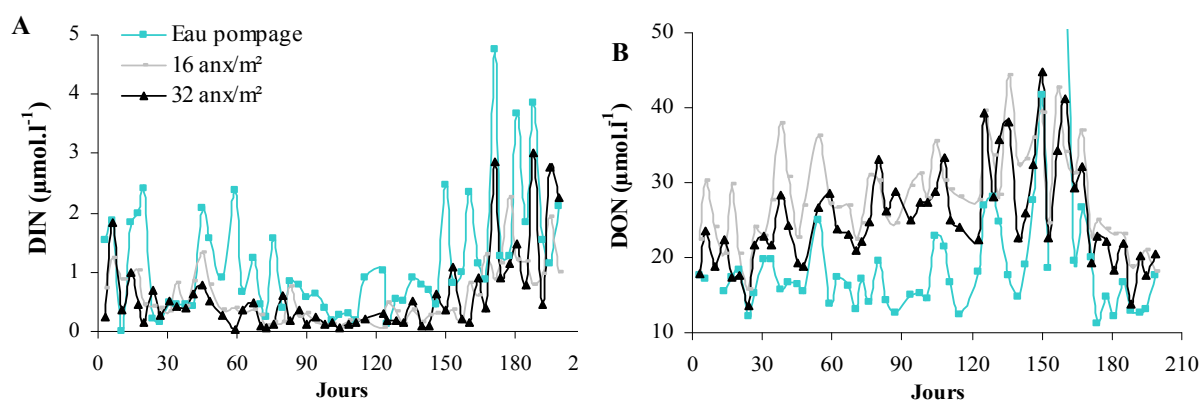


Figure 1.15: (A) Evolution des concentrations moyennes en azote inorganique dissous (DIN) et (B) en azote organique dissous (DON) pour 3 élevages ensemencés à 16 animaux au  $\text{m}^2$ , pour 3 élevages ensemencés à 32 animaux au  $\text{m}^2$  et pour l'eau de pompage. Ces élevages ont été réalisés dans 6 bassins expérimentaux de  $1450 \text{ m}^2$  à l'IFREMER NC. Ils ont été ensemencés le 9 septembre 1994. Les taux de renouvellement diffèrent en fonction des traitements. Les analyses ont été réalisées par méthodes colorimétriques sur Technicon à l'IRD de Nouméa (Bonnet, 1995) (données non publiées).

A contrario, la concentration en azote organique dissous (NOD) est plus élevée dans les effluents et dans l'eau des bassins que dans l'eau de renouvellement (fig. 1.15). Les valeurs sont généralement comprises entre 20 et 40  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  en sortie de bassin. Cette forme azotée proviendrait essentiellement du lessivage de l'aliment et ne serait pas ou peu utilisée par la communauté microbienne (Burford & Williams, 2001). Elle aurait tendance à s'accumuler dans la colonne d'eau (Burford, 2000) exception faite de l'urée qui est rapidement recyclée dans l'écosystème (Burford & Glibert, 1999). Une proportion significative est composée d'amines primaires (DPA, 23%). Les autres composés incluraient des protéines ou des fragments de protéines (McCarty et al., 1998).

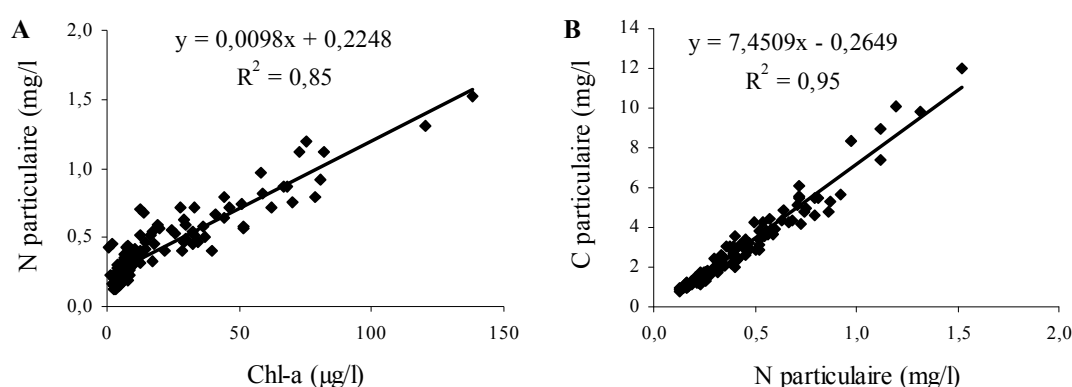


Figure 1.16 : (A) Relations entre la concentration en chlorophylle-a et l'azote particulaire d'une part et (B) entre l'azote particulaire et le carbone organique particulaire d'autre part dans les effluents de six élevages (d'après Lemonnier et Faninoz, 2006).

La relation entre la chlorophylle a et la concentration en azote particulaire dans des bassins de Nouvelle-Calédonie est très significative ( $p < 0,01$ ) (fig. 1.16A). Les résultats de Jackson et al. (2003) issus d'élevages intensifs de crevette en Australie montraient aussi que le phytoplancton, estimé par la concentration en Chl-a, est un contributeur majeur de la concentration en azote particulaire. L'azote particulaire est fortement corrélé à la concentration en carbone particulaire ( $p < 0,01$ ) (fig. 1.16B). Le rapport C/N des eaux est environ de 7,5. La concentration en azote total varie dans la littérature respectivement pour des élevages semi-intensifs et intensifs de 0,1 à 8,6 et de 0,5 à 20,9  $\text{mg.l}^{-1}$  (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003). Ces valeurs varient pour la Nouvelle-Calédonie entre 0,1 et 2  $\text{mg.l}^{-1}$  en fonction des élevages (Martin et al., 1998 ; Lemonnier et al., 2003 ; Lemonnier & Faninoz, 2006, Données non publiées du Programme Zonéco 2005).

### 1.14. Le phosphore

Le phosphore dans l'eau se décline en différents types de composés. Le phosphate minéral (P-PO<sub>4</sub>) est présent sous forme d'orthophosphates qui sont des composés essentiels pour le développement du phytoplancton. Ils sont issus de la minéralisation de la matière organique. Le phosphore organique dissous (POD) est une phase transitoire de la dégradation de la matière organique, issue

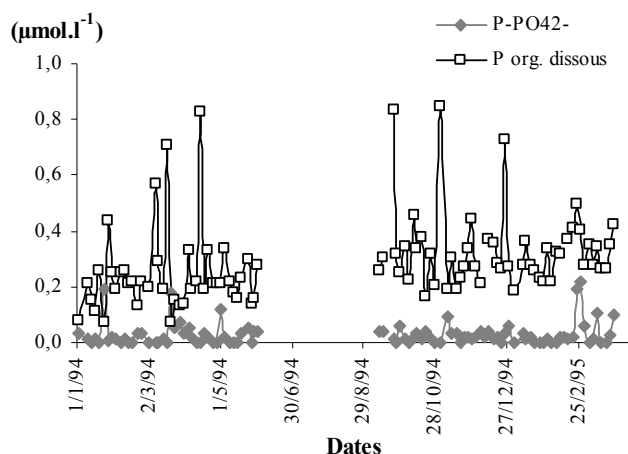


Figure 1.17 : Evolution des concentrations en phosphates (P-PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) et en phosphore organique dissous (POD) dans les eaux de pompage de l'IFREMER-NC.

essentiellement des constituants cellulaires. Si le phosphate est le substrat généralement utilisé par les microorganismes, le POD peut constituer une source potentielle de phosphore pour ces derniers en condition de déficience en phosphates (Björkman et al., 2000). Le phosphore particulaire provient des particules vivantes et/ou détritiques du milieu. Contrairement à l'azote, il y a peu de problèmes de toxicité liés au phosphore exception faite de crises anoxiques causées par un excès de matière organique et de phosphore dans le milieu.

Le phosphore est généralement considéré comme le premier élément limitant pour la croissance du phytoplancton dans les eaux douces alors que c'est l'azote dans le lagon calédonien (Jacquet, 2005). Dans les bassins d'élevage, le rôle des sédiments sur le cycle du phosphore est prépondérant. Les sédiments ont une capacité élevée d'adsorption et d'accumulation du phosphore (Shrestha & Lin, 1999 ; Boyd et al., 2006). Sans échange d'eau, 65% du phosphore ajouté par l'aliment et les fertilisants est adsorbé par les sols (Boyd & Tucker, 1998). Cette capacité permet de tamponner l'apport de phosphore via l'aliment dans le milieu et de mieux contrôler les croissances phytoplanctoniques (Massuda & Boyd, 1994a).

Les concentrations en phosphates des eaux lagunaires sont comprises entre 0,02 (station lagonaire) et 0,11 µmol.l<sup>-1</sup> (station dans une baie de Nouméa et sous influence anthropique) avec un maximum enregistré de 0,32 µmol.l<sup>-1</sup> (Jacquet, 2005). Dans les eaux de pompage à l'IFREMER, les valeurs étaient en moyenne pour les phosphates et pour le phosphore total dissous (PTD) de 0,03±0,04 µmol.l<sup>-1</sup> (N=96) et de 0,31±0,23 µmol.l<sup>-1</sup> (N=149) (données 1994 à 1996 présentées partiellement fig. 1.17). Cette moyenne était pour les phosphates de 0,07±0,08 µmol.l<sup>-1</sup> lors d'un suivi réalisé en 1992 sur le même site avec des valeurs comprises entre 0,01 et 0,35 µmol.l<sup>-1</sup> (N=50) (Martin et al., 1992). Les valeurs pour les phosphates dans les bassins d'élevage restent faibles et généralement inférieures à 0,2 µmol.l<sup>-1</sup> (fig. 1.18A). La gamme de valeurs pour le POD est comprise entre 0,2 et 1,0 µmol.l<sup>-1</sup> pour une moyenne respectivement de 0,68±0,25 et de 0,55±0,22 µmol.l<sup>-1</sup> en fonction du traitement (fig.

1.18B). Quelles que soient les formes, phosphate ou POD, les valeurs sont supérieures dans les bassins comparativement à l'eau de renouvellement.

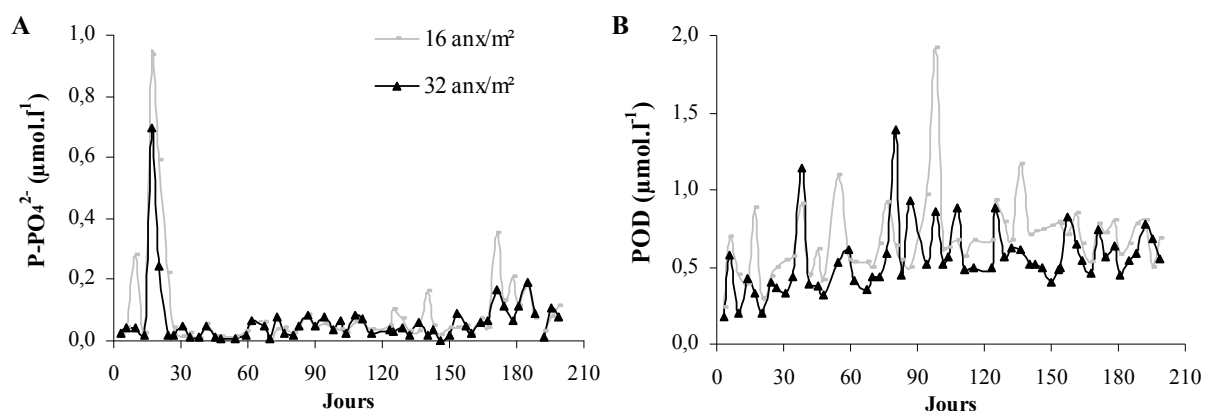


Figure 1.18 : Evolutions moyennes (A) des concentrations en phosphates et (B) en phosphore organique dissous (POD) dans deux séries de 3 bassins en 1995.

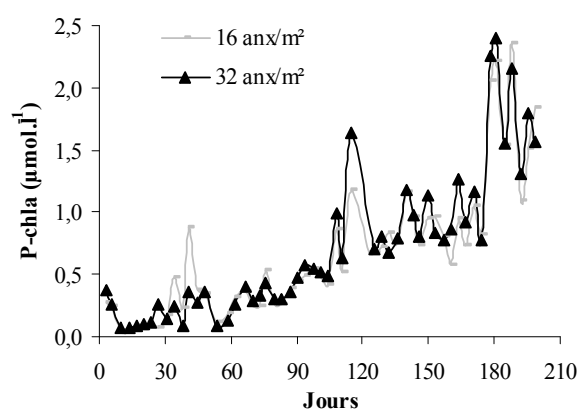


Figure 1.19 : Evolutions des concentrations moyennes en phosphore d'origine phytoplanctonique dans 2 séries de 3 bassins. Les valeurs ont été estimées à partir de la concentration en chlorophylle a et des rapports C : Chl-a = 50 : 1 et de Redfield (C : P = 106).

Il n'y a pas eu jusqu'à récemment de mesure directe de phosphore particulaire et/ou de phosphore total dans les bassins d'élevage. Toutefois, la figure 1.19 présente une estimation du phosphore particulaire d'origine phytoplanctonique, calculée à partir des concentrations en Chl-a. Les valeurs augmenteraient jusqu'à 2,5 µmol.l<sup>-1</sup> en fin d'élevage pour une concentration moyenne en Chl-a d'environ 60 µg.l<sup>-1</sup> (fig. 1.19).

### 1.15. La matière organique des sédiments

La qualité des sédiments dans les bassins de terre est reconnue comme un facteur crucial de réussite des élevages (Chamberlain, 1988 ; Hussenot & Feuillet-Girard, 1988 ; Morales et al., 1991 ; Peterson & Daniels, 1992 ; Boyd, 1992 ; 1995). Une alimentation réduite, une croissance faible (Avnimelech & Zohar, 1986), des survies basses (Hopkins et al., 1994) et une sensibilité accrue aux maladies en relation avec une détérioration de la qualité des sédiments ont été rapportées (Avnimelech & Ritvo, 2003). La matière organique (MO) est considérée comme une propriété importante des sols. Elle influence d'autres propriétés comme la communauté microbienne hétérotrophe (Krichman & Mitchell, 1982), la capacité d'adsorption des polluants (Sposito, 1989) et la demande en oxygène des sédiments (Boyd et al, 1978). Une accumulation conduit à des effets directement négatifs sur les rendements par relargage de composés toxiques ( $H_2S$ ,  $NH_3$ ,  $N_2O$ ). La vitesse de dégradation de la MO est supposée de premier ordre par Streeter et Phelps (1925 *in* Billen et al., 1989) :  $dL/dt = -K_1L$  ou  $K_1$  est une constante caractéristique du milieu et de sa population bactérienne et  $L$  la charge organique. Que ce soit de la MO dissoute, de la MO détritrique, d'origine phytoplanctonique ou d'origine alimentaire, il existe plusieurs fractions de MO dégradées, chacune selon une cinétique de premier ordre. La matière organique se compose ainsi d'une fraction caractérisée par une constante de dégradation élevée et de fractions dégradées plus lentement, voire totalement réfractaire (Ogura, 1975). Dans un bassin

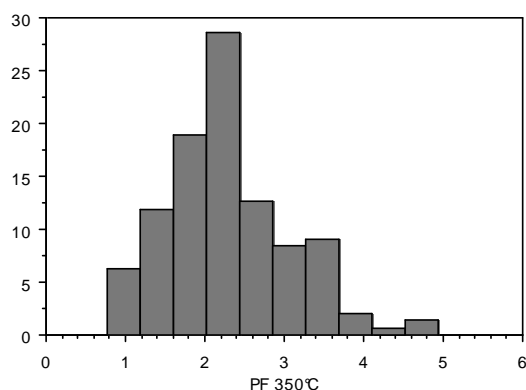


Figure 1.20 : distribution des valeurs de perte au feu (Pf350°C) à l'interface eau-sédiment dans 12 bassins le jour de la pêche finale (N = 145) (d'après Lemonnier et al., 2004).

d'élevage, on peut ainsi définir trois catégories de MO (Boyd, 1992). La première est constituée par la MO fraîche (aliment non ingéré, excrément et organismes morts de l'élevage en cours), la seconde par la MO partiellement décomposée provenant surtout de l'élevage et de l'élevage précédent et enfin la MO originelle (présente dans les matériaux de construction du bassin, sol et digues). La matière organique est présente à l'interface eau-sédiment sous forme de particules de tailles diverses, de revêtement adsorbé sur la fraction minérale et sous forme dissoute dans l'eau interstitielle. Il est à noter que la fraction particulaire représente 99% de la MO totale (Meyer-Reil et al., 1978). **La perte au feu** est une valeur indicatrice de la concentration en MO dans les sédiments (Boyd, 1995). Dans les années 90, la méthode usuellement utilisée en Nouvelle-Calédonie était une perte au feu à 550°C pendant 5 heures (Pf 550°C). Une crémation à cette température conduit non seulement à (i) l'oxydation de la MO en dioxyde de carbone mais aussi (ii) à une perte en eau de constitution provenant des feuilletts d'argile



(malgré un séchage préalable à 105°C pendant 48 heures) et (iii) à la décomposition partielle du carbonate de calcium en oxyde de calcium et en dioxyde de carbone (Boyd, 1995). Une autre méthode, moins agressive a été publiée par Ayud & Boyd (1994) et a été utilisée par la suite. La température de crémation a été abaissée à 350°C et la durée est passée de 5 heures à 8 heures (Pf 350°C). Quelle que soit la méthode, les corrélations entre perte au feu et carbone organique total (COT), mesuré par la méthode de Walkey-Black (Boyd, 1995) restent hautement significatives (fig. 1.21). Pour un site donné, les relations entre Pf350°C et azote total (Nt) mesuré par la méthode de Kjeldhal (Nelson & Sommers, 1980) et entre Pf350°C et phosphore total mesuré par méthode colorimétrique après digestion par NaOH / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Pétard, 1993) sont aussi très significatives (fig. 1.21).

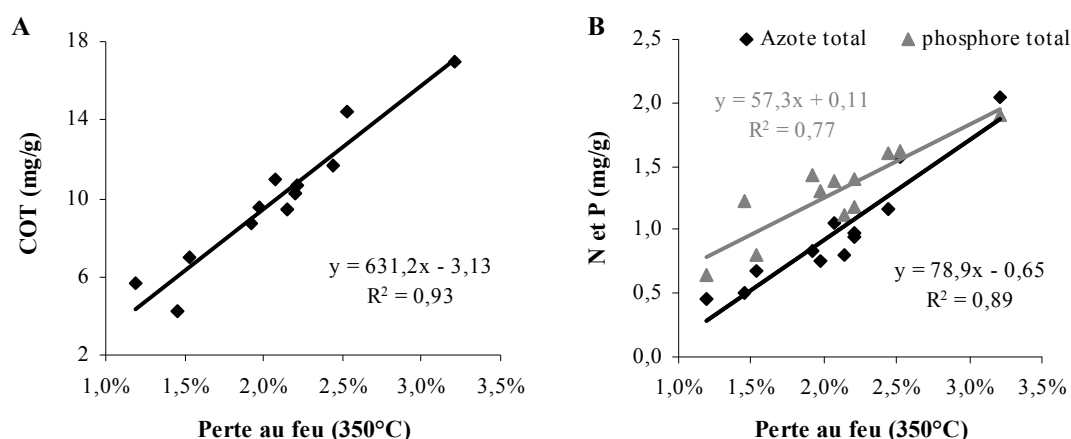


Figure 1.21 : Relations entre la perte au feu (Pf350°C) et (A) le carbone organique total (COT), et (B) l'azote total (N) et le phosphore total (P). Les prélèvements (N=12) ont été réalisés au cours d'un assec sur une épaisseur de 5 cm à différentes stations réparties sur toute la surface d'un bassin (7,5 ha) semi-intensif en oct. 2000 (Charpentier, 2001). Ces courbes montrent des relations significatives entre les variables mais suggèrent aussi une variabilité spatiale intra bassin élevée.

Les mesures réalisées sur les différents échantillons récoltés en Nouvelle-Calédonie sur le premier cm en fin d'élevage nous donnent des valeurs de Pf350°C comprises entre 0,77% et de 4,93% pour une moyenne de 2,31% (N=143) (fig. 1.20). On estime à 0,58%, le taux de carbone contenu dans la matière organique (Nelson & Sommers, 1982 ; Ayud & Boyd, 1994). Exprimées en carbone, les valeurs varient approximativement entre 3,2 et 28,6 mg.g<sup>-1</sup>. Elles étaient de 1,8 à 72,0 mg.g<sup>-1</sup> avec 83% des échantillons contenant moins de 20 mg.g<sup>-1</sup> dans des bassins semi-intensifs et intensifs de crevettes d'Amérique du Sud et d'Asie (Boyd, 1992). Les valeurs sont comprises entre 6 et 20 mg.g<sup>-1</sup> dans des bassins d'élevage de crevettes et dans la mangrove en Australie (Smith, 1996). Sur les 5 premiers cm, on estime en moyenne à 14,4 mg.g<sup>-1</sup> le taux de carbone dans les sédiments calédoniens. Cette valeur est similaire aux concentrations moyennes mesurées par Boyd et al. (1994a,b), Smith (1996), Munsiri et al. (1996) et Sonnenholzner & Boyd (2000) sur la même épaisseur de sédiment.

A titre de comparaison, le COT mesuré sur 5 sites vierges en NC avant construction d'une ferme montre des valeurs comprises entre 2,3 et 28,5 mg.g<sup>-1</sup> pour une moyenne de 10,3 mg.g<sup>-1</sup> (fig. 1.22). La gamme de valeurs est similaire à celle mesurée en fin d'élevage. La variabilité spatiale au sein d'un même site est aussi élevée et les teneurs sont d'autant plus élevées que la station d'échantillonnage est proche de la mangrove. Contrairement au COT et à l'azote total, le phosphore est en revanche un très bon marqueur de l'activité aquacole. En fin d'élevage, les teneurs sont comprises entre 0,6 et 2 mg.g<sup>-1</sup> de sédiment sec alors qu'elles sont en moyenne beaucoup plus faibles sur les tannes avant mise en production avec une valeur inférieure à 0,2 mg.g<sup>-1</sup> (N = 25).

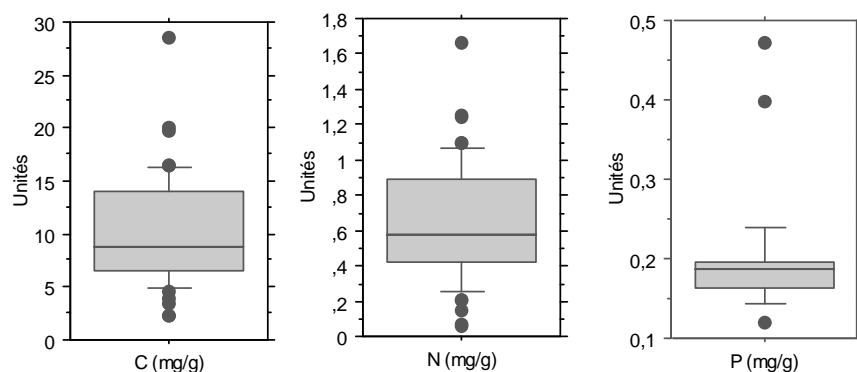


Figure 1.22 : Graphes en boîtes présentant les caractéristiques des sédiments de 5 sites vierges de toute activité aquacole pour le carbone (N=50), l'azote (N=50) et le phosphore (N = 25).

### 1.16. L'ammoniaque, le potentiel d'oxydoréduction et le pH des sédiments

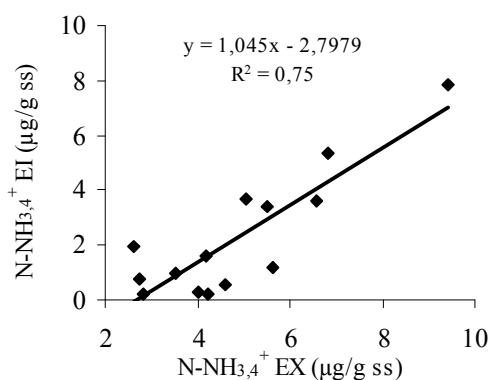


Figure 1.23 : Exemple de relation entre la forme libre, l'azote ammoniacal (NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> EI) et la forme fixée (NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> EX) dans 3 bassins de l'IFREMER en 1994.

**L'ammonium** est produit dans les sédiments par différents organismes hétérotrophes. Après son relargage en solution, il peut être réoxydé, utilisé par des organismes, adsorbé sur des particules ou diffusé le long d'un gradient vers la colonne d'eau ou d'autres horizons sédimentaires (Mackin & Aller, 1984). On le trouve sous une forme dominante ionisée NH<sub>4</sub><sup>+</sup> non toxique et sous une forme non ionisée NH<sub>3</sub> très toxique. Le pourcentage de chaque forme dépend de la température et du pH. L'azote ammoniacal, qui peut être dosé dans le milieu sédimentaire, est libre dans les eaux interstitielles (NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> EI) ou fixé aux particules (NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> EX). Cette forme fixée est appelée azote ammoniacal échangeable. Si une relative petite fraction

est libre dans l'eau interstitielle, la plus grande partie est fixée aux particules (Diab & Shilo, 1986). La fraction libre représentait environ  $25 \pm 8\%$  (N=34) de l'ammoniaque total quel que soit l'horizon étudié (fig. 1.23).

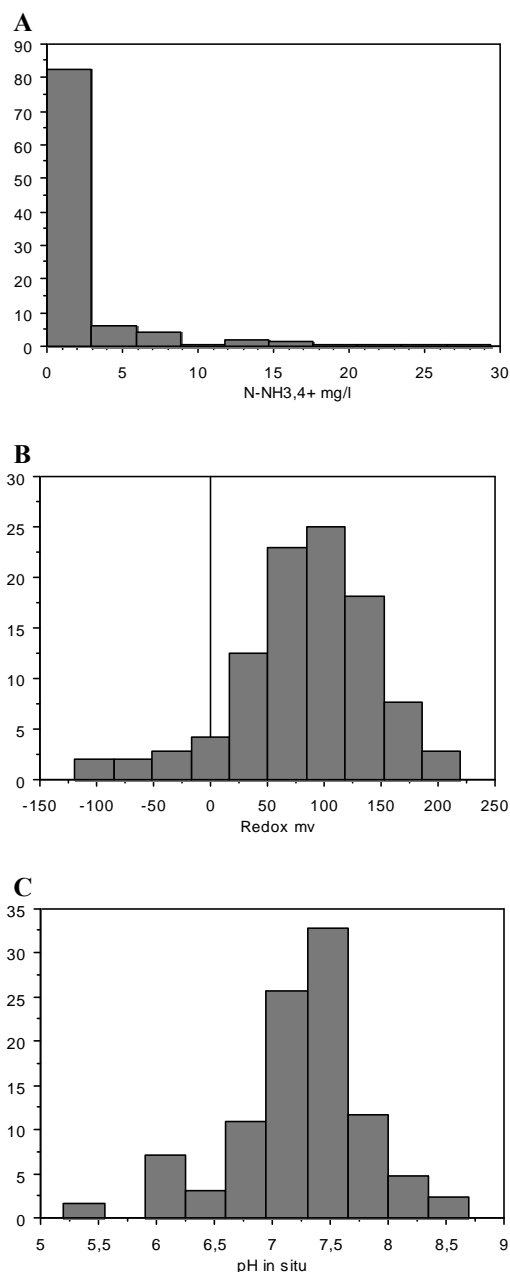


Fig. 1.24 : Distribution des valeurs (A) d'azote ammoniacal dans l'eau interstitielle, (B) du potentiel d'oxdo-réduction et (C) du pH *in situ* dans le premier cm de sédiment.

Sur l'ensemble des échantillons de sédiment récoltés dans des bassins de production en fin d'élevage, la valeur moyenne à l'interface eau-sédiment dans l'eau interstitielle était de  $2,5 \pm 4,8$  mg.l<sup>-1</sup> (N=154). Les données étaient extrêmement variables entre les bassins et au sein d'un même bassin. Les valeurs extrêmes variaient de 0,0 à 29,4 mg.l<sup>-1</sup> (fig. 1.24A) On observe généralement une augmentation des concentrations avec la profondeur quel que soit le type d'élevage (fig. 1.25). Les concentrations atteignent parfois 50 mg.l<sup>-1</sup>. Deux profils sont remarquables. Ils concernent deux bassins intensifs dont les sédiments ont été fortement concentrés au centre des bassins sous l'action des aérateurs.

**Le potentiel d'oxydoréduction (Eh)** est un index du degré d'oxydation ou de réduction. Dans les sédiments, les accepteurs terminaux d'électrons utilisés dans la décomposition de la MO sont par ordre décroissant d'efficacité : l'oxygène, le nitrate, le sulfate et le carbonate (Marty et al., 1989). Cette succession s'accompagne d'une diminution du potentiel d'oxydoréduction. Des potentiels de +100 mV et de -200 mV correspondent respectivement à l'utilisation des nitrates et des sulfates comme accepteurs terminaux d'électrons. Dans le premier cas, nous assistons théoriquement au développement de bactéries dénitrifiantes, dans le second cas à des bactéries sulfato-réductrices. La valeur moyenne (N=180) à l'interface eau sédiment était de  $78 \pm 63$  mV pour des extrêmes de -119 mV et de +220 mV (fig. 1.24B). Les

valeurs moyennes par bassin étaient significativement différentes et variaient de  $-31 \pm 76$  à  $+157 \pm 32$

mV. On note une diminution générale du potentiel avec la profondeur pour atteindre dans certains cas des valeurs proches de -150 mV.

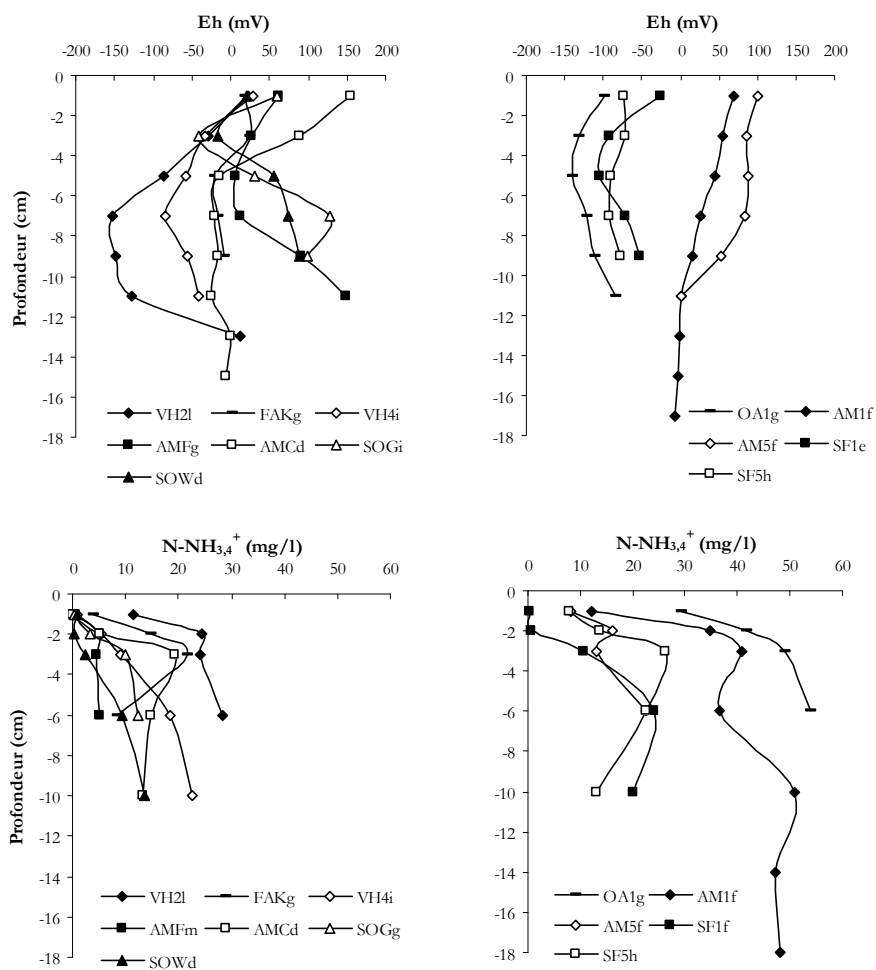


Figure 1.25 : Profils du potentiel d'oxydoréduction et des concentrations en azote ammoniacal en fonction de la profondeur dans des bassins semi-intensifs (graphes à gauche) et intensifs (graphes à droite). Les stations choisies correspondent aux zones à forte accumulation sédimentaire. Les lettres à la suite des codes bassin représentent les stations d'échantillonnages (D'après Lemonnier et al., 2004).

**Le pH :** L'effet négatif de l'acidité des sols sur la production des crevettes est assez bien connu (Boyd, 1990 ; Binh et al., 1997). Un sol est considéré comme légèrement acide pour un pH < 6,5. Il régule la solubilité des minéraux et c'est une variable d'importance pour l'équilibre chimique des sols (Boyd, 1995). Sa mesure permet de déterminer la proportion de NH<sub>3</sub> toxique dans l'équilibre NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Bower, 1978) et d'estimer la concentration des formes ioniques et non ioniques pour les mesures de H<sub>2</sub>S (Hussenot & Martin, 1995). Le pH a été relevé en insérant directement une électrode dans le sédiment. Cette mesure est similaire au pH de l'eau interstitielle (Massuda & Boyd, 1994b). Les valeurs variaient de 5,2 à 8,7 pour une moyenne générale de 7,2±0,6 (N=162). Le nombre de stations présentant une légère acidité est faible et inférieur à 15% (fig. 1.24C).

## 2. Influence de la gestion sur les principaux paramètres de l'écosystème bassin

### 2.1. Influence des taux de renouvellement

Les résultats présentés ci-dessous ont été en partie publiés sous la référence :

Lemonnier H., Faninoz S., 2006. Effects of water exchange rate on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia. *Aquaculture Research*. 37(9) : 938-948. Cette publication est présentée en annexe 1.

Le renouvellement est utilisé dans le modèle de production semi-intensif pour diminuer les effets de l'eutrophisation liés à un apport croissant en aliment, pour exporter les composés toxiques hors du système et pour maintenir une salinité compatible avec la biologie de l'espèce. Toutefois, l'influence des renouvellements sur le devenir des déchets dans l'écosystème bassin a fait l'objet d'un nombre restreint d'études. Une expérimentation a donc été conduite pendant la saison chaude dans six bassins d'environ 1500 m<sup>2</sup> à l'IFREMER NC avec comme objectif de déterminer les flux entrants et sortants du système d'élevage en fonction des taux de renouvellement.

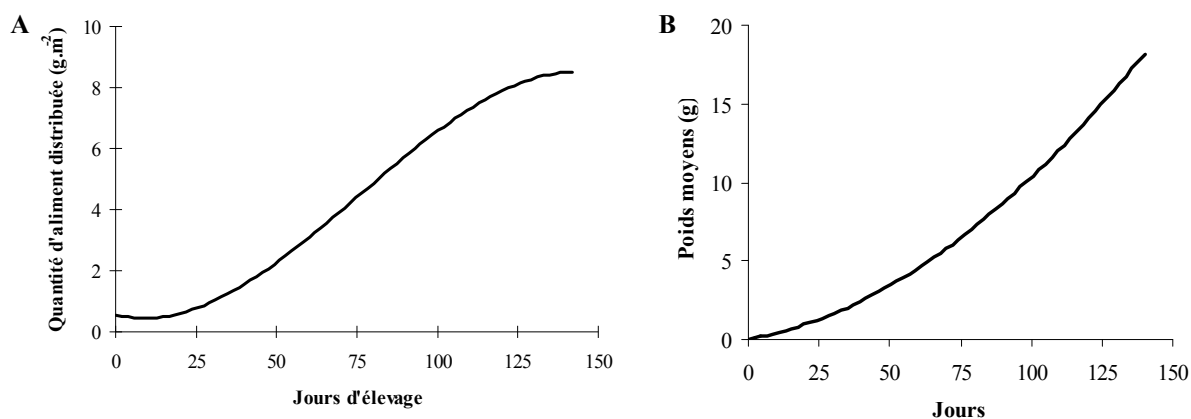


Figure 1.26 : Evolution (A) de la quantité d'aliment distribuée et (B) des poids moyens des animaux en relation avec le nombre de jours d'élevage. Ces données moyennes sont issues d'une expérimentation réalisée en 1998 dans six bassins de terre (surface 1450 m<sup>2</sup>, hauteur d'eau 1m) à la station IFREMER NC.

#### 2.1.1. La colonne d'eau

Les résultats montrent une modification importante de la qualité de l'eau lors de son passage dans le bassin. L'eau s'enrichit en composés organiques sous forme dissoute et particulaire. Cet enrichissement est proportionnellement plus important sous forme particulaire et plus précisément sous forme de phytoplancton, ce qui s'est traduit par une augmentation (i) de la part de l'azote

particulaire sur l'azote total au détriment de l'azote minéral et de l'azote organique dissous, (ii) du pourcentage de matière organique contenue dans le seston de l'eau, (iii) et de la biomasse chlorophyllienne contenue dans la matière organique. Les effluents sont moins concentrés en azote minéral que l'eau du lagon confirmant des résultats plus anciens d'une épuration de l'eau en nutriments azotés (Martin et al., 1998 ; Lemonnier et al., 2003). Ils sont assimilés par le milieu participant ainsi à la croissance phytoplanctonique du bassin (Hopkins et al., 1993 ; 1995).

### Le particulaire

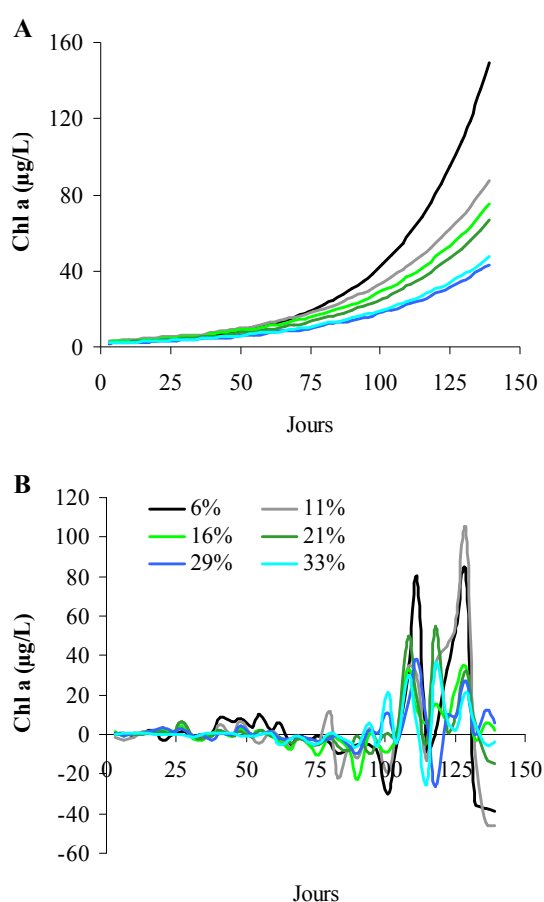


Figure 1.27 : (A) tendance exponentielle calculée à partir de l'évolution des concentrations en Chl-a dans les effluents ; (B) Ecarts à la tendance exponentielle pour chaque taux de renouvellement.

Une dilution des effluents avec l'augmentation des taux de renouvellement en carbone organique particulaire, en azote particulaire et en pigments chlorophylliens a été montrée. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par d'autres auteurs (Allan & Maguire, 1993 ; Hopkins et al., 1993). Une baisse des renouvellements se traduit classiquement par une augmentation des concentrations des différents composés organiques dans les effluents et par aucun effet sur l'azote minéral.

L'évolution de la chlorophylle a en fonction du temps est de type exponentielle. Cette tendance explique entre 76 et 86% de la variabilité en fonction du traitement (fig. 1.27). Les bassins les moins renouvelés sont les plus concentrés en chlorophylle a mais présentent aussi les concentrations les plus variables. Les variations observées à partir de J100 ont des amplitudes qui augmentent significativement en relation avec les taux de renouvellement. La quantité d'aliment distribuée est alors comprise entre 6,0 et 6,5 g par m<sup>2</sup> et par jour pour un poids moyen des animaux d'environ 10 grammes.

### Vers une autotrophie croissante de la colonne d'eau

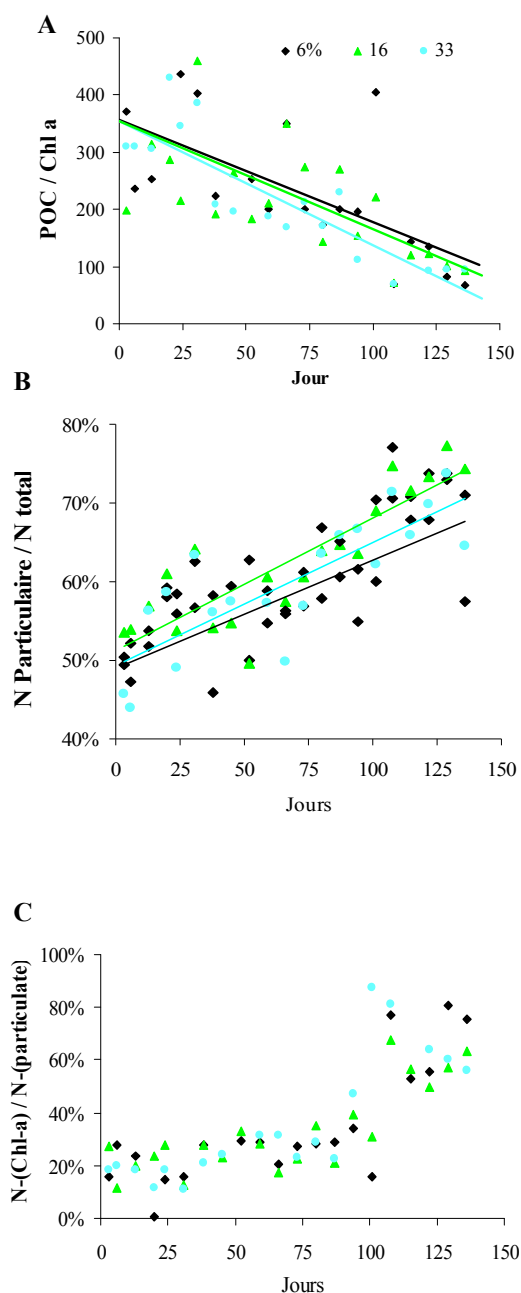


Figure 1.28 : Evolution temporelle des rapports (A) POC/Chl-a, (B) azote particulaire sur azote total, (C) azote phytoplanctonique sur azote particulaire pour 3 taux de renouvellement.

La proportion contenue dans l'azote particulaire évolue brusquement à partir de J100 pour passer de 20 à plus de 50% (fig. 1.28C). Cette évolution pourrait indiquer un changement de population phytoplanctonique.

Ce paragraphe s'attache à caractériser l'évolution qualitative de la matière organique au cours de l'élevage grâce à de multiples indicateurs de sa composition (seston, matière organique particulaire, chloropigments, POC/Chl-a).

Un ratio POC/Chl-a inférieur à 200 indique une matière organique constituée essentiellement de matière fraîche ou peu dégradée (Cifuentes et al., 1988). Dans les bassins, il diminue du début à la fin de l'élevage suggérant ainsi un enrichissement progressif en matière organique fraîche d'origine phytoplanctonique (fig. 1.28A). Ce ratio devient inférieur à 200 après environ 90 à 100 jours d'élevage.

On observe une augmentation du pourcentage d'azote particulaire contenu dans l'azote total (fig. 1.28B) et une corrélation très significative entre la chlorophylle a et l'azote particulaire ( $r^2 = 0,85$  ;  $p < 0,001$  ;  $N \text{ part. } (\mu\text{g.l}^{-1}) = 9,8 \times \text{Chl-a} + 224,8$ ). Ces résultats indiquent une implication croissante du compartiment phytoplanctonique avec le nombre de jours d'élevage. Aucun effet du taux de renouvellement sur les caractéristiques de la MO exprimées par les rapports (i) POC/Chl-a, (ii) N part./N total, (iii) N-(Chl-a)/N part. n'a été mis en évidence.

La part d'azote liée à la biomasse chlorophyllienne a été calculée à partir des concentrations en Chl-a, du rapport C : Chl-a de 50 :1 et des rapports de Redfield selon la formule suivante :

$$N\text{-(Chl-a)} (\mu\text{atg.l}^{-1}) = ([\text{Chl-a } (\mu\text{g.l}^{-1})] \times 50) / (12 \times 6,63)$$

## La turbidité

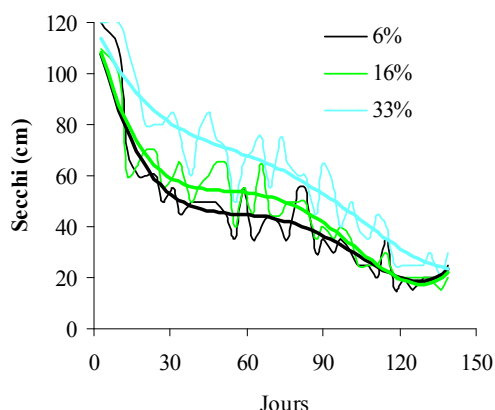


Figure 1.29 : Evolution du Secchi à 6, 16 et 33%.

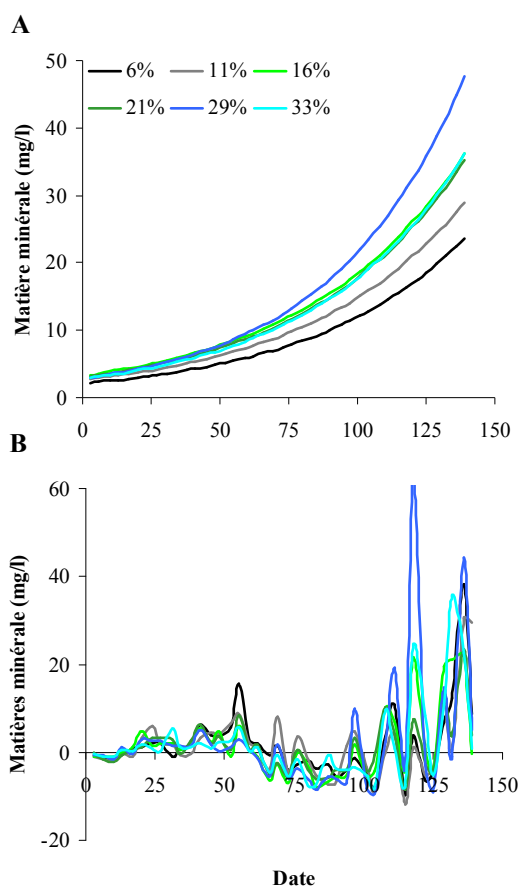


Figure 1.30 : (A) tendance exponentielle calculée à partir de l'évolution des concentrations en matières minérales dans les effluents; (B) Ecart à la tendance exponentielle pour chaque taux de renouvellement.

Le Secchi augmente dans la colonne d'eau avec l'augmentation des renouvellements ( $r^2 = 0,98$ ). Dans le temps et quel que soit le bassin, la valeur diminue pour atteindre après 120 jours entre 20 et 40 cm. Toutefois la cinétique pourrait être complexe (fig. 1.29). On observe une première baisse des valeurs entre 0 et 20 jours et une seconde entre J90 et J120.

Les concentrations en matière minérale augmentent dans le temps quel que soit le traitement. La tendance exponentielle explique entre 58 et 78% de la variabilité (fig. 1.30A). Les valeurs filtrées de la tendance deviennent très variables après environ 100 jours d'élevage (fig. 1.30B). à l'image de ce qui a été observé pour la Chl-a. Les concentrations sont significativement plus élevées avec l'augmentation des échanges d'eau.

L'activité bioturbante des animaux pourrait être à l'origine de l'augmentation dans le temps des concentrations en matières minérales. Il a déjà été montré que la turbidité augmente avec la longueur des animaux (75-135 mm), apparemment à cause de leurs déplacements et de leur activité alimentaire (Ritvo et al., 1997). Les animaux, en remettant en suspension le sédiment, favorisent les échanges entre le sédiment et la colonne d'eau (Blackburn & Henricksen, 1983). Cette bioturbation pourrait expliquer le parallélisme entre l'évolution des concentrations en matière minérale et en Chl-a.



## L'azote dissous

L'azote minéral ( $\text{N-NH}_3,4^+ + \text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$ ) ne représente que 1 à 2,6% de l'azote total bien qu'il ait été établi que l'ammonium soit le principal composé azoté excrété par les crevettes (Burford &

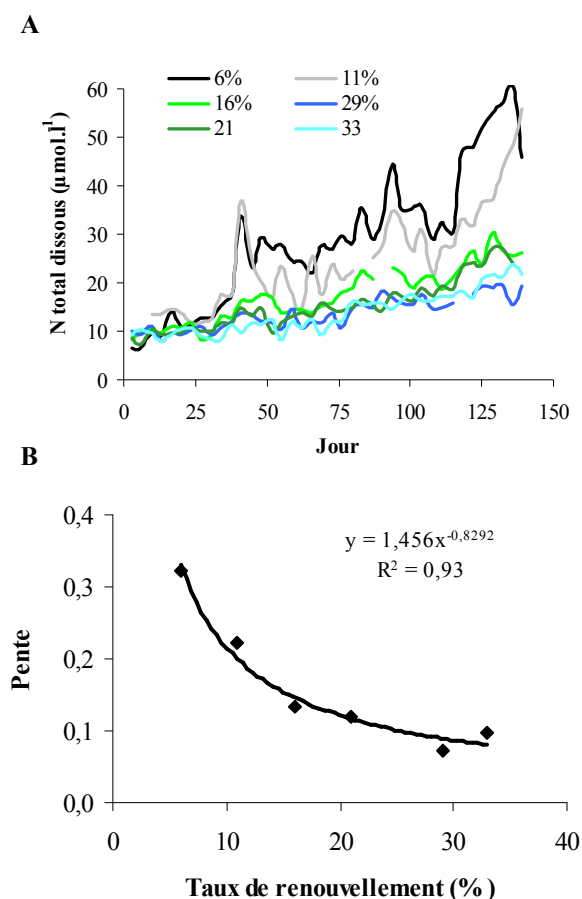


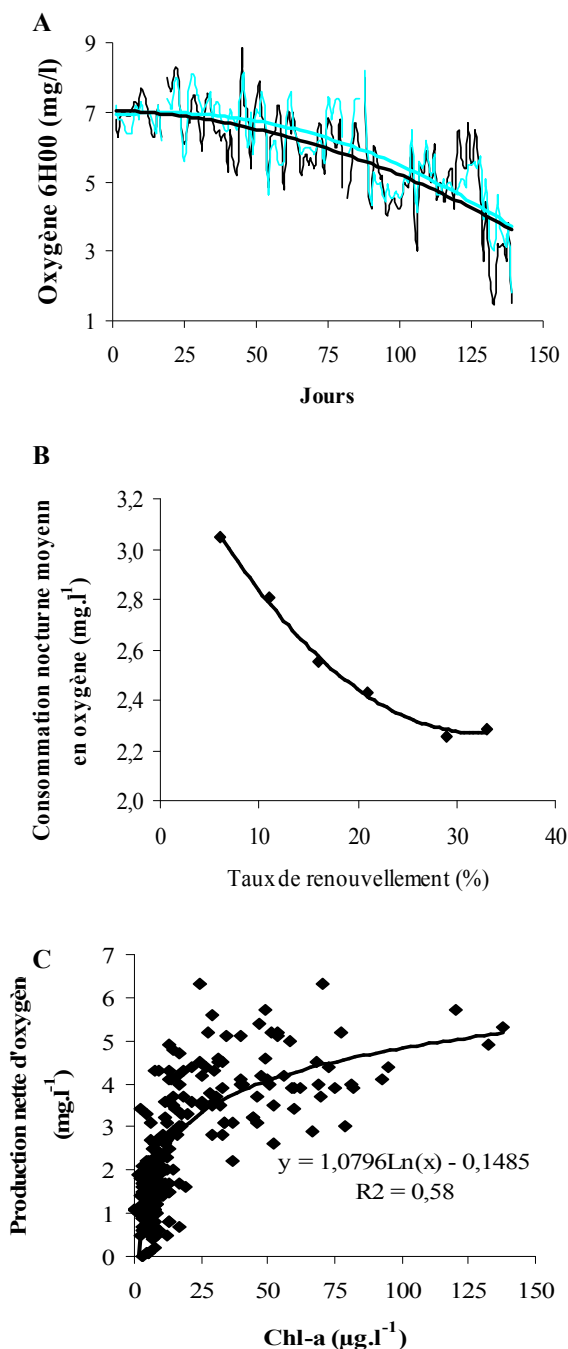
Figure 1.31 : (A) Evolution des concentrations en azote total dissous (DTN) en fonction du temps et des taux de renouvellement. La concentration dans les eaux de renouvellement était en moyenne de  $6,4 \pm 2,0 \mu\text{mol.l}^{-1}$  ;

(B) Effet du taux de renouvellement (N=6) sur la pente de la droite calculée entre l'azote total dissous et le nombre de jours d'élevage (graphe A).

des cellules par infection virale, par le grazing...) reste toutefois encore trop peu connue en aquaculture tropicale.

Williams, 2001). Il peut donc être considéré comme négligeable. Les concentrations en azote organique dissous sont généralement élevées comparativement aux eaux lagunaires ( $< 10 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ). Les courbes de tendance, linéaires, réalisées sur les données exposées sur la figure 1.31A, expliquent entre 70 et 88% de la variance en fonction du traitement. On note un effet très significatif ( $p < 0,01$ ) du taux de renouvellement sur la concentration en DON dans les eaux (fig. 1.31B). Dans les bassins, le rapport DON / N total est en moyenne compris entre 37 et 42%, valeurs proches de celles mesurées en Australie dans des systèmes intensifs (Jackson et al., 2003). L'azote organique dissous doit être considéré comme une source importante de déchets dans l'environnement bassin dans lequel sa concentration est fortement dépendante du niveau de dilution appliqué par l'éleveur. Cette source azotée est issue principalement du lessivage de l'aliment et des fèces et s'accumulerait dans la colonne d'eau (Burford & Williams, 2001 ; Burford et al., 2001). Cette accumulation expliquerait l'effet hautement significatif que nous avons montré du taux de renouvellement sur la concentration en DON dans les effluents. La proportion de DON produit par le phytoplancton à travers différents mécanismes (sénescence ou lyse

## L'oxygène dissous



Les concentrations en oxygène le matin ont diminué progressivement du début jusqu'en fin d'expérimentation quel que soit le traitement. Elles sont passées d'environ 7 mg.l<sup>-1</sup> à des valeurs inférieures à 3 mg.l<sup>-1</sup> en fin d'élevage (fig. 1.32A).

Sur la saison d'élevage, les concentrations moyennes en oxygène le matin augmentent très légèrement ( $r^2 = 0,93$ ) avec l'augmentation des renouvellements contrairement aux valeurs du soir qui elles, diminuent ( $r^2 = 0,89$ ). Il en résulte (i) une baisse significative de la consommation en oxygène nocturne ( $O_2$  soir –  $O_2$  matin) moyenne de 3,1 à 2,3 mg.l<sup>-1</sup> (fig. 1.32B) et (ii) en parallèle une augmentation significative de la « production nette journalière ». Cette « production » est corrélée à la biomasse phytoplanctonique (fig. 1.32C). On note un fort ralentissement de la production nette journalière en oxygène pour des concentrations supérieures à 50 μg.l<sup>-1</sup>.

Des concentrations en oxygène très faibles ont ainsi été enregistrées en fin d'expérimentation dans les bassins les moins renouvelés suite à une chute de la biomasse phytoplanctonique. Les valeurs mesurées alors pouvaient être considérées comme critiques pour la croissance des animaux (Seidman & Lawrence, 1985 ; Allan & Maguire, 1991).

Figure 1.32 : (A) Evolution des concentrations en oxygène à 6 heures pour deux taux de renouvellement (6% et 33%) ; (B) consommation nocturne moyenne en oxygène (valeurs du matin soustraites aux valeurs du soir précédent) ; (C) Production nette en oxygène (valeurs du soir soustraites aux valeurs du matin de la même journée) en relation avec la concentration en chlorophylle a.

## 2.1.2. Les sédiments

La diminution des échanges d'eau implique une diminution des exportations des déchets vers le milieu littoral. En parallèle, on note un effet sur les sédiments caractérisé par une accumulation d'ammoniaque et une baisse du potentiel d'oxydoréduction (Lemonnier et al., 2006 - Annexe 1). Les résultats montrent par ailleurs une augmentation significative de la teneur en eau des sédiments en fin d'élevage en relation avec le taux de renouvellement suggérant une accumulation de matière organique dans les sédiments d'autant plus forte (Avnimelech et al., 2001). La concentration en azote total dans les sédiments a tendance à augmenter avec la diminution des échanges d'eau ( $P=0.08$ ). On note des corrélations significatives entre la concentration en azote total dans les sédiments ( $N_t$ ) (mg/l) et la perte au feu totale PF (%);  $[N] \text{ (mg/l)} = 0,42 \times (\text{PF}) - 0,9$ ;  $r^2=0,86$ ; et entre l'ammoniaque (TAN) (mg/l) et la concentration en azote total ( $N_t$ );  $[\text{TAN}] = 0,1379 \times \exp^{(1,7619 \times [N_t])}$ . L'ensemble de ces résultats suggère une accumulation de déchets d'autant plus forte à l'interface eau - sédiment que les renouvellements diminuent.

Sur le plan temporel, une légère amélioration des conditions redox et une diminution des concentrations en ammoniaque dans l'eau interstitielle pourraient avoir eu lieu sur les cinquante premiers jours d'élevage (fig. 1.33). Ces résultats suggèrent une épuration du milieu des déchets accumulés au cours de l'élevage précédent à un moment où la quantité d'aliment distribuée reste faible. Après J50, les conditions se dégradent progressivement jusqu'à la fin de l'élevage.

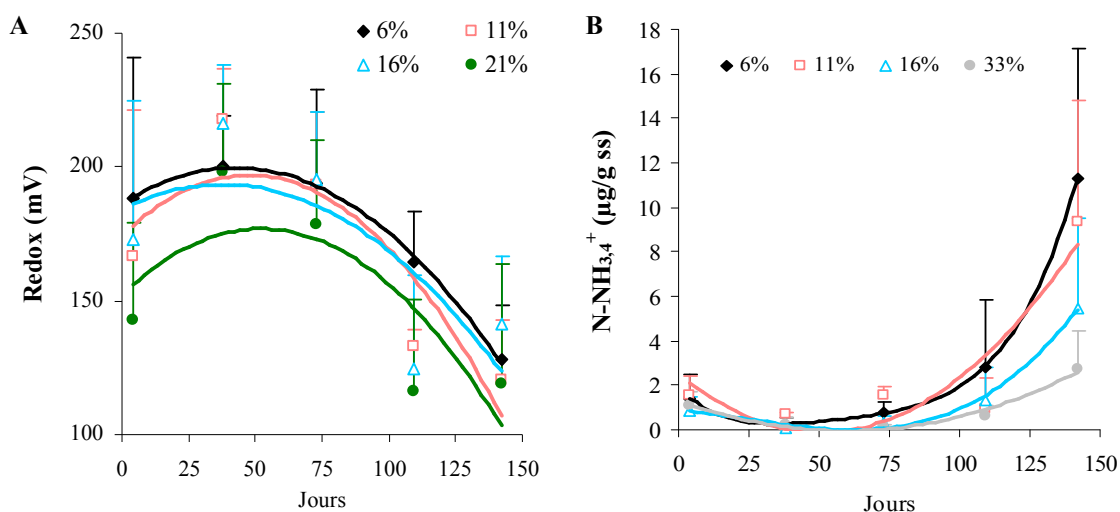


Figure 1.33 : Evolution (A) du potentiel d'oxydoréduction (Eh) moyen et (B) de la concentration moyenne en ammoniaque dans l'eau interstitielle (EI) du sédiment à l'interface en fonction du temps et du taux de renouvellement. Cinq stations ont été prélevées par bassin avec un bassin par taux de renouvellement (données non publiées).

### 2.1.3. Synthèse

Une augmentation des renouvellements permet d'augmenter l'exportation de déchets vers le milieu extérieur et diminue ainsi la quantité accumulée dans les sédiments des bassins. Elle atténue dans la colonne d'eau l'effet de l'eutrophisation en diluant les déchets azotés qu'ils soient sous forme dissoute ou sous forme particulaire et minimise les variations journalières de l'oxygène.

## 2.2 Influence des densités

Les résultats présentés sont issus d'une expérimentation réalisée pendant la saison chaude 1994. Ils ont fait l'objet d'un rapport technique IFREMER (Lemonnier, 1997). Ils complètent un travail similaire réalisé en saison froide et publié par Martin et al. en 1998.

*Préambule : Les expérimentations ont été conduites dans des bassins de 1500 m<sup>2</sup>. Ils ont étéensemencés à différentes densités avec des post-larves. Tout était égal par ailleurs sauf la nourriture qui était proportionnelle à la densité.*

### La biomasse phytoplanctonique

Les bassins avec des densités de 11, 21 et 30 crevettes au m<sup>2</sup> ont une évolution similaire de type exponentielle (fig. 1.34A). L'intensité de cette augmentation dépend de la densité à l'ensemencement. Il n'y a pas eu ou très peu de développement phytoplanctonique dans le témoin sans crevette. Cette évolution explique entre 69 et 84% de la variabilité. Les valeurs en fin d'élevage atteignent au maximum 157,5 µg.l<sup>-1</sup> de Chl-a pour le bassin à 30 crevettes au m<sup>2</sup> et 114,4 µg.l<sup>-1</sup> pour le bassin à 21 crevettes au m<sup>2</sup>.

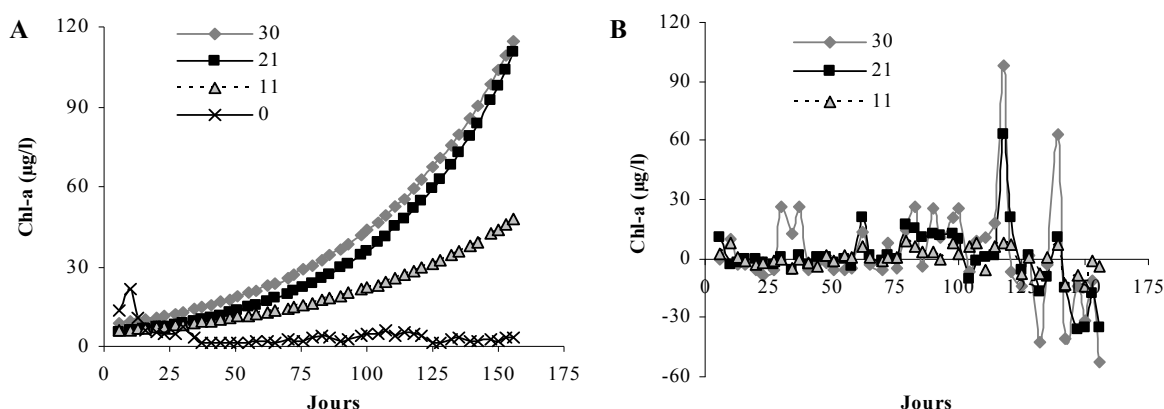


Figure 1.34 : (A) tendance exponentielle calculée à partir de l'évolution des concentrations en Chl-a pour différentes densités ; (B) Ecarts à la tendance exponentielle.

L'étude des écarts montre qu'ils augmentent avec la densité en élevage et plus particulièrement à partir de J100 (fig 1.34B). Ces résultats sont similaires à ceux de Martin et al. (1998). Pour une question de clarté, les données présentées par la suite ne concerneront que deux bassins, le bassin sans crevette et le bassin à 30 an $x$ .m $^{-2}$ .

### Les matières minérales

La figure 1.35 montre l'évolution des concentrations en matières minérales dans le bassin le plus intensifié et dans le bassin témoin sans crevette. L'augmentation des concentrations est exponentielle pour le bassin avec crevettes alors que le bassin sans crevette ne montre pas d'évolution particulière. Cette tendance explique 58% de la variabilité. Les différences d'évolution entre les deux bassins montrent un effet des animaux en élevage sur la concentration en matières minérales.

Les variations autour de la tendance exponentielle pour le bassin à 30 crevettes par m $^2$  (fig. 1.35B) pourraient s'expliquer par les conditions météorologiques de même que les fortes valeurs dans le bassin sans crevette (fig. 1.35A). Les vents sont généralement soutenus en Nouvelle-Calédonie et plus particulièrement pendant la saison chaude. Les variations d'intensités expliquent en partie les écarts à la tendance. Ces observations ne prennent pas en compte son orientation qui pourrait avoir un effet non négligeable sur cette relation (données non montrées).

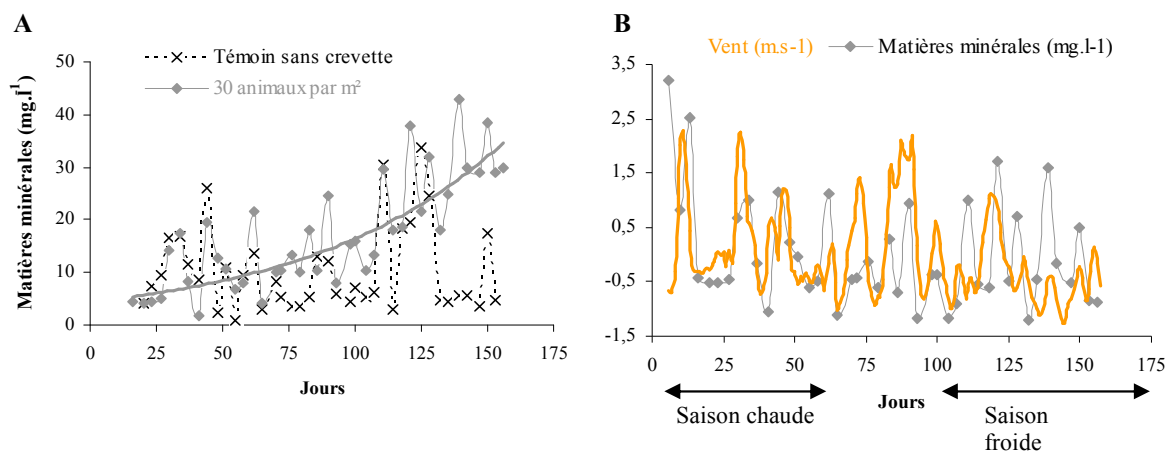


Figure 1.35 : (A) Evolution des concentrations en matières minérales dans un bassin sans crevette et dans un bassin ensémené avec 30 animaux au m $^2$ . (B) Données centrées réduites de l'évolution du vent et des concentrations en matières minérales dans le bassin à 30 crevettes au m $^2$  soustraites de la tendance exponentielle.

## L'oxygène

La minéralisation de la MO accumulée au cours de l'élevage précédent pourrait expliquer la baisse des concentrations en oxygène observée dans un premier temps dans le bassin témoin (fig. 1.36). Une fois les déchets minéralisés, la consommation diminue engendrant une augmentation des concentrations dans ce bassin. Le bassin avec crevettes montre une baisse continue des valeurs. L'apport croissant en MO via l'aliment implique une augmentation de la demande en oxygène du bassin et donc une baisse continue des concentrations matinales.

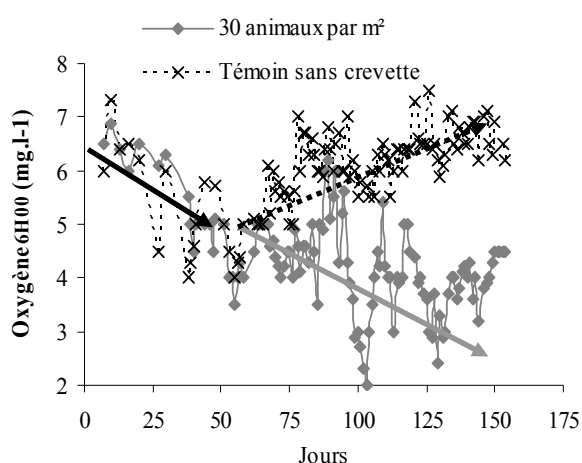


Figure 1.36 : Evolution des concentrations en oxygène à 6h00 dans un bassin sans crevette et dans un bassin ensemencé avec 30 animaux au m<sup>2</sup>.

## Les caractéristiques de l'interface eau – sédiment en fin d'élevage

Les sédiments en fin d'élevage accumulent de la matière organique (PF550°C), de l'azote ammoniacal et l'azote total dissous dans les eaux interstitielles. Cette accumulation est fonction de la quantité d'aliment et donc de la matière organique introduite dans le système (fig. 1.37). De plus, on note pour l'une des expérimentations une augmentation de la variance quel que soit le paramètre suggérant une augmentation de l'hétérogénéité des fonds de bassin. Les résultats de Martin et al. (1998) montrent aussi une augmentation des concentrations en azote total de 1,50 à 2,04 mg.g<sup>-1</sup> de sédiment sec avec l'intensification.

## Synthèse

Une augmentation des densités induit une augmentation de l'eutrophisation avec pour conséquences (i) une dégradation des sédiments proportionnellement plus importante, une augmentation de la variabilité journalière pour l'oxygène et (iii) une baisse des valeurs en oxygène matinales.

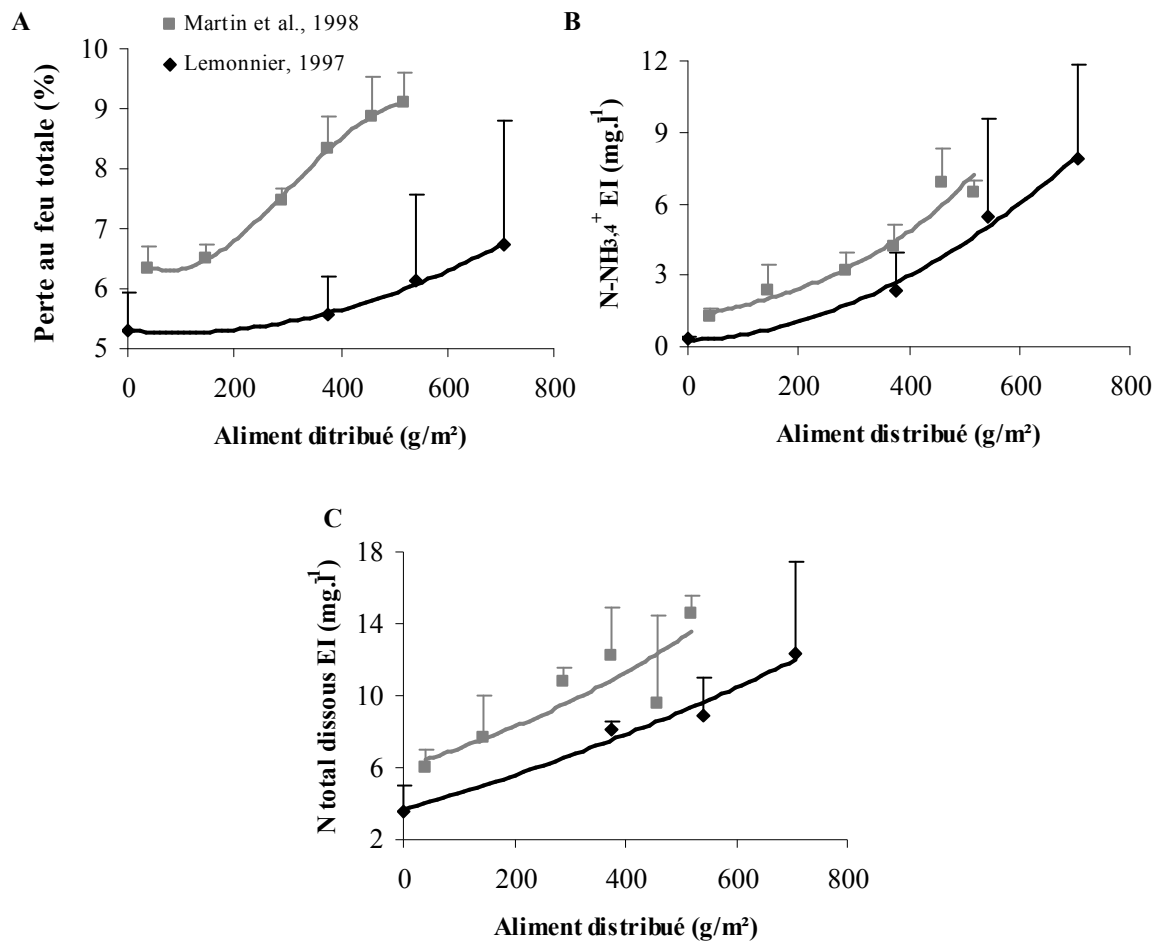


Figure 1.37 : Relations entre la quantité d'aliment distribuée et (A) la perte au feu à 550°C, (B) la concentration en ammoniacque dans les eaux interstitielles EI et (C) la concentration en azote total dissous dans les eaux interstitielles en fin d'élevage.

### 2.3. Bilan de matière

Les résultats présentés ci-dessous ont été intégrés en partie aux publications suivantes :

- Lemonnier H., Faninoz S., 2006. Effects of water exchange rate on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia. *Aquaculture Research*. 37(9) : 938-948.
- Martin JLM., H. Lemonnier et P. Garen, 2004. Influence des pratiques zootechniques et de paramètres environnementaux sur les performances de production et sur la formation et le devenir des déchets dans les élevages de crevettes. *In* : styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Edition Ifremer, Actes Colloq., 38, 134-141.
- Lemonnier H., Martin J.L.M., Brizard R., Herlin J., 2003. Effect of water exchange rate on waste production in semi-intensive shrimp ponds during the cold season in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society* 34(1) : 40-49.

La connaissance du devenir de la matière organique introduite dans un milieu côtier, sur un site d'élevage à l'échelle de la ferme, du bassin ou de la cage est fondamentale pour déterminer les capacités de ce site à assimiler ses déchets et pour rendre pérenne une activité dépendante de son milieu. Pour cela, une méthodologie consiste à établir des budgets en prenant l'azote comme traceur de la matière organique. Ils ont été réalisés pour des élevages de poissons (Avnimelech & Lacher, 1979 ; Krom et al., 1985 ; Porter et al., 1987 ; Daniels & Boyd, 1989 ; Beveridge et al., 1991 ; Hall et al., 1992 ; Acosta-Nassar, 1994), pour des bassins expérimentaux d'élevages intensifs de crevettes (Hopkins et al., 1993), pour des bassins expérimentaux d'élevages semi-intensifs de crevettes (Martin et al., 1998; Lemonnier et al., 2003) et pour des élevages industriels en Thaïlande (Briggs & Funge-Smith, 1994; Thakur & Lin, 2003), en Australie (Jackson et al., 2003), au Bangladesh (Wahab et al., 2003 ; Islam et al., 2004), au Mexique (Paez-Osuna et al., 1997) et au Honduras (Teichert-Coddington et al., 2000). Dans le cas des élevages de crevettes en bassin de terre, une partie des déchets générée par l'élevage sédimente sur les fonds de bassin, conduisant à une accumulation de matière organique dans les sédiments, une autre est rejetée hors des bassins sous forme particulaire ou dissoute dans les effluents. De nombreux facteurs de nature zootechnique influencent la formation et le devenir des déchets. La densité à l'ensemencement et le taux de renouvellement sont les deux paramètres qui ont été particulièrement étudiés de 1992 à 1998 au Laboratoire IFREMER Nouvelle-Calédonie.

**Influence des densités :** Les travaux de Martin et al. (1998) à travers une expérimentation en bassin de terre pour laquelle l'ensemble des paramètres étaient contrôlés et similaires (temps d'élevage, renouvellement de l'eau, période d'élevage...) montrent que la taille des crevettes mais aussi la quantité de déchets générés par kg de crevettes produits sont inversement proportionnels aux densités d'élevage. L'influence de la densité d'élevage sur le devenir des déchets a fait l'objet d'un nombre restreint d'études (Briggs & Funge-Smith, 1998 ; Martin et al., 1998 ; Funge-Smith & Briggs & 1998). Il ressort de ces études que l'augmentation de la densité d'élevage a pour conséquences de diminuer la proportion d'azote lié au granulé de nourriture assimilée par la crevette (diminution du FCR), de



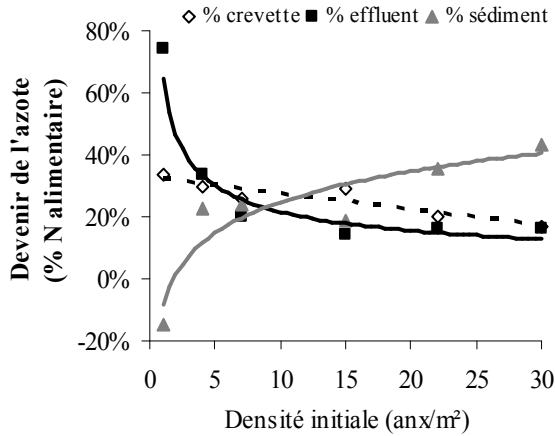


Figure 1.38 : Proportions relatives des déchets azotés dans les différents compartiments du bassin d'élevage en fonction des densités à l'ensemencement. % N alimentaire exprime le pourcentage de déchets de chacun des compartiments par rapport à la quantité total d'azote ajouté sous forme d'aliment (D'après Martin et al., 1998)

favoriser l'accumulation des déchets organiques dans le sédiment, et de diminuer la proportion exportée par l'eau lors des opérations de renouvellement de celle-ci. Ceci est exprimé sur la figure 1.38. En guise de conclusion, il ressort que lorsque la densité d'élevage de crevettes augmente, (1) il faut fournir plus de nourriture pour la production d'une même biomasse de crevettes, (2) à biomasse produite égale, il faut fournir plus de nourriture pour obtenir des crevettes de même taille, (3) la proportion de déchets générés par kg de crevettes produit augmente, (4) pour une même quantité de déchets produits, la proportion accumulée dans le sédiment augmente, alors que la quantité exportée par l'eau d'évacuation des bassins diminue.

**Influence des renouvellements :** En été, les bilans montrent que l'augmentation des renouvellements favorise l'exportation des déchets azotés dans les effluents. Toutefois, la relation est de type

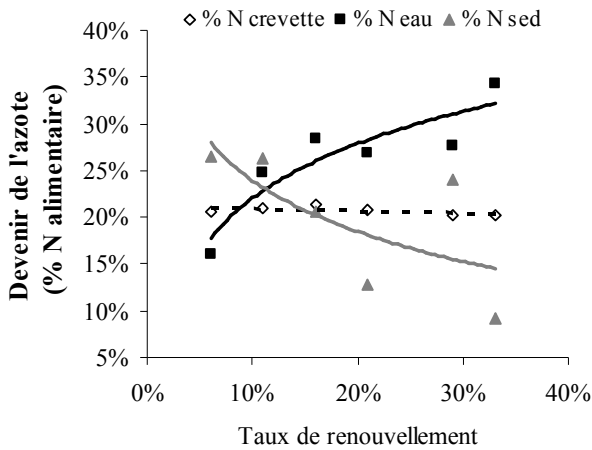


Figure 1.39 : Proportions relatives des déchets azotés dans les différents compartiments du bassin d'élevage en fonction des taux de renouvellement.

logarithmique, ce qui implique une dépense énergétique très importante via le pompage pour un gain d'épuration du milieu d'élevage faible. En final, entre 19 et 46% de l'azote introduit dans le milieu d'élevage (aliment + eau) est rejeté vers l'environnement limitrophe. Un renouvellement trop faible limite les exportations des déchets vers le milieu extérieur au profit d'une accumulation azotée dans les sédiments. Ainsi 25% de l'azote introduit dans le milieu d'élevage a été retrouvé dans les sédiments. Pour des renouvellements plus importants, les dépôts azotés représentent moins de 20% des apports. La proportion (%) d'azote évacué par diffusion ou

par dénitrification vers l'atmosphère diminue de 36% à 22% avec l'augmentation des échanges d'eau. Le pourcentage d'azote transformé en chair de crevettes a des implications importantes en termes de

qualité d'eau mais aussi de rentabilité des élevages. Les résultats indiquent qu'environ 20% de l'azote introduit dans le système sous forme d'aliment est retrouvé sous forme de crevettes quel que soit le taux de renouvellement. Ce pourcentage est similaire aux valeurs obtenues en élevage intensif en Thaïlande (Briggs & Funge-Smith 1994) et en Australie (Jackson et al., 2003).

**Evolution temporelle des bilans** (fig. 1.40) : Un bilan négatif signifie une évacuation de l'azote hors de l'écosystème par les effluents. Au cours des 40 à 50 premiers jours, le bassin évacue plus qu'il n'accumule. C'est une phase d'épuration. Cette période s'accompagne d'une amélioration de la qualité des sédiments avec une augmentation du potentiel d'oxydoréduction et une diminution des concentrations en ammoniacque dans l'eau interstitielle du sédiment superficiel (fig. 1.33). Cette phase permettrait de poursuivre la minéralisation de la matière organique accumulée au cours de l'élevage précédent et d'évacuer les excédents de déchets. On peut estimer que le bassin n'accumule pas de déchets pour une quantité d'aliment distribuée inférieure à  $2 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ . Le temps de résidence de l'azote (TN) a été calculé selon la formule suivante :  $\text{TN} = \text{N}_{\text{aliment}} / (\text{N}_{\text{assimilé par les crevettes}} + \text{N}_{\text{évacué par l'eau}})$ . Il augmente dans le temps pour atteindre 3 à 4 jours. Il est supérieur dans le bassin le moins renouvelé.

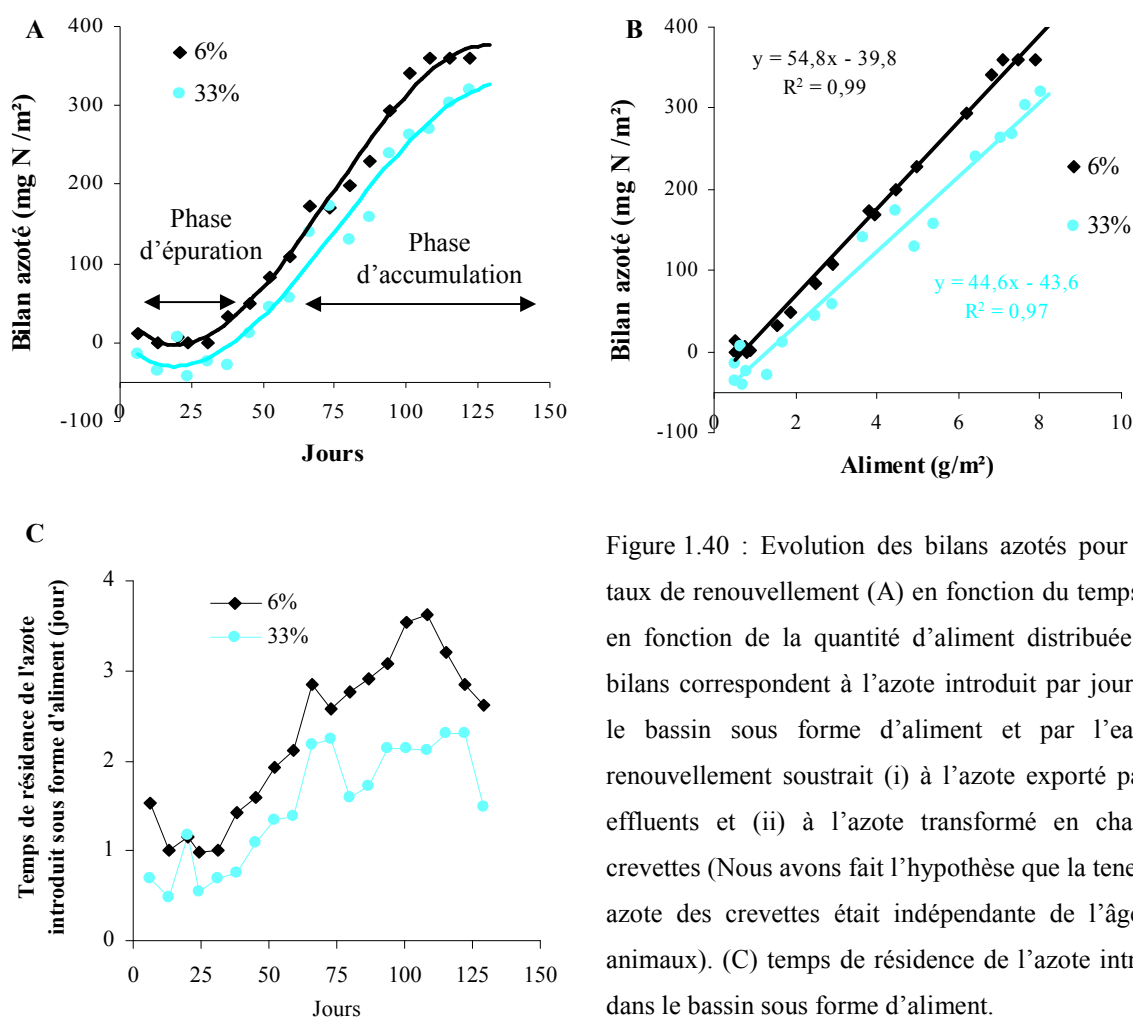


Figure 1.40 : Evolution des bilans azotés pour deux taux de renouvellement (A) en fonction du temps, (B) en fonction de la quantité d'aliment distribuée. Ces bilans correspondent à l'azote introduit par jour dans le bassin sous forme d'aliment et par l'eau de renouvellement soustrait (i) à l'azote exporté par les effluents et (ii) à l'azote transformé en chair de crevettes (Nous avons fait l'hypothèse que la teneur en azote des crevettes était indépendante de l'âge des animaux). (C) temps de résidence de l'azote introduit dans le bassin sous forme d'aliment.

### **3. Influence des pratiques zootechniques et de l'âge des bassins sur les caractéristiques sédimentaires**

Les résultats présentés dans ce paragraphe ont fait l'objet de publications et de présentations dans des congrès internationaux. Les références sont les suivantes :

Lemonnier H., R. Brizard et A. Legrand, 2004. Influence des pratiques zootechniques de la crevette (*Litopenaeus stylirostris*) et de l'âge des bassins sur la qualité des sédiments. In : styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Edition Ifremer, Actes Colloq., 38, 180-186.

Lemonnier H., Brizard R., Mugnier C., Herlin J., 2002. Evolution of shrimp production and pond bottom in a semi-intensive system. *World Aquaculture* 33(2).

Lemonnier H., Brizard R., Herlin J., Mugnier C., 2001. Sediment accumulation in shrimp earthen pond bottoms in New Caledonia. *Advocate*: 4(5). pp79.

Lemonnier H., Brizard R., 2001. Number of shrimp crops and density shrimp effect on sediment accumulation on earthen pond bottom. "The International triennial conference and exposition of World Aquaculture Society", January 21-25, 2001 Orlando USA. Poster.

Lemonnier H., Brizard R., 2001. Evolution of pond bottom and production in a semi-intensive shrimp pond. "The International triennial conference and exposition of World Aquaculture Society", January 21-25, 2001 Orlando USA. Poster.

Lemonnier H. and Brizard R., 1999. Effect of the first shrimp rearing on the earthen pond bottom. *International World Aquaculture '99* "Bridging the gap" 26 april – 2 may 1999, Sydney, Australia. Communication orale.

Lemonnier H., Brizard R., 1997. Impact d'un premier élevage de crevettes pénéides sur le fond du bassin. Rapport Interne de la Direction des Ressources Vivantes de l'IFREMER DRV/RA/RST/97-18. 31p.

#### **3.1. Caractéristiques sédimentaires des bassins de production à la pêche finale**

Une dégradation de la qualité des fonds de bassin avec le nombre d'élevages est souvent mise en cause par les biologistes des fermes d'élevage de crevettes de Nouvelle-Calédonie pour expliquer une baisse de production, qu'elle soit associée ou non à une pathologie. Initialement, les bassins sont construits en arrière de mangrove par des levées de digues. Les fonds sont généralement constitués sur leur plus grande partie d'un sol argilo-limoneux à argileux, jaune à marron, compact et imperméable. A la première vidange, on observe une accumulation de sédiment sur le fond initial du bassin ayant pour origine l'érosion des digues (Boyd, 1995). Elle a été estimée à 2,0 cm après un premier élevage dans un bassin de Nouvelle-Calédonie. Au cours de l'assec suivant, l'aquaculteur effectue un labour plus ou moins profond en fonction des zones et mélange ainsi du sol initial avec du sédiment provenant des digues. Au cours du second élevage, l'érosion des digues semble se poursuivre et implique un apport de matière supplémentaire. Lors des élevages suivants, l'apport par les digues devenant négligeable, l'envasement n'augmente plus significativement avec le nombre de cycles de production.

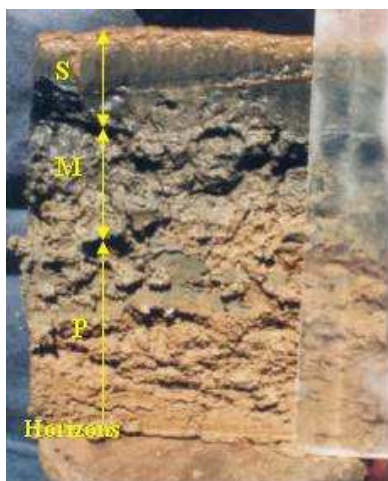


Figure 1.41: Carotte sédimentaire type montrant les différents horizons.

En fin d'élevage, les sédiments des bassins ont des horizons distincts à l'image de ce que l'on observe pour les sols terrestres (fig. 1.41). Trois horizons principaux ont été distingués : les horizons S (superficiel), M (mature) et P (Profond). Leur dénomination est adaptée de l'étude réalisée par Munsiri et al. (1995) sur des bassins de production de poissons. L'horizon superficiel (S) est généralement de couleur noire sur une épaisseur de 1 à 3 cm. L'horizon intermédiaire (M), plus profond, gris à noir, est d'épaisseur variable en fonction de la station d'échantillonnage. L'horizon profond (P) est compact et généralement de couleur marron. Il correspond au sol initial du fond de bassin, non perturbé.

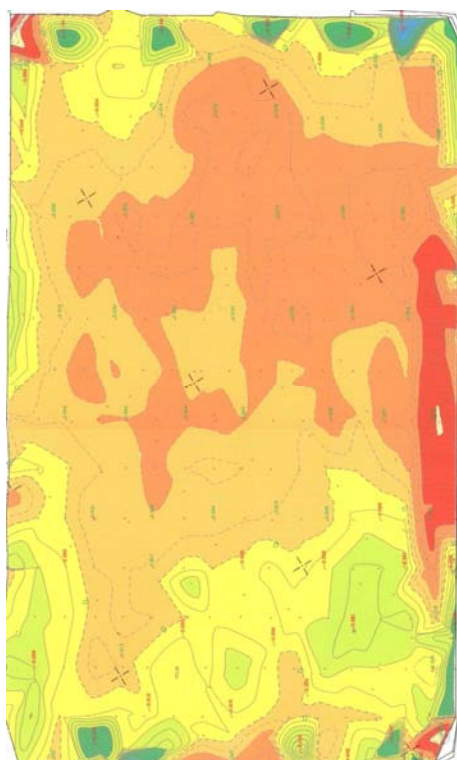


Figure 1.42 : cartographie au 1/1000<sup>ème</sup> des différences topographiques établies entre le sol avant le 1<sup>er</sup> élevage et après 7 élevages. Les zones de couleur orange et rouge sont les zones de sédimentation ; les autres couleurs représentent les zones d'érosion.

Les bassins calédoniens ne montrent généralement pas d'envasement en relation avec le nombre d'élevages. Une réorganisation des sols peut être observée avec des zones d'accumulation et d'érosion, aussi bien pour des élevages intensifs que semi-intensifs (fig. 1.42). Une diminution de la perte au feu totale (Pf350°C) et de la porosité de l'horizon intermédiaire (M) par rapport à l'horizon profond (P) a été mesurée en relation avec le nombre d'années d'élevage, suggérant un tassement des sols dans le temps. Aucun enrichissement organique de l'horizon M n'a été observé en fonction de l'âge des bassins. La figure 1.43 présente l'enrichissement organique de l'horizon S en fonction des indices de conversion (Rapport entre la quantité d'aliment distribuée et la quantité de crevette produite). On note un enrichissement important dans deux cas distincts : les bassins à fort rendement et les bassins dont l'indice de conversion est élevé. La quantité de MO accumulée peut être estimée respectivement à 240 et à 120 g.m<sup>-2</sup>. Les bassins intermédiaires accumulent beaucoup moins de matière organique, soit environ 40 g.m<sup>-2</sup>. Cet enrichissement a pour origine l'élevage lui-même et cette MO peut être considérée comme fortement labile (Munsiri et al., 1995 ; Sonnenholzner & Boyd, 2000).

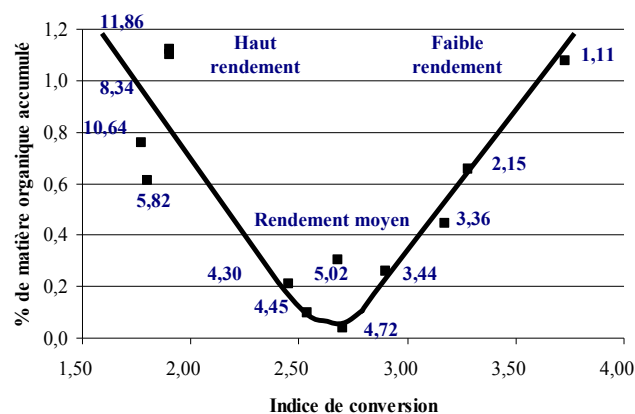


Figure 1.43 : Bilan de matière organique de l'horizon S par rapport à l'horizon M en fonction des indices de conversion du dernier élevage. Les chiffres en bleu correspondent aux rendements en t/ha/an du dernier élevage.

Les sédiments à l'interface eau - sédiment (premier cm) (IES) des bassins intensifs (densité > 30  $\text{anx.m}^{-2}$ ) présentent en général des concentrations en azote ammoniacal total plus élevées, des pH *in situ* et des potentiels d'oxydoréduction plus faibles que les bassins semi-intensifs (densité autour de 20  $\text{anx.m}^{-2}$ ). Une analyse factorielle discriminante réalisée sur une matrice des 9 paramètres x 127 observations (Fig. 1.44) a montré que les deux premiers axes factoriels représentaient respectivement 40 et 20% de la variabilité. La première composante principale est fortement corrélée à la concentration en ammoniacque et inversement corrélée au potentiel d'oxydoréduction et traduit

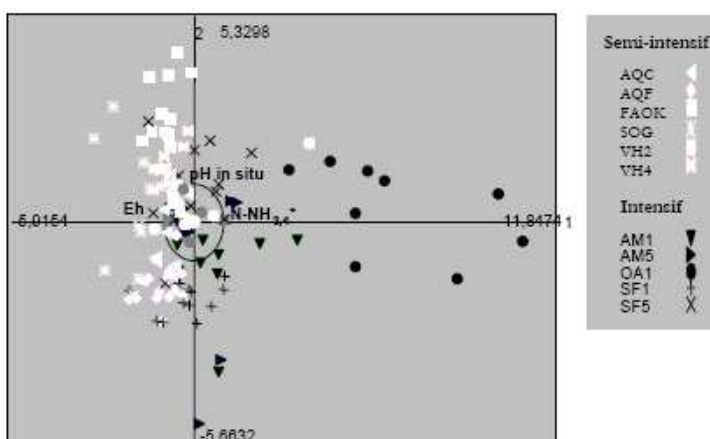


Figure 1.44 : Cercle de corrélation et plan factoriel 1-2 de l'AFD menée sur les 9 variables (perte au feu totale, matière organique, densité, porosité, pH, teneur en eau pH *in situ*,  $\text{N-NH}_{3,4}^+$ , potentiel d'oxydo-réduction (Eh) et les 127 observations à l'IES.

l'opposition entre les deux paramètres. La seconde composante est corrélée au pH relevé *in situ*. La position des individus permet de distinguer deux groupes en fonction de l'axe horizontal : les individus issus du système intensif, fort producteur de déchets et les individus issus du système semi-intensif avec une plus faible production de déchets. La seconde composante principale dont l'importance est deux fois moindre permet de dissocier les bassins au sein de l'un des deux systèmes : intensif et semi-intensif. Dans le cadre du système semi-intensif, les bassins d'une même ferme (VH et AQ) ont des caractéristiques proches suggérant ainsi un effet ferme. Il est à noter généralement une plus faible variabilité intra bassin pour les bassins semi-intensifs que pour les bassins intensifs. Les sédiments des bassins intensifs se révèlent plus dégradés (pH *in situ*, ammoniacque, Eh) en fin d'élevage que les bassins semi-intensifs. L'intensification pourrait être à l'origine de conditions stressantes des animaux en élevage d'autant plus dangereuse qu'elle cumule les facteurs négatifs.

### 3.2. Influence de l'enrichissement organique sur les caractéristiques sédimentaires

Un échantillonnage a été conduit sur 10 stations dans un nouveau bassin avant et après un premier élevage de type intensif. Plus de 95% du sédiment accumulé est issu de l'érosion des digues. Cette accumulation se caractérise par un dépôt de particules fines (argiles et limons fins) associées à une teneur en eau et en MO élevée. L'augmentation de MO a comme première conséquence une diminution du potentiel d'oxydoréduction sur la colonne sédimentaire et conduit à des conditions anoxiques sous une couche superficielle de quelques millimètres bien oxydée.

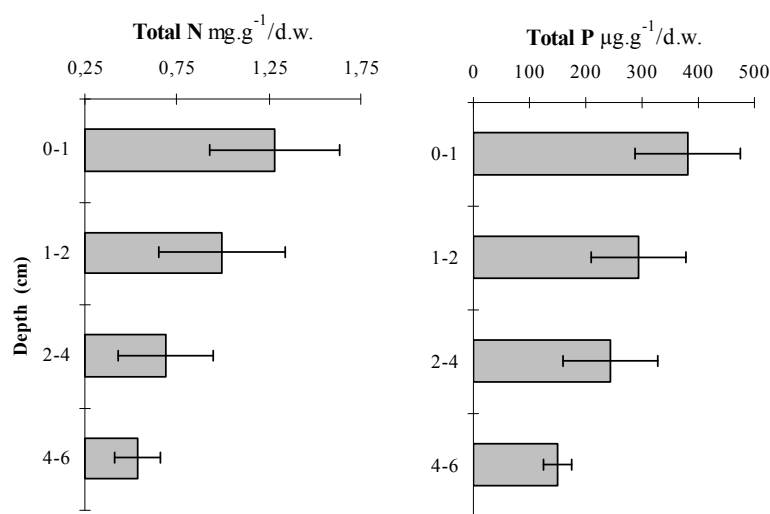


Figure 1.45 : Concentrations moyennes et écart-types en azote total et en phosphore total en fonction de la profondeur après un premier élevage (N=10).

La dégradation de la matière organique en produits inorganiques, processus appelé minéralisation, est principalement effectuée par oxydation microbienne. Cette minéralisation produit du CO<sub>2</sub>, des composés azotés et des composés phosphorés. Les principaux composés azotés permettent de "tracer" le devenir de la matière organique. La figure 1.46 présente le cycle de l'azote dans les sédiments marins schématisé par Marty et al. en 1989. Les différentes étapes de minéralisation conduisent à la production d'azote organique, d'ammoniaque, de nitrites et de nitrates. Ces différents composés ont été dosés dans l'eau interstitielle du sédiment. Il est à noter que la fraction azotée de l'eau interstitielle ne représente, au maximum que 1% de l'azote total du sédiment. A l'interface eau - sédiment (premier cm), la richesse en MO varie en fonction de la station échantillonnée et les taux de MO sont corrélés aux produits résultants de sa dégradation (tab. 1.1). Ainsi, une augmentation de la MO entraîne une augmentation dans l'eau interstitielle des concentrations en azote organique, en azote ammoniacal et en nitrates-nitrites. Le rapport  $(N-NO_2+N-NO_3)/N-NH_4$ , qui exprime le rapport entre les formes oxydées

et réduites des sels minéraux azotés montre que les formes oxydées sont très peu représentées (0,3% au maximum de ces sels) à l'interface eau-sédiment. Ce rapport diminue avec l'augmentation de MO et d'azote dans le sédiment. Parallèlement, l'augmentation de MO a pour conséquence une diminution du potentiel d'oxydoréduction.

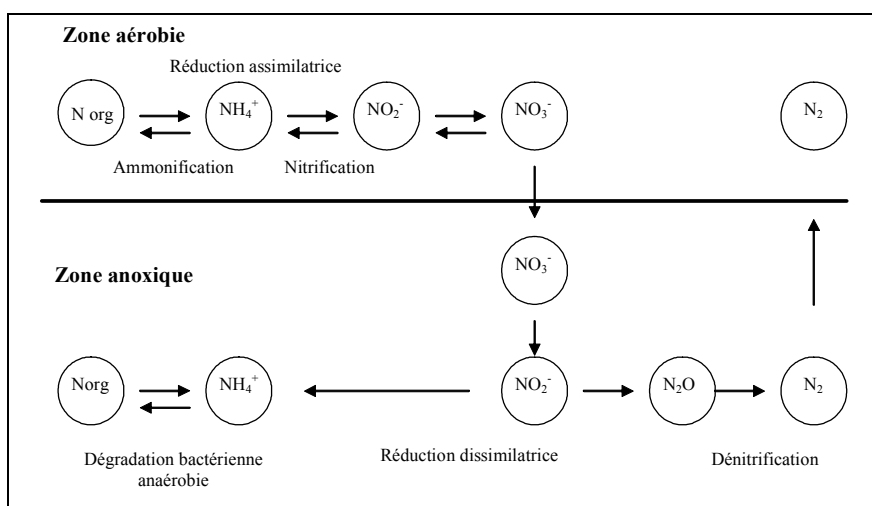


Figure 1.46 : Cycle de l'azote dans les sédiments marins selon Marty et al., 1989.

Dans les sédiments, les accepteurs terminaux d'électrons utilisés dans la décomposition de la matière organique sont par ordre décroissant d'efficacité : l'oxygène, le nitrate, le sulfate et le carbonate (Marty et al., 1989). Cette succession s'accompagne d'une diminution du potentiel d'oxydoréduction. Des potentiels de +100 mV et de -200 mV correspondent respectivement à l'utilisation des nitrates et des sulfates comme accepteurs terminaux d'électrons. Dans le premier cas, nous assistons au développement de bactéries dénitrifiantes, dans le second cas à des bactéries sulfato-réductrices. Dans notre étude, la diminution du redox montre que l'apport en oxygène n'est pas suffisant pour une minéralisation aérobie. Il varie entre -70 et +53 mV et serait inférieur au seuil de conservation des nitrates (Patrick & Mahapatra, 1968). Ces valeurs suggèrent une dégradation anaérobie de la MO par réduction des sulfates. Il y aurait création de composés sulfurés toxiques pour le milieu dont une partie diffuserait dans l'eau. Une partie des sulfures pourrait précipiter avec le fer pour former de la pyrite (Jorgensen, 1997 ; Blackburn & Blackburn, 1993). C'est un composé qui à la suite de l'assec acidifie les sols par formation d'acide sulfurique. L'augmentation de la matière organique entraîne donc une diminution du potentiel d'oxydoréduction ( $r=-0,81$ ) et par la même une augmentation des concentrations des composés azotés réduits au détriment des formes oxydées (fig. 1.47).

Tableau 1.1 : Résumé des différentes corrélations (n=10) entre la perte au feu 550°C, le potentiel d'oxydoréduction (Eh), la densité, le pH, l'azote total du sédiment (N tot.), l'azote organique dans l'eau interstitielle (N org EI), l'azote ammoniacal de l'eau interstitielle (N-NH4 EI) et les formes oxydées azotées de l'eau interstitielle (N-NO23 EI) de dix échantillons prélevés à l'interface eau-sédiment (horizon 0-1 cm) dans un bassin neuf après un premier élevage.

	PF	Eh	pH	N <sub>t</sub>	N org EI	N-NH <sub>34</sub> <sup>+</sup> EI	N-NO <sub>23</sub> <sup>-</sup> EI
PF	-						
Eh	<b>-0,81</b>	-					
pH	<b>-0,78</b>	<u>0,69</u>	-				
N <sub>t</sub>	<b>0,86</b>	<u>-0,66</u>	<u>-0,73</u>	-			
N org EI	<u>0,68</u>	-0,32	-0,35	0,57	-		
N-NH <sub>34</sub> <sup>+</sup> EI	<b>0,86</b>	<u>-0,70</u>	<b>-0,81</b>	<b>0,83</b>	<u>0,68</u>	-	
N-NO <sub>23</sub> <sup>-</sup> EI	<u>0,75</u>	<u>-0,69</u>	-0,27	0,61	0,63	0,49	-

Les coefficients de corrélation en gras et soulignés sont respectivement significatifs à la probabilité de 1% et de 5%. Les coefficients de corrélation en italiques ne sont pas significatifs.

Le rapport (NH<sub>3,4</sub> de l'eau interstitielle / N total de l'eau interstitielle) qui exprime une augmentation de la proportion de la forme ammoniacale au détriment de l'azote organique (les formes minérales oxydées étant considérées dans ce cas comme négligeables) augmente avec le taux de MO et d'azote dans les sols (fig. 1.47C). Ce rapport suggère un piégeage de l'ammoniaque dans les sédiments avec l'accumulation de MO.

En conclusion : L'augmentation de MO aurait donc pour conséquences :

- une diminution du potentiel d'oxydoréduction,
- une augmentation des concentrations en azote ammoniacal,
- une augmentation des concentrations en azote nitreux,
- une diminution du rapport (N-NO<sub>2</sub>+N-NO<sub>3</sub>)/N-NH<sub>4</sub>.

L'ensemble de ces résultats suggère qu'une augmentation de la MO induit un arrêt progressif de sa minéralisation après l'ammonification et/ou une dénitrification assimilatrice (Senez, 1968) des formes oxydées azotées en ammoniaque.



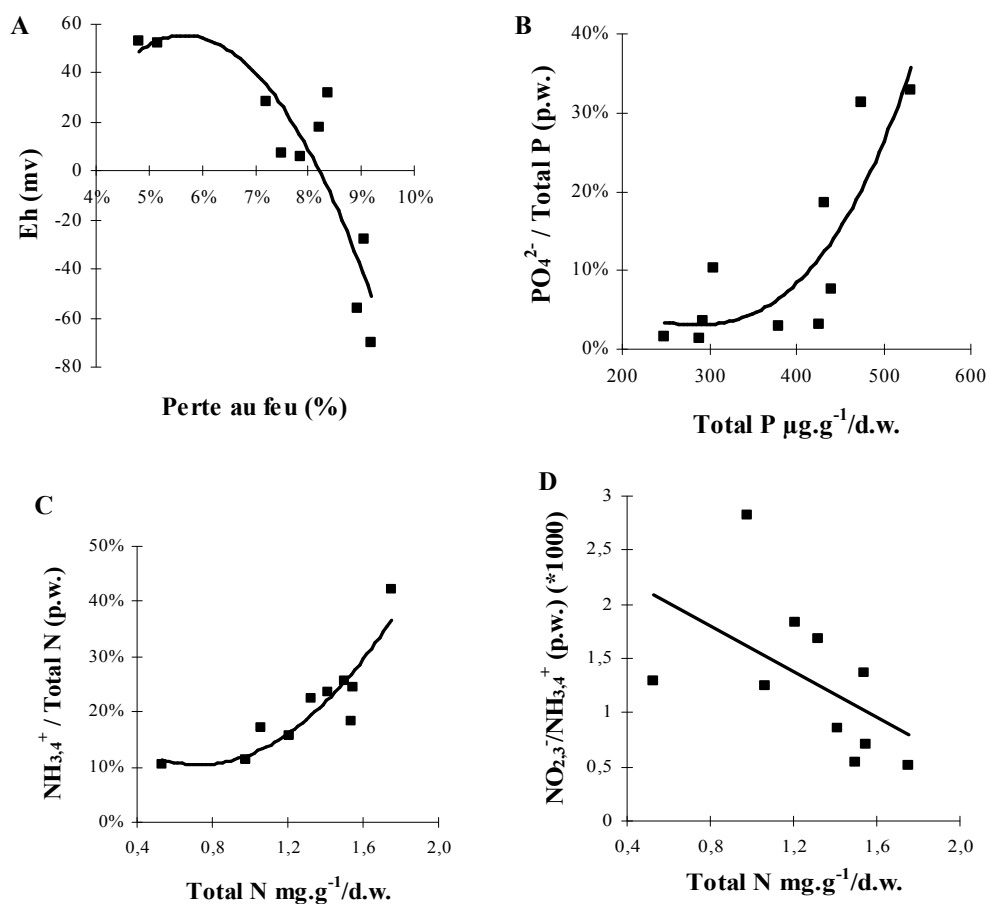


Figure 1.47 : Relations (A) entre la perte au feu et le potentiel d'oxydoréduction, (B) entre le phosphore total du sédiment et le rapport  $\text{PO}_4/\text{P}$  total de l'eau interstitielle, (C) entre l'azote total du sédiment et le rapport  $\text{N-NH}_{3,4}/\text{N}$  total de l'eau interstitielle et (D) entre l'azote total du sédiment et le rapport  $\text{N-NO}_{2,3}/\text{N-NH}_{3,4}$  de l'eau interstitielle.

## 4. Schéma conceptuel

L'écologie des bassins d'élevage est dominée par l'apport organique croissant apporté par l'éleveur sous forme d'aliment (fig. 1.48). Toutefois, les résultats présentés dans ce chapitre

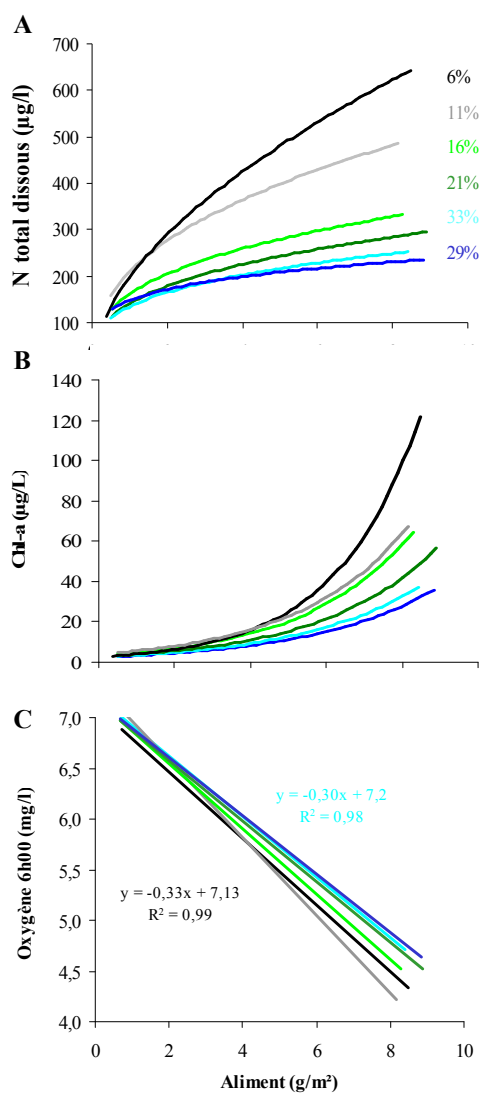


Figure 1.48 : Evolution des tendances pour les concentrations (A) en azote total dissous (NTD), (B) en Chl-a ; (C) en oxygène dissous le matin en fonction de la quantité d'aliment distribuée et pour différents taux de renouvellement.

suggèrent l'existence de 2 phases distinctes : une phase courte (< 50 jours) de remédiation pendant laquelle on observe une amélioration de la qualité des sédiments (Eh,  $[\text{NH}_4^+]$ ) suivie d'une phase d'accumulation des déchets, accumulation d'autant plus forte que l'élevage est intensif et d'autant moins forte que le bassin est renouvelé. La première phase permet de transformer et d'évacuer du bassin une partie des déchets accumulés au cours de l'élevage précédent avant d'accumuler les déchets de l'élevage en cours. **Cet agrosystème passe ainsi d'un état quasi – « oligotrophe »<sup>7</sup> à un état eutrophe voir hyper-eutrophe.** Ce processus d'eutrophisation induit une augmentation (i) de la concentration en matière organique dans la colonne d'eau et (ii) de la sédimentation sur le fond du bassin. Le temps de résidence de l'azote augmente progressivement au cours de l'élevage passant de 1 à 3 ou 4 jours.

En milieu marin, le fonctionnement des écosystèmes est régi par un équilibre entre autotrophie et hétérotrophie, contrôlé par les énergies primaires (soleil) et auxiliaires (vent, aération...). **La colonne d'eau évolue vers une autotrophie croissante alors que le sédiment lui devient de plus en plus hétérotrophe au fur et à mesure que l'élevage progresse** (fig. 1.49). On assiste à une spécialisation de chaque compartiment. Ils interagissent continuellement, l'un apportant à l'autre sa matière organique et l'autre ses sels minéraux. La bioturbation par les crevettes,

<sup>7</sup> Toute proportion gardée, sachant que les eaux oligotrophes du large sont d'un ordre de grandeur plus pauvre (Chl-a < 0,2 µg.l<sup>-1</sup>).

processus qui s'amplifie avec la taille des animaux va favoriser les échanges entre la colonne d'eau et le sédiment. Il n'y a généralement pas de stock en sels minéraux dans la colonne d'eau permettant de soutenir les biomasses phytoplanctoniques mesurées. Les sels nutritifs sont issus (i) de la minéralisation de la matière organique particulaire accumulée dans la colonne d'eau et dans les sédiments, et (ii) de l'excrétion des animaux élevés (Hargreaves, 1998 ; Burford & Longmore, 2001 ; Burford et al., 2003). Ils sont « instantanément » consommés par les producteurs primaires.

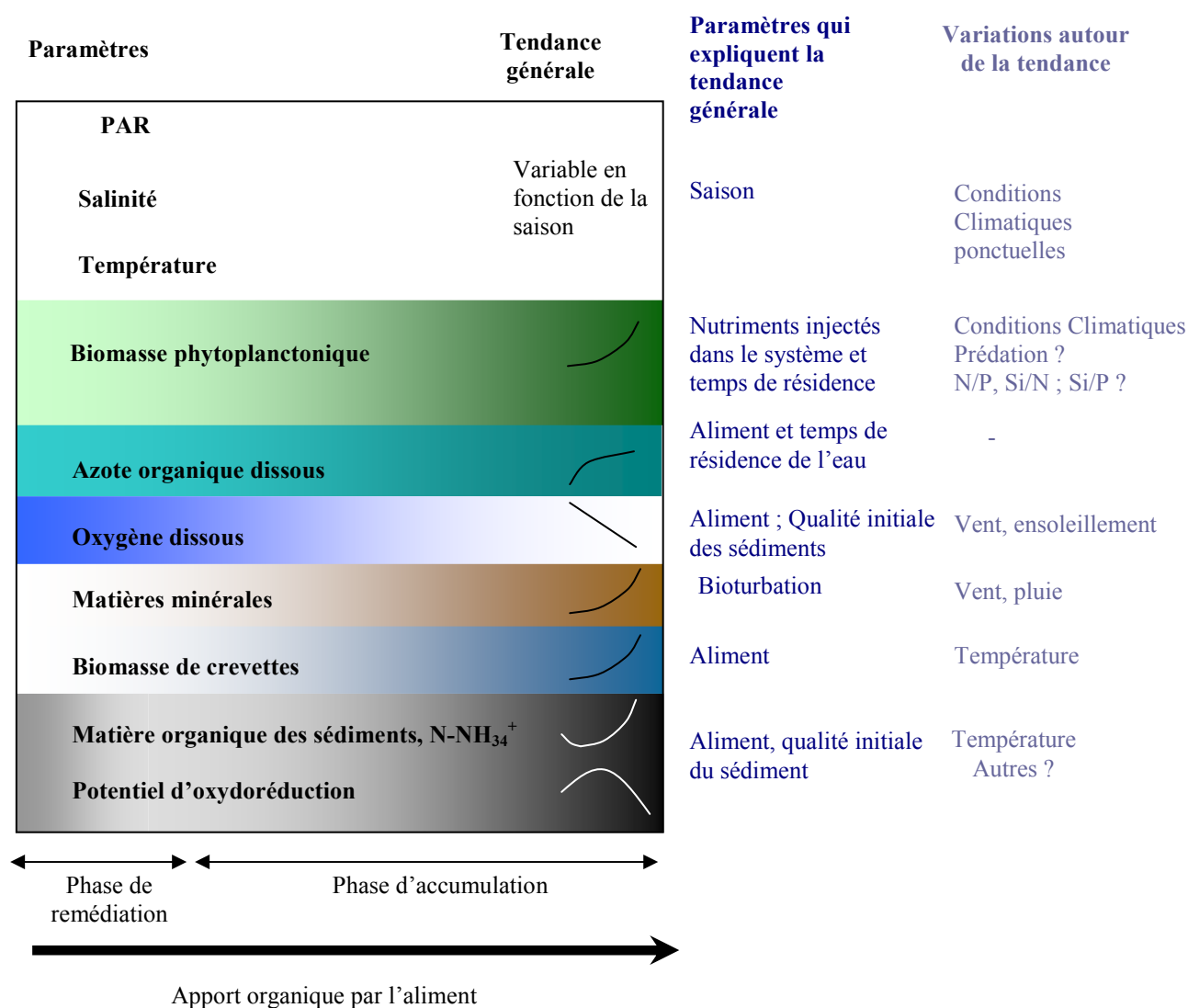


Figure 1.49 : Evolution des tendances à l'échelle de l'élevage pour les paramètres les plus couramment mesurés dans la colonne d'eau et dans les sédiments.

Après 50 jours d'élevage, la qualité du milieu se dégrade au fur et à mesure que l'élevage progresse avec une baisse de l'oxygène le matin et une baisse du potentiel d'oxydoréduction favorisant la production de composés azotés (NH<sub>34</sub><sup>+</sup>) et parfois soufrés (H<sub>2</sub>S). Au sein d'un même bassin, les paramètres mesurés dans les sédiments deviennent de plus en plus variables, d'autant plus que

l'élevage progresse et qu'il est intensifié. A l'extrême, des crises d'anoxies apparaissent et engendrent de fortes mortalités.

Si l'aliment est la variable forçante dominante, l'éleveur peut avoir recours à d'autres variables dites secondaires pour maîtriser son milieu d'élevage. Une dilution du milieu par des renouvellements en eau permet de diminuer le niveau d'eutrophisation du milieu. L'aération prévient les crises d'anoxie et permet de repousser les limites du système. D'autres variables secondaires vont jouer un rôle non négligeable sur le fonctionnement de l'écosystème bassin sur lesquelles l'aquaculteur a peu d'emprise. Tous les compartiments du bassin subissent les forçages météorologiques. La température, l'ensoleillement et le vent (force et direction) vont être à l'origine de fluctuations plus ou moins marquées. Les taux de croissance des crevettes mais aussi du phytoplancton sont par exemple fortement dépendants de la température. Il en est de même pour le taux de minéralisation de la matière organique. La vitesse des processus est température dépendante sachant qu'un écart d'environ 10°C existe entre les deux saisons. La remise en suspension des sédiments est fortement influencée par le vent, composante majeure du climat calédonien. Ces différentes variables pourraient expliquer en partie les variations observées autour de la tendance générale pour les différents paramètres analysés.

## Chapitre 2 : Etude historique des deux syndromes

Certains résultats de ce chapitre ont été intégrés dans une publication présentée en annexe 2. La référence de ce travail est la suivante :

**Lemonnier H.**, Herbland A., Salery L., Soulard B., 2006. "Summer syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* grow out ponds in New Caledonia: zootechnical and environmental factors. *Aquaculture* 261 : 1039-1047.

### 1. Introduction

Les deux syndromes apparaissent comme des résultantes d'un grand nombre possible de paramètres ou facteurs du système d'élevage. L'hypothèse principale du programme DESANS était de considérer ces maladies comme des pathologies multifactorielles. Historiquement, l'émergence des pathologies multifactorielles ou complexes pathologiques est associée à l'intensification des productions animales. Cela se traduit par une augmentation des effectifs, un confinement des animaux, une standardisation des pratiques et du matériel génétique animal, l'ensemble modifiant significativement l'environnement des individus (Faye et al., 1994). Ces maladies ne répondent pas dans ce cas au schéma pasteurien classique : « un agent pathogène = une maladie ». L'accumulation de facteurs défavorables, notamment dans des écosystèmes fragiles est particulièrement propice à l'exaltation de la virulence de nombreux agents infectieux endogènes (Berthe, 1995).

Le concept d'écopathologie a été défini comme l'étude des relations complexes existant entre l'environnement (c'est-à-dire l'ensemble des conditions géoclimatiques et technico-économiques auxquelles sont confrontés l'éleveur et son cheptel) et les états pathologiques survenant au sein du troupeau (Faye, 1986 ; Barnouin et al., 1988). Le principal objectif de l'écopathologie qui est une branche de l'épidémiologie analytique consiste à rechercher les facteurs de risque des maladies (Faye et al., 1994). Les facteurs de risque se définissent comme des caractéristiques de l'environnement ou de l'individu, contrôlables par l'homme, qui lorsqu'elles sont présentes et peuvent s'exprimer au sein d'une population ou d'un système, augmentent la probabilité d'apparition et de développement d'un état pathologique ou d'une association d'états. Il faut dissocier la notion de facteur de risque et la notion de marqueur de risque qui est une caractéristique non modifiable de l'individu, qui représente un risque en soi (tel que l'âge ou le sexe), associée indirectement à une maladie donnée, mais dont la relation causale est exclue (Jénicek & Cléroux, 1982).

Les sources d'informations peuvent être multiples et utilisées pour des analyses typologiques, rétrospectives (état des lieux des élevages, structure des exploitations, passé sanitaire...) et prospectives (relevé régulier des événements, suivi des pratiques évolutives). Dans le cadre de ce

chapitre, l'analyse a été réalisée de manière rétrospective après collecte d'informations sur les fermes de Nouvelle-Calédonie.

L'objectif de ce second chapitre est d'identifier les facteurs permettant l'émergence et l'intensification de ces maladies. Un premier volet analyse l'évolution des pratiques zootechniques de la filière entre 1987 et 2004. L'objectif étant de replacer l'apparition des vibrioses dans un contexte plus général. Le deuxième et le troisième volet sont respectivement ciblés sur le syndrome 93 et le syndrome d'été. Les travaux présentés ci-dessous doivent être considérés comme un premier pas dans le domaine de l'écopathologie des élevages de crevettes.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Informations issues des fermes

Une base de données a été établie à partir des résultats zootechniques de chaque élevage réalisé entre 1983 et 2004 inclus. Nous avons répertorié 1452 élevages. Cette base a été construite à l'aide des rapports d'activité de l'IFREMER (de 1984 à 1999) et du Groupement des Fermes Aquacoles (GFA) (de 2000 à 2005) et d'informations récoltées directement auprès des éleveurs. Après une première analyse, il n'a été retenu que les élevages réalisés après 1987 dans les principaux bassins de production (985 élevages). En effet, pour une question d'homogénéité, les données provenant des bassins expérimentaux du site IFREMER (N = 288), d'élevages mixtes, d'élevages avec prégrossissement (N=50)<sup>8</sup> et des bassins de petites tailles ont été supprimées. Les données étaient incomplètes pour des élevages de la ferme la Sodacal sur la saison 1997-1998 (N=12). Les données de production de la ferme Aquamon de 1996 à 1998 n'ont pu être incluses dans la base soit environ une vingtaine d'élevages.

Les informations sur les élevages sont les suivantes (SASV, 1991) :

- Durée de l'assec en jours,
- Date de l'ensemencement,
- Date de la pêche finale,
- Durée de l'élevage en jours,
- Densité à l'ensemencement exprimée en nombre de crevettes par m<sup>2</sup>,
- Poids moyen pondéré à la pêche en g,
- Quantité pêchée en tonnes,
- Survie finale en % (nombre d'animaux pêchés sur le nombre total d'animaux ensemencés),
- Aliment total distribué en tonnes,

---

<sup>8</sup> Exception faite pour le calcul du taux d'occupation des bassins

- Indice de conversion (poids d'aliment distribué divisé par le poids de crevette produit).

A partir de ces données, nous avons calculé les densités finales (ind/m<sup>2</sup>), les rendements (t/ha = quantité pêchée divisée par la surface du bassin) et le taux annuel d'occupation des bassins (durée annuelle avec présence d'animaux divisée par nombre de jours annuel).

Tableau 2.1 : Liste des fermes existantes, date de leur création, type de gestion (SI : semi-intensif ; I : Intensif), liste des bassins étudiés et de leur surface (entre parenthèse). Les noms soulignés correspondent aux fermes dont l'activité a été suspendue en 2005-2006.

Fermes - date de création	Type	Dénomination des bassins et surface
<u>Aigue Marine</u> - 2003	SI	A (10), B (10), C (10)
April - 2003	SI	1 (12,1)
<u>Aquamer</u> - 1994	I jusqu'en 2004 puis SI	1(4), 2(4), 3(4), 5(4), 6(4), 7(4), 8(2,5), 9(3,6), 10(3,1), 11(3,2)
Aquamon - 1983	SI	A(7,1), C(7,5) D(8,5), F(8,7), G(9,2), H(8,5)
Aquawa - 2004	SI	
Bassins de Dumbéa - 1989	SI	
Blue Lagoon Farm - 1997	I	1(3,8), 2(3,9), 3(4,3), 4(3,4), 5(3,5), 6(3,2), 7(4,7), 8(2,5), 9(3,8), 10(4,3), 11(4,1), 12(3,4), 13(3,8), 14(3,2), 15(3,1), 16(3,6), 17(3,7), 18(3,6), 19(4,1), 20(3,8), 21(1,9)
FAMB – 2003	SI	1(8,7), 2(9,7)
FAO - 1991	SI	K(7,5), L(10,5)
Kapuidéa – 2004	SI	A(10,1), B(10,9), C(10,5), D(9,5), E(9,7)
Gwenguy	SI	
Pénéide de Ouano - 1995	I	1(3,5), 2(3,6), 3(3,4), 4(3,0),5(4,2), 6(3,9), 7(3,7), 8(3,8)
Pointe Monot - 2004	SI	1(10), 2(5,8)
Seafarm - 1991	I jusqu'en 2003 puis SI	1(3,3), 2(3,3), 3(3,3), 4(3,3), 5(3,3), 6(3,3), 7(3,3), 8(3,7), 9(3,7), 10(3,7)
La Sodacal - 1983	SI	A(9,0), B(10,7), C(10,4), D(10,2), E(10,4), F(10,4), G(10,5), H(10,7), P1(6,0), P2(8,0), U(9,9), VW(8,4), X(8,1), Y(9,0)
Stylibleue -2002	SI	1(7,0), 2(8,5)
Tournier - 1997	SI	1(10,8)
Webuihoone - 1993	SI	1(7,7), 2(7,7), 3(7,7), 4(7,7), 5(7,7), 6(6,6), 7(10)

Une seconde base a été conçue à partir des données journalières récoltées par les éleveurs pour gérer leurs bassins. Elle contient les résultats d'environ 150 élevages. Avant 2002, les données ont été numérisées sous tableur. Après 2002, Les données sont issues de la base Stylog (Soulard, 2006). Cette base contient des informations sur le suivi du cheptel et sur la qualité du milieu d'élevage :

- le poids et la croissance des animaux (mesurés une fois par semaine),
- le nombre de cadavres observés le matin sur les berges ou sur mangeoires,
- la quantité d'aliment distribuée chaque jour,
- le taux de renouvellement journalier,

- la température matin et soir,
- l'oxygène dissous matin et soir,
- la salinité (bihebdomadaire),
- le Secchi (bihebdomadaire).

La température et l'oxygène dissous sont généralement mesurés *in situ* à l'aide d'un oxymètre portable à  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  et à  $\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ . Le Secchi est relevé en un point dans le bassin. La salinité est mesurée à l'aide d'un réfractomètre ( $\pm 1\%$ ). Des analyses de Chl-a ont été réalisées sur quelques suivis. Vingt cinq ml d'échantillon ont été filtrés sur filtre Whatman GF/F pour l'analyse de la Chl-a et des phéopigments. Les filtres ont été congelés dans des cupules protégées de la lumière avant analyse. Les concentrations en pigments ont été mesurées au Laboratoire IFREMER ou à l'IRD de Nouméa par fluorescence avec un fluorimètre Turner 112, à 665 nm, avant et après l'acidification d'un extrait méthanolique de pigments (Holm-Hansen et al., 1965).

### **2.2. Données météorologiques et température de l'eau**

Le centre Météo-France de La Tontouta, proche de la station IFREMER enregistre les données de température, de vent (direction et force), d'ensoleillement et de pluviométrie. Les températures maximales sont mesurées avec un thermomètre à mercure et les minima avec un thermomètre à alcool. La force du vent moyen est mesurée par un anémomètre (à 10 m de hauteur) et calculée sur une période de 10 minutes. La direction est mesurée par une girouette. La durée de l'insolation est exprimée en heures et dixièmes. Les mesures sont faites par un héliographe Campbell. Les précipitations sont recueillies dans un pluviomètre SPIEA (ou équivalent).

La température de l'eau est mesurée chaque jour le matin à 6h00 et le soir à 15h00 à mi-profondeur dans un bassin de 500 m<sup>2</sup> de la station IFREMER avec un thermomètre à mercure ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ). L'évolution des normales journalières a été calculée sur 15 ans à partir des données relevées de 1991 à 2006.

### **2.3. Analyse des données**

Les données de poids des animaux de J0 à J120 ont été analysées à l'aide d'une régression non linéaire ( $y = axb$ ) avec  $p > 0,99$  à l'aide du logiciel Sigmaplot. Ces tendances ont été utilisées pour calculer le poids et le taux de croissance journalier. Les données de survies ont été transformées par un arcsin avant analyse statistique. Un budget azoté a été réalisé en utilisant la méthode de Boyd & Tucker (1985). Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels Statview et Statgraphics plus 5.1.



### 3. Résultats

#### 3.1. Evolution des pratiques zootechniques de la filière de 1987 à 2004

Au cours de la saison 2005-2006, la Nouvelle-Calédonie comptait 18 fermes de grossissement (Tab. 2.1) dont la typologie était la suivante (GFA, 2005) :

- ✓ sept fermes familiales de 8 à 20 hectares de surface cultivée,
- ✓ deux fermes « industrielles » d'une surface supérieure à 60 ha,
- ✓ et 9 fermes intermédiaires d'une surface comprise entre 20 et 60 ha.

Les élevages pratiqués en Nouvelle-Calédonie sont de deux types :

- ✓ L'élevage intensif (I), aéré conduit dans des bassins de 3 à 4 hectares est ensemencé avec 25 à 35 crevettes au m<sup>2</sup>. Quatre fermes ont été construites pour produire dans cette optique : Seafarm en 1991, Aquamer en 1994, Pénéide de Ouano en 1995 et Blue Lagoon Farm en 1997. Les deux premières ont abandonné ce type d'élevage respectivement en 2003 et 2004 pour pratiquer des élevages semi-intensifs. A contrario, un bassin de la ferme de Webuihoone de 7,7 hectares a été électrifié en 2000 pour une utilisation plus intensive. La surface exploitée en intensif en 2001 représentait 42% de la surface totale. Elle ne représente plus en 2005 que 17% de la surface totale cultivée.
- ✓ L'élevage semi-intensif (SI), généralement non aéré est ensemencé à des densités comprises entre 18 et 22 animaux au m<sup>2</sup>. Il est pratiqué dans de grands bassins dont la taille est comprise entre 7 et 11 hectares. Cette pratique d'élevage constitue actuellement la majorité des élevages réalisés sur le Territoire. De plus en plus de bassins de type semi-intensif sont aérés. En 2004-2005, les bassins aérés représentaient 32% de la surface totale exploitée (GFA, 2005).

Lors de son développement, la filière a vu apparaître deux maladies, la première en 1993 et la seconde en 1997 avec comme conséquence l'observation de nombreuses crevettes mortes sur le bord et le fond des bassins et des survies finales faibles. Elles ont été nommées respectivement « syndrome 93 » et « syndrome d'été ». Ces maladies sont considérées par la profession comme le principal frein au développement de cette industrie. Toutefois, les mortalités sur les bassins ont d'autres causes possibles. Elles ont été enregistrées après des chutes matinales de l'oxygène, suite au pompage de toxiques et/ou de méduses. En 2006, deux fermes ont même cessé leurs activités pour cause de maladies. Il s'agit des fermes de Aigue-Marine et de Aquamer. La première a dû stopper pour cause de syndrome d'été, la seconde pour des problèmes de qualité d'eau de pompage (pollution à la deltaméthrine). C'était la première année dans l'histoire de la crevetticulture calédonienne que l'on assistait à un arrêt de la production sur des sites de cette importance. Par le passé, des crises ont été observées sur certaines fermes, à La Sodacal en 1992 (Anonyme, 1994 ; Lemonnier et al., 2002 ; Della

Patrona, 2006), à Seafarm en 1997 (Brock, 2000 ; Goxe, 2001) mais sans jamais occasionner la fermeture des exploitations.

*Evolution des surfaces cultivées :* Elles augmentent régulièrement depuis 1983, date de construction de la première tranche de la ferme La Sodacal (fig. 2.1). Un arrêt de la construction des bassins « type SI » peut être observé à partir de 1991, au profit de la construction de bassins I. Cette tendance s'inverse à partir de 2003 avec la création de plusieurs fermes familiales, toutes SI et de l'abandon de l'élevage I sur deux fermes (tab. 1.1).

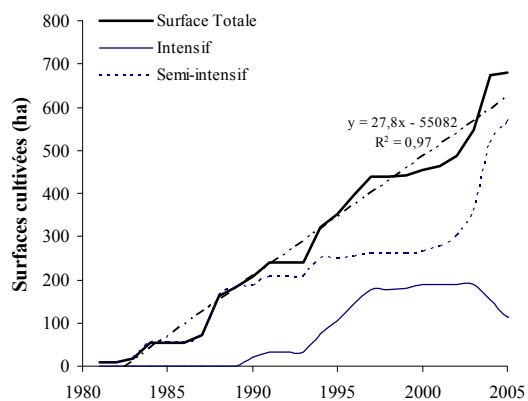


Figure 2.1 : Evolution des surfaces cultivées (années de leur mise en eau).

*Evolution des périodes d'ensemencement :* La figure 2.2 présente l'évolution des périodes d'ensemencement de 1988 à 2003. Les élevages ont été classés par périodes de deux mois. La fréquence d'ensemencement pour les mois de mars - avril diminue après l'apparition du syndrome 93. De 1998 à 2001, il n'y a plus d'ensemencements en mars et avril. La fréquence pour les mois de mai - juin devient inférieure à 10% après 1998. Parallèlement, on note une très forte progression des ensemencements pour les mois de septembre - octobre pour atteindre environ 40% de la valeur annuelle. Les ensemencements réalisés en juillet - août et novembre- décembre représentent chacun environ 20% des ensemencements annuels. Cette fréquence ne semble pas avoir évolué sur le long terme. En conclusion, les productions en période hivernale ont été abandonnées au profit d'une production estivale. L'activité de grossissement en devenant saisonnière s'est répercutée sur l'ensemble de la filière depuis les écloséries jusqu'aux ateliers de conditionnement.

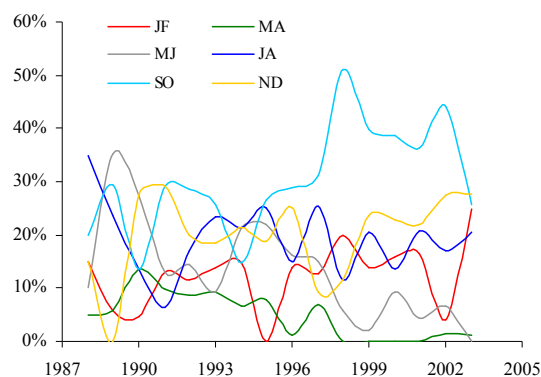


Figure 2.2 : Evolution des périodes d'ensemencement entre 1988 et 2003. Les ensemencement de Mars – avril (MA) et de mai - juin (MJ) ont été abandonnés au profit des ensemencements de septembre – octobre (SO).

*Durée des assecs et taux d'occupation des bassins :* Elle est très variable en fonction des années (fig. 2.3A). Sur la période 1989 -1994, la durée des assecs était en moyenne de 30 jours. Par la suite on note

une augmentation pour atteindre aujourd'hui des valeurs moyennes supérieures à 120 jours. La variance augmente montrant une forte hétérogénéité dans les durées pratiquées (fig. 2.3B). En 2002 et 2003, les durées ont varié entre une semaine et plus d'un an. L'évolution est similaire entre les élevages I et les élevages SI (fig. 2.3A). Parallèlement, le taux d'occupation des bassins diminue dans le temps. Il était en 1993 supérieur à 80% alors qu'il était seulement de 60% en 2002.

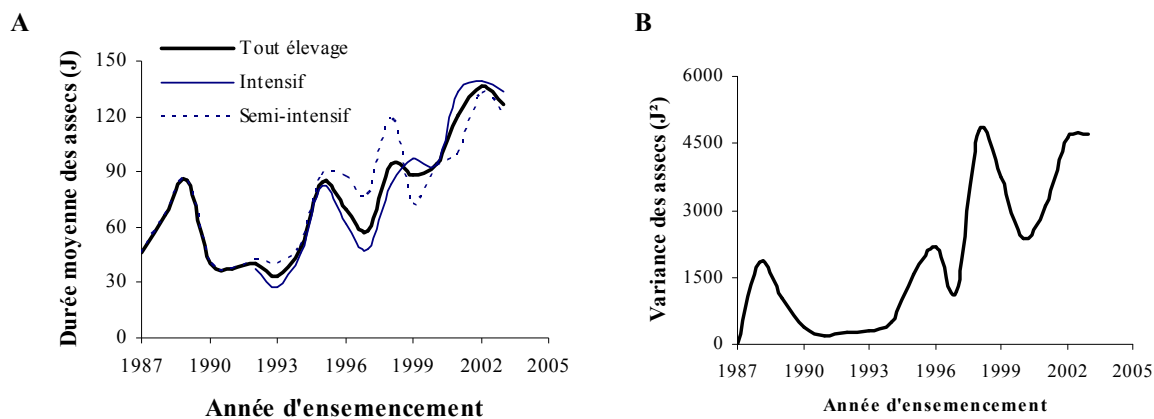


Figure 2.3 : (A) Evolution de la durée moyenne des assecs et (B) de la variance.

*Les densités à l'ensemencement* : Les valeurs moyennes augmentent de 14 animaux au m<sup>2</sup> en 1987 pour atteindre un maximum à plus de 30 crevettes par m<sup>2</sup> en 1997 (fig. 2.4). Les densités redescendent par la suite à une valeur moyenne de 25 animaux au m<sup>2</sup>. La tendance est la même pour les bassins I et les bassins SI. En 2004, la moyenne était respectivement pour ces élevages de 21±5 et de 31±2 crevettes au m<sup>2</sup>.

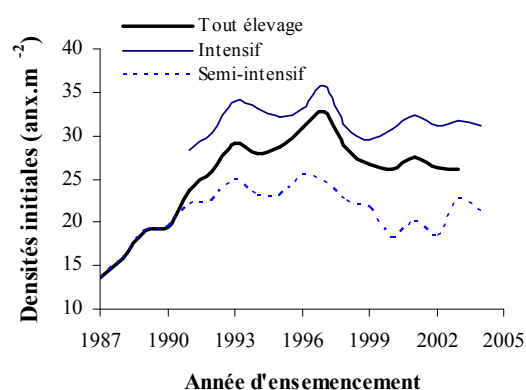


Figure 2.4 : Evolution des densités initiales.

*La durée des élevages* : Elle augmente très rapidement entre 1987 et 1990 pour atteindre une durée de plus de 250 jours (fig. 2.5). La diminution entre 1990 et 2004 est significative au seuil de 1%. Cette tendance est essentiellement liée à une diminution des durées pour les élevages SI. La valeur moyenne tout élevage confondu, est en 2003-2004 d'environ 200 jours.

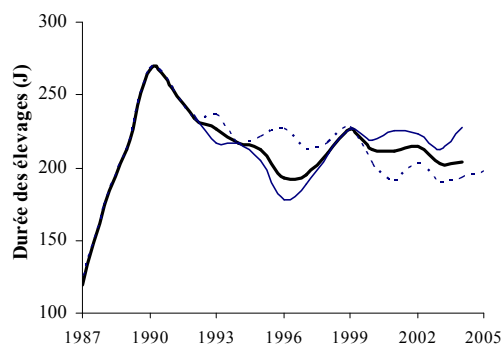


Figure 2.5 : Evolution de la durée moyenne et annuelle des élevages.

*Survies, densité finale, poids moyens et vitesse de croissance* : Une baisse des survies est apparue de 1992 à 1997 (fig. 2.6A). Elle débute en 1992 pour les élevages SI et est attribuable à la chute de production observée à cette époque sur la ferme La Sodacal. Pour la seconde ferme SI en activité, Aquamon, cette chute débute en 1993. Les élevages I (en fait, les élevages de la ferme SeaFarm), montrent des valeurs très faibles à partir de 1993. Elles sont attribuables en partie à l'émergence du syndrome 93. En 1997, la valeur la plus faible de toute l'histoire de la filière est atteinte avec 31% de survie.

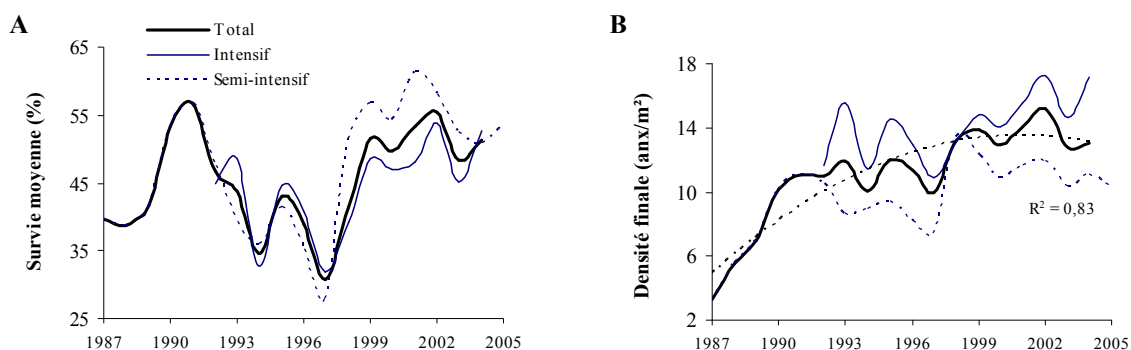


Figure 2.6 : (A) Evolution des survies finales et (B) des densités finales.

Les mauvais résultats de la filière sur la période 92-97 touchaient en fait aussi bien les élevages d'été que les élevages d'hiver. En effet, les survies pour les élevagesensemencés entre septembre et décembre variaient en moyenne pour l'ensemble de la filière en fonction des années entre 35 et 47%. A partir de 1998, les survies remontent de manière spectaculaire. Le nombre d'ensemencements de mars à juin étant en forte diminution, cette augmentation des survies est attribuable à une nette amélioration des survies des élevages d'été. Les densités finales augmentent de 1987 à 1998 pour se stabiliser par la suite à une valeur de 13 animaux par m<sup>2</sup>. Les élevages intensifs présentent en moyenne des densités finales légèrement supérieures aux élevages semi-intensifs. La moyenne sur les cinq dernières années est respectivement de  $15,7 \pm 1,5$  et  $11,2 \pm 0,6$  crevettes par m<sup>2</sup>.

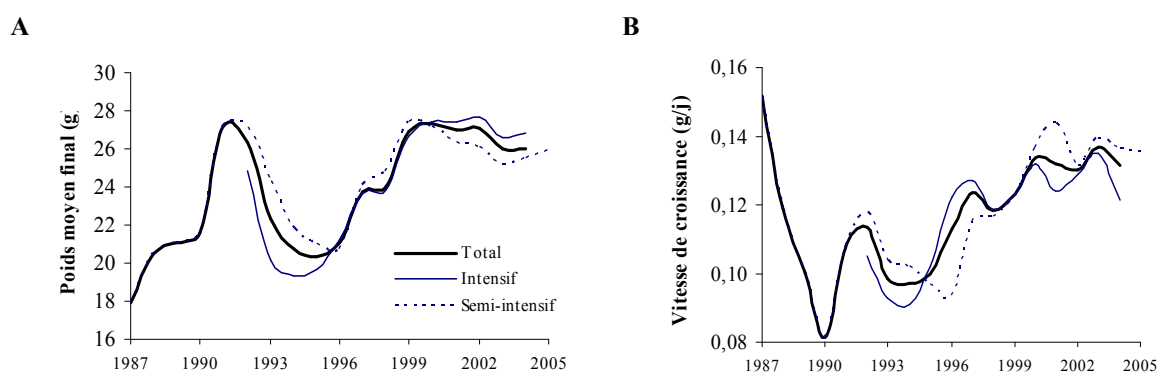


Figure 2.7 : Evolution des poids moyens pondérés et des vitesses de croissance.

L'évolution des poids moyens à la pêche est similaire à celle des survies (fig. 2.7A). On note une progression entre 1987 et 1992 puis une forte chute entre 1992 et 1997. Après 1997, elle n'est pas attribuable à une augmentation de la durée des élevages (fig. 2.5), mais à une augmentation des vitesses de croissance (fig. 2.7B). Le gain est estimé en moyenne entre 1996 et 2000 à 1,6 gramme par an. Cette augmentation est depuis 2002 dans une phase de ralentissement. Les fortes vitesses de croissance observées en 1987 et 1988 s'expliquent par des ensemencements à faibles densités (Martin et al., 1998).

*Aliment distribué et indice de conversion* : La quantité d'aliment distribuée par unité journalière et par unité de surface augmente depuis 1987 (fig. 2.8A). Les indices de conversion sont très variables entre 1987 et 1998 montrant une incapacité de la filière à maîtriser ses intrants (fig. 2.8B). Les valeurs moyennes sont parfois très fortes et supérieures à 3. A partir de 1998, on note une stabilisation des valeurs autour de 2,3. En 2004, les indices remontent à  $2,9 \pm 1,8$ .

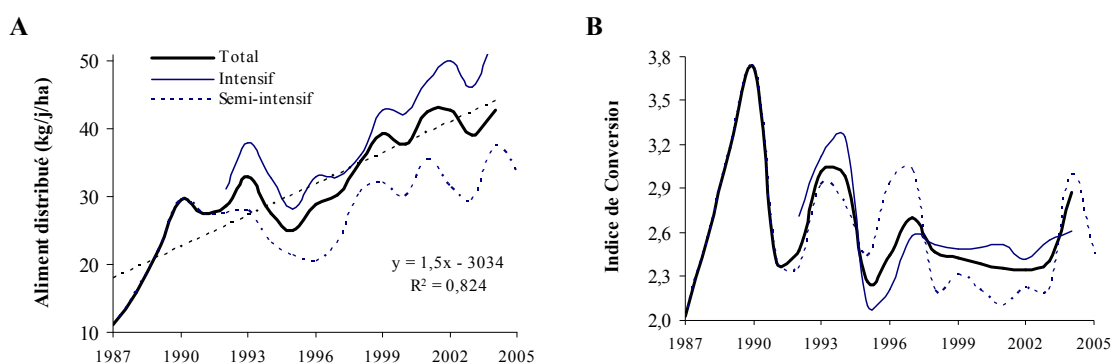


Figure 2.8 : Evolution de la quantité d'aliment distribuée en moyenne par jour et par unité de surface (Ha) et des indices de conversion entre 1987 et 2004.

*Les rendements* : Les rendements augmentent significativement dans le temps que ce soit pour les élevages I ou les élevages SI (fig. 2.9). Les élevages I ont en moyenne des rendements supérieurs. Plusieurs périodes peuvent être discriminées entre 1987 et 2003 :

- (i) de 1987 à 1993 - c'est une phase d'amélioration des techniques d'élevage,
- (ii) de 1994 et 1997 - c'est une phase de crise avec en particulier l'apparition du syndrome 93,
- (iii) de 1997-2003 - c'est une phase de croissance,
- (iv) depuis 2003 - peut être une nouvelle crise ?

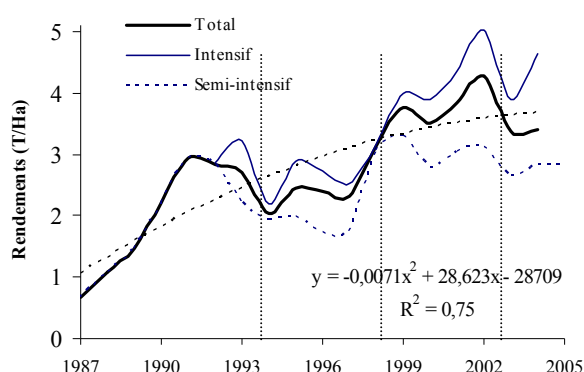


Figure 2.9 : Evolution des rendements moyens.

*Pour conclure*, ces résultats montrent une évolution importante des pratiques d'élevages depuis 1987. Après une première phase d'augmentation des densités, on observe une progression des vitesses de croissance. Parallèlement, la quantité d'aliment injectée en moyenne par jour dans le système ne cesse de croître depuis 1987.

### 3.2. Le syndrome 93

*Préambule* : L'arrêt de la production industrielle pendant la saison hivernale à partir de 1997 rend difficile toute analyse sur le long terme à partir des données de la filière. Les données de 1993 à 1997, sur lesquelles s'appuyer sont anciennes et très disparates. De plus et malgré nos efforts, elles n'ont pu être récupérées que partiellement. Pour compléter les informations, certaines données proviennent d'élevages conduits par l'IFREMER entre 1992 et 1999.

#### 3.2.1. Déroulement des mortalités

La mortalité liée au syndrome 93 s'exprime en saison fraîche. Toutefois, son expression diffère en fonction des années. En 1993, les premières mortes sont apparues en mai sur deux fermes, Aquamon et SeaFarm. Elles ont été observées sur toute la saison fraîche à SeaFarm (fig. 2.10A). La date de déclenchement s'est étalée du 2 mai au 29 juin en fonction des bassins. Les élevagesensemencés les premiers ont déclaré la maladie en premier. L'écart était de 58 jours entre le premier et le dernier. Des élevages proches peuvent donc déclencher le syndrome de manière décalée dans le temps. Ce résultat est confirmé par des observations réalisées sur le site de l'Ifremer en 1996. Le syndrome 93 est apparu sur un bassin le 13 mai 1996, sur deux autres le 28 mai et enfin sur les 6 derniers le 30 mai. Pour des élevagesensemencés en saison froide, la mortalité n'est pas immédiate après l'ensemencement. En effet, trois élevagesensemencés du 5 au 13 juillet 1993 (SF24, SF25 et SF26) à SeaFarm ont déclaré la

maladie le 30 septembre de la même année. Les mortalités pour ces élevages ensemencés en saison froide coïncident avec de fortes variations de la température (fig. 2.10B).

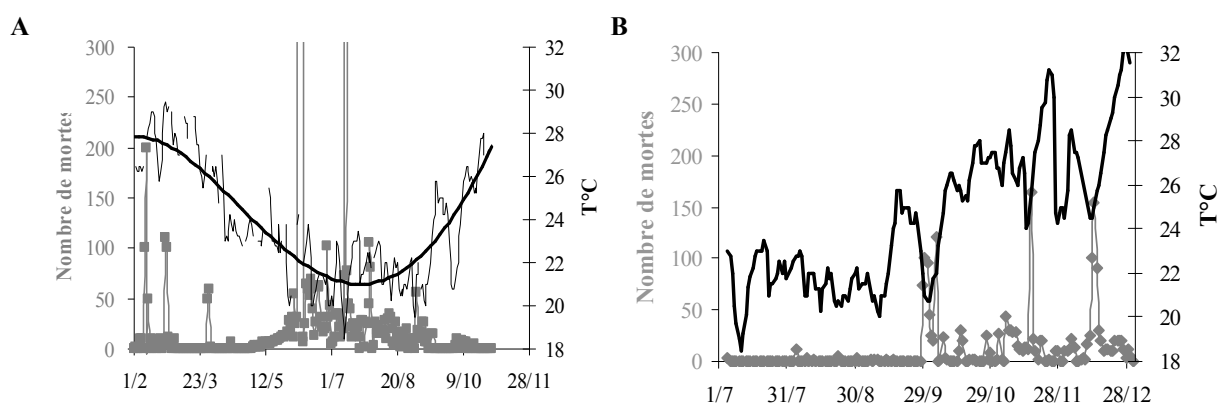


Figure 2.10 : (A) Température moyenne journalière et mortalité observée sur le bord des berges de 7 élevages ensemencés en saison chaude (Code SF17 à SF23) et (B) de 5 élevages ensemencés en saison froide (codes SF24 à SF28) de la ferme SeaFarm en 1993. On remarquera que les élevages ensemencés en saison froide coïncident avec de fortes variations de la température.

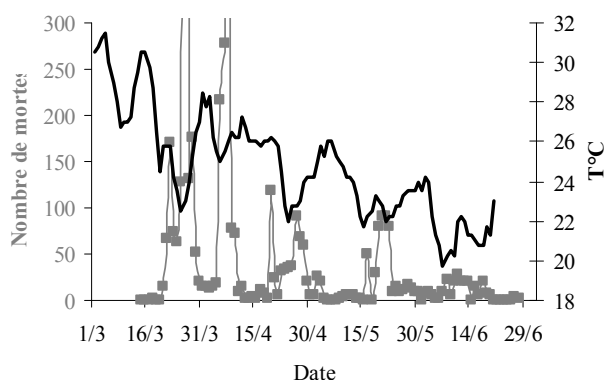


Figure 2.11 : Température moyenne journalière et mortalité observée sur le bord des berges de 5 élevages de Seafarm en 1994 (SF30 à SF34).

A Seafarm en 1994, les mortalités se sont toutes déclarées en début de saison froide quel que soit le bassin, ensemencé entre octobre 1993 et janvier 1994 (fig. 2.11). Ces mortalités sont associées à des baisses marquées de la température, ce qui n'était pas le cas en 1993 pour les élevages ensemencés en saison chaude. Les années 1995, 1996 et 1997 confirment cette tendance (fig. 2.12 ; Goarant, 2000 ; Lefevre et al., 2004). Les premières mortes apparaissent généralement entre mars et juin. Le déclenchement de l'épizootie a été particulièrement précoce en 1994 (fig.

2.11). Il a été beaucoup plus tardif en 1998. Les mortalités se sont par exemple déclenchées le 29 juin 1998 pour un élevage ensemencé en février de la même année à 40 an<sub>x</sub>.m<sup>-2</sup> sur le site de l'IFREMER. Les mortalités sont souvent synchrones sur des bassins distants de plusieurs dizaines de kilomètres et apparaissent aussi bien dans des bassins neufs que d'utilisation ancienne (Mermoud et al., 1998). Elles peuvent ne pas apparaître lors du premier cycle d'élevage dans le cas de nouvelles exploitations construites sur de nouveaux sites éloignés des autres fermes aquacoles. Ce fut le cas pour la ferme Pénéide de Ouano construite en 1995. La maladie a touché par la suite cette ferme, conduisant à

l'abandon des élevages d'hiver. Plus récemment, la ferme de Kapuidea n'a pas déclaré de mortalité au cours de son premier cycle d'élevage réalisé en partie en saison froide (Della Patrona, com. Pers).

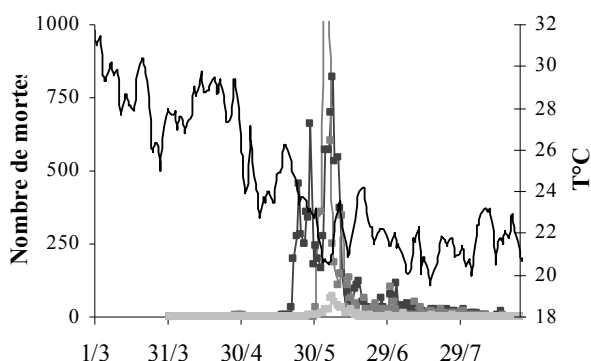


Figure 2.12 : Température moyenne journalière et mortalité observée sur le bord des berges de 3 élevages conduits par l'IFREMER en 1996 (B1 ; B8 ; B9).

L'intensité des mortalités est variable entre les bassins d'une même ferme (fig. 2.12). Elle semble aussi variable en fonction des années. Comparativement aux années précédentes, les mortalités en 1998 et 1999 ont été plus faibles. Lors d'un suivi épidémiologique réalisé en 1998 sur des bassins de production, Goarant (2000) rapporte que l'éleveur a eu beaucoup de difficultés à identifier des périodes de mortalité pour un élevage ensemencé à 20 an<sub>x</sub>.m<sup>-2</sup>. Dans six bassins expérimentaux et pour le même type d'élevage, les mortalités au bord ont été très faibles en 1998 et 1999 comparativement à 1996 et 1997 (fig. 2.13). Des plongées quotidiennes le long de transects confirment ce résultat mais montrent aussi des durées variables en fonction des années. Elles ont été respectivement pour 1996, 1997 et 1999 de 25, 18 et de 35 jours.

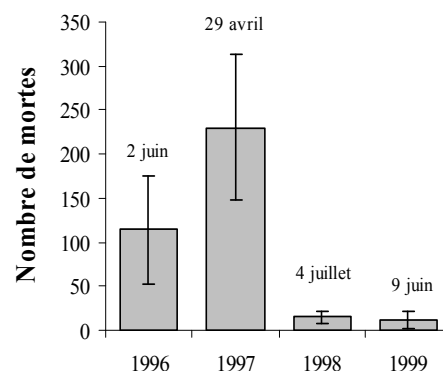


Figure 2.13 : Mortalités moyennes et écart-types sur les bords de 6 bassins expérimentaux de l'IFREMER de 1996 à 1999.

Des cas de très fortes mortalités ont été observés. Nous citerons pour exemple un cas exceptionnel observé en 1993 (code SF19). Le nombre de mortes a été évalué par l'éleveur à 60000 sur trois jours. Ce phénomène a aussi touché les poissons présents dans le bassin. La mortalité faisait suite à un bloom de *Chaetoceros sp.* avec 900000 cellules par ml. L'oxygène et la température du matin étaient respectivement de 4 mg.l<sup>-1</sup> et de 23,5°C. Ce bassin a été ensemencé à plus de 43 animaux par m<sup>2</sup>. La survie finale a été de 10%.



### 3.2.2. Influence des pratiques zootechniques

La figure 2.14A présente les survies obtenues en fonction de la densité initiale pour des élevages ayant déclaré des mortalités en période de saison froide. Elle montre un effet densité sur l'expression du syndrome. La densité expliquerait 68% de la variabilité. Deux expérimentations conduites en 1992 et 1994 confirment cet effet densité (fig. 2.14B). Dans chaque cas, les taux de renouvellement et de nutrition étaient similaires. En 1992, les bassins ont été ensemencés le 21 mai 1992 et pêchés le 1<sup>er</sup> décembre de la même année. Aucune mortalité particulière n'a été déclarée mais à l'époque ce paramètre n'était peu ou pas suivi. En 1994, les élevages ont démarré le 27 décembre 1993 pour se terminer le 2 juin 1994. Vingt mortes ont été ramassées sur le bassin à 30 animaux par m<sup>2</sup> vers la mi-avril. Les mortalités sont apparues plus tardivement sur les bassins à 21 et 11 crevettes au m<sup>2</sup>. D'après ces résultats, la densité pourrait être le facteur de risque majeur de cette épizootie. Les résultats expérimentaux de 1992 suggèrent une apparition du syndrome avant 1993.

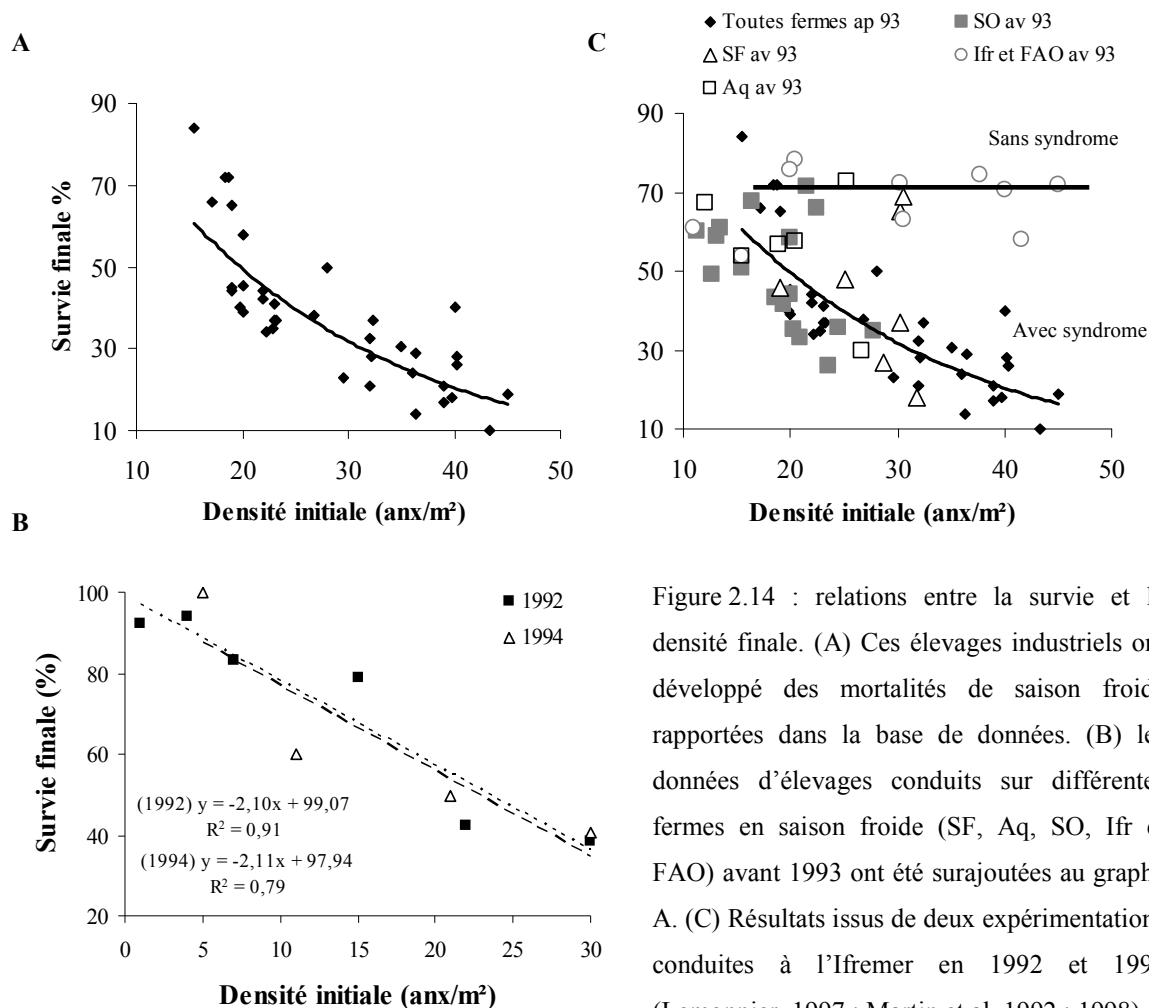


Figure 2.14 : relations entre la survie et la densité finale. (A) Ces élevages industriels ont développé des mortalités de saison froide rapportées dans la base de données. (B) les données d'élevages conduits sur différentes fermes en saison froide (SF, Aq, SO, Ifr et FAO) avant 1993 ont été surajoutées au graphe A. (C) Résultats issus de deux expérimentations conduites à l'Ifremer en 1992 et 1994 (Lemonnier, 1997 ; Martin et al, 1992 ; 1998).

En analysant les résultats de la relation densité – survie obtenus avant 1993 pour des élevages d’hiver (fig. 2.14C), on note deux types de relation avec (i) aucun effet de la densité sur la survie finale et (ii) une baisse de cette survie en relation avec la densité à l’image de ce que nous observons en période de syndrome 93 (fig. 2.14A). Il se pourrait que la maladie soit apparue non pas en 1993 mais dans les années 1990-1991. Si on considère la relation survie – densité comme une caractéristique du syndrome 93, six élevages sur 7 en 1992 auraient pu avoir déclaré la maladie à SF et 9 sur 9 à La Sodacal.

### 3.2.3. Conditions climatiques et syndrome 93

#### *La température de l’eau*

La figure 2.15A présente l’évolution des normales journalières calculées sur 15 années (moyenne par jour calendaire). La moyenne diminue de mars à juillet. Les écarts moyens à cette normale ont été classés en fonction des années de manière ascendante (fig. 2.15B). Les années les plus froides entre 1991 et 2006 sont 1993, 1994, 1997 et 1991. Les années 1991 et 1993 sont aussi celles pour lesquelles les valeurs ont été les moins variables (fig2.15C). Les années 1998 et 1999 présentent des écarts aux normales fortement positifs. Les années 1992, 1997 et 1998 sont les années où la variabilité est la plus élevée. Les années 1994 et 1997 conjuguent à la fois des températures froides et très variables. L’année 1998 conjugue à la fois des températures chaudes et très variables.

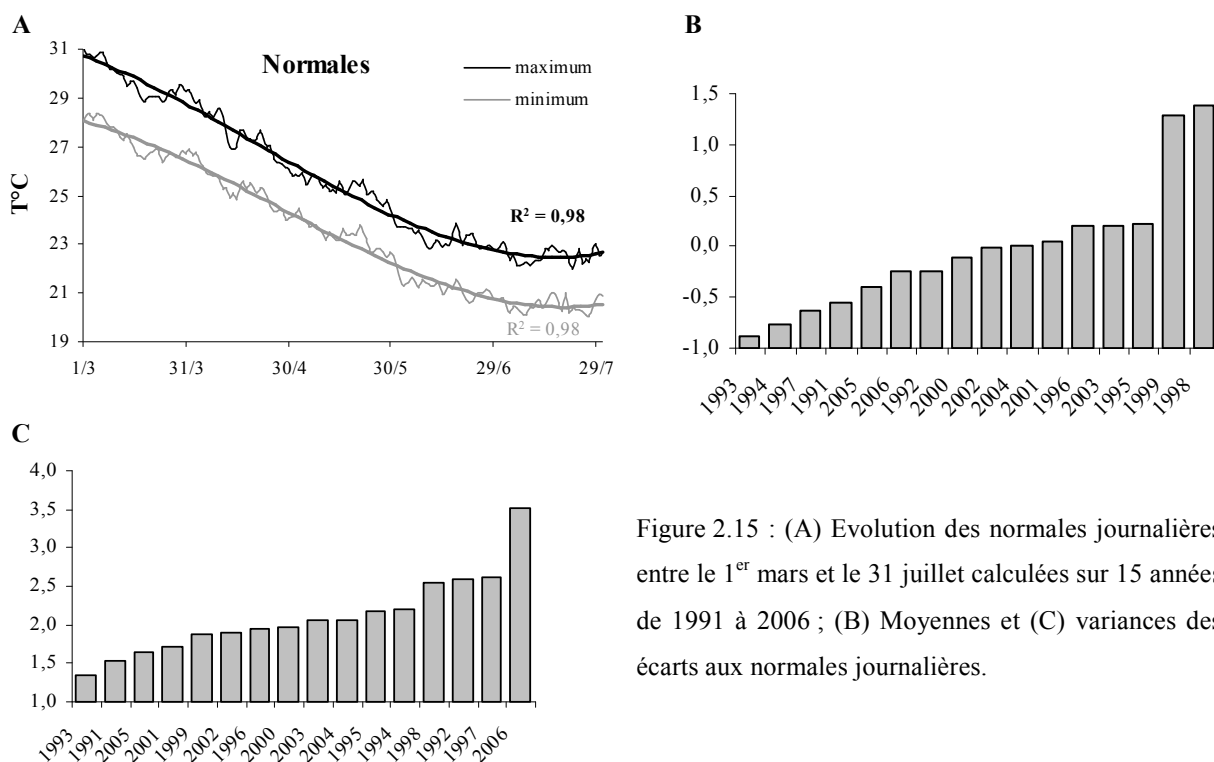


Figure 2.15 : (A) Evolution des normales journalières entre le 1<sup>er</sup> mars et le 31 juillet calculées sur 15 années de 1991 à 2006 ; (B) Moyennes et (C) variances des écarts aux normales journalières.

La valeur la plus froide enregistrée le matin est de 17°C. La plus chaude le soir est de 34,5°C (tab. 2.2). L'écart est de 17,5°C entre ces valeurs extrêmes. En considérant cette fois les normales journalières, l'écart moyen est de 10,3°C. Les minima le matin et le soir sont compris respectivement entre 17 et 19,8°C et entre 18 et 22,2°C. Les maxima varient le matin entre 32,6 et 31,5°C et le soir entre 32 et 34,5°C. Les variations diurnes et nocturnes sont présentées dans le tab. 2.3. Le gain de température au cours de la journée est légèrement supérieur à 2°C et peut atteindre jusqu'à 6,5°C. Les années 1993 et 1997 présentent les écart-types les plus faibles. Les températures peuvent baisser de plus de 2°C au cours de la journée. Les variations diurnes calculées à partir des normales journalières diminuent entre mars et août (fig. 2.16). La température devient de plus en plus froide et de moins en moins variable. Toutefois, la baisse nocturne peut atteindre 8°C au cours d'une même nuit. Cette valeur reste très exceptionnelle. En revanche, des baisses de 5 à 6°C ne sont pas rares. L'année 1993 présente là encore l'écart type le plus faible.

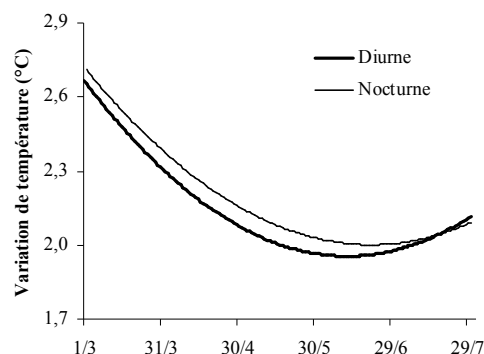


Figure 2.16 : variations normales de la température calculées à partir des normales journalières. Les données sont exprimées en valeur absolue.

Tableau 2.2 : Valeurs moyennes, écart-types, minima et maxima des températures de l'eau des bassins à l'IFREMER le matin et le soir entre mars et juillet.

années	Matin				Soir			
	Moy.	Ecart-type	Minima	Maxima	Moy.	Ecart-type	Minima	Maxima
1991	23,0	2,5	18,5	28,6	25,3	2,5	21,5	32,0
1992	23,2	2,7	18,0	28,8	25,5	3,2	20,0	32,7
1993	22,7	2,4	18,3	29,0	24,9	2,6	20,0	32,0
1994	23,1	3,2	17,0	31,0	25,4	3,5	19,8	32,5
1995	23,8	3,3	18,5	31,5	26,1	3,5	20,5	33,8
1996	23,7	3,2	19,0	30,0	25,7	3,5	19,9	32,5
1997	22,9	2,9	17,3	30,1	24,9	3,0	20,0	32,5
1998	24,9	2,6	19,8	30,5	27,0	2,9	22,2	33,4
1999	24,8	3,1	19,0	31,2	26,9	3,6	21,0	34,5
2000	23,4	2,9	18,9	30,0	25,5	3,2	20,0	33,0
2001	23,6	3,4	17,9	30,0	26,0	3,6	19,5	33,5
2002	23,5	3,1	18,5	30,2	25,5	3,3	20,0	33,2
2003	23,7	2,9	18,5	30,9	25,9	3,1	18,0	34,5
2004	23,6	2,9	17,0	29,7	25,3	2,7	20,0	31,5
2005	23,3	3,0	18,5	30,0	25,6	2,9	20,5	32,0
Normales	23,5	2,6	20,4	28,1	25,7	2,8	22,5	30,7

Tableau 2.3 : Etude des écarts minima – maxima.

années	Variation diurne				Variation nocturne			
	Moy.	Ecart-type	Minima	Maxima	Moy.	Ecart-type	Minima	Maxima
1991	2,3	1,0	0,0	5,0	2,4	1,1	- 0,5	5,2
1992	2,4	1,2	-2,3	6,0	2,4	1,2	- 1,0	8,0
1993	2,2	0,8	0,0	4,2	2,3	0,9	- 0,5	5,0
1994	2,2	0,9	0,1	4,5	2,2	0,9	- 0,5	5,0
1995	2,1	0,9	-0,7	5,0	2,2	0,9	- 1,2	5,0
1996	1,9	1,1	-1,9	4,8	2,0	1,0	- 1,9	4,2
1997	2,0	0,8	0,1	5,2	2,1	1,0	- 0,9	4,9
1998	2,0	1,1	-0,5	6,0	2,1	1,0	- 0,4	5,5
1999	2,1	1,3	-1,4	6,5	2,1	1,2	- 1,2	6,0
2000	2,1	1,1	-0,5	5,2	2,1	1,2	- 0,4	6,0
2001	2,4	1,1	0,0	5,0	2,5	1,2	- 0,5	5,5
2002	2,0	1,2	-1,5	5,1	2,1	1,3	- 2,0	5,2
2003	2,1	1,2	-2,0	4,9	2,2	1,1	- 2,3	5,8
2004	1,9	0,9	-0,5	4,5	1,9	0,9	- 0,8	5,5
2005	2,5	1,1	-1,0	5,3	2,5	1,3	- 1,0	5,0
Normales	2,1	0,2	2,0	2,7	2,2	0,2	2,0	2,7

### Le vent

Son intensité diminue de mars à la fin mai pour se stabiliser en juin et juillet (fig. 2.17A). La courbe de tendance (polynomiale d'ordre 2) explique 64% de la variabilité. Les écarts à la moyenne diminuent sur les deux derniers mois. Le vent faiblit avec l'arrivée de la saison froide. L'année 1997 constitue une année exceptionnelle et très ventée comparativement à la moyenne (fig. 2.17B). Les années 1993, 1994 et 1996, années pendant lesquelles le syndrome 93 a particulièrement sévit sont des années ventées. Les années 1998, 1999, 2002 et 2003 sont des années faiblement ventées. Les années 1991 et 1992 présentent les variances les plus élevées, synonyme d'une forte variabilité de l'intensité journalière moyenne (fig. 2.17C).

L'arrivée de la saison froide s'accompagne parfois de fortes variations de la température de l'eau des bassins. La figure 2.18 présente l'évolution de la température de l'eau sur la ferme SeaFarm et du vent sur un site proche (Tontouta) pour les années 1993 (année froide), 1994, 1997 (années froides et variables), 1999 (année chaude) et 1996 (année moyenne) (fig. 2.15). Les courbes à droite montrent l'évolution de la température et du vent dont nous avons soustrait les tendances. Les données ont été centrées et réduites pour permettre une comparaison entre les courbes. La température diminue de mars à juillet avec l'arrivée de la saison froide. Les variations des deux paramètres sont généralement synchrones à l'intersaison. Le vent par évaporation est sans doute à l'origine des variations de température. C'est aussi un facteur de turbulence impliqué dans la remise en suspension des sédiments (Chapitre 1 - fig. 1.35B).

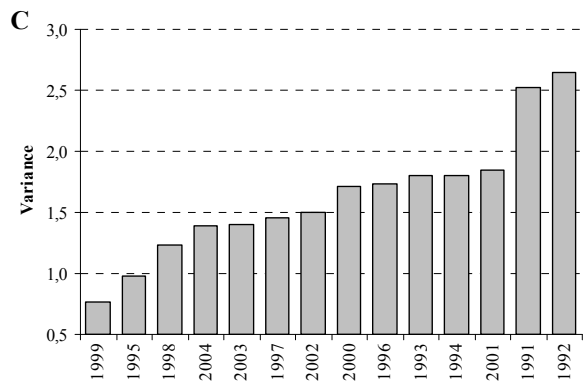
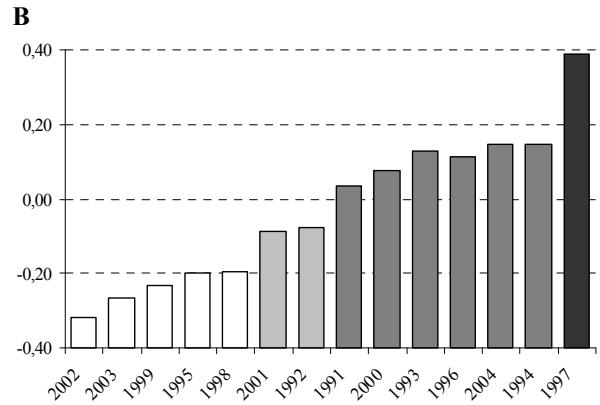
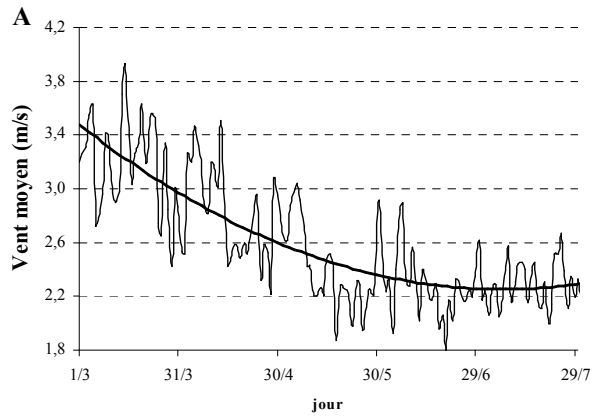


Figure 2.17 : (A) Evolution moyenne de la vitesse journalière du vent. La moyenne a été calculée sur la période 1989-2004 à partir des données du site de Tontouta (Météo France). (B) Ecart à la moyenne et (C) variance des écarts en fonction des années.

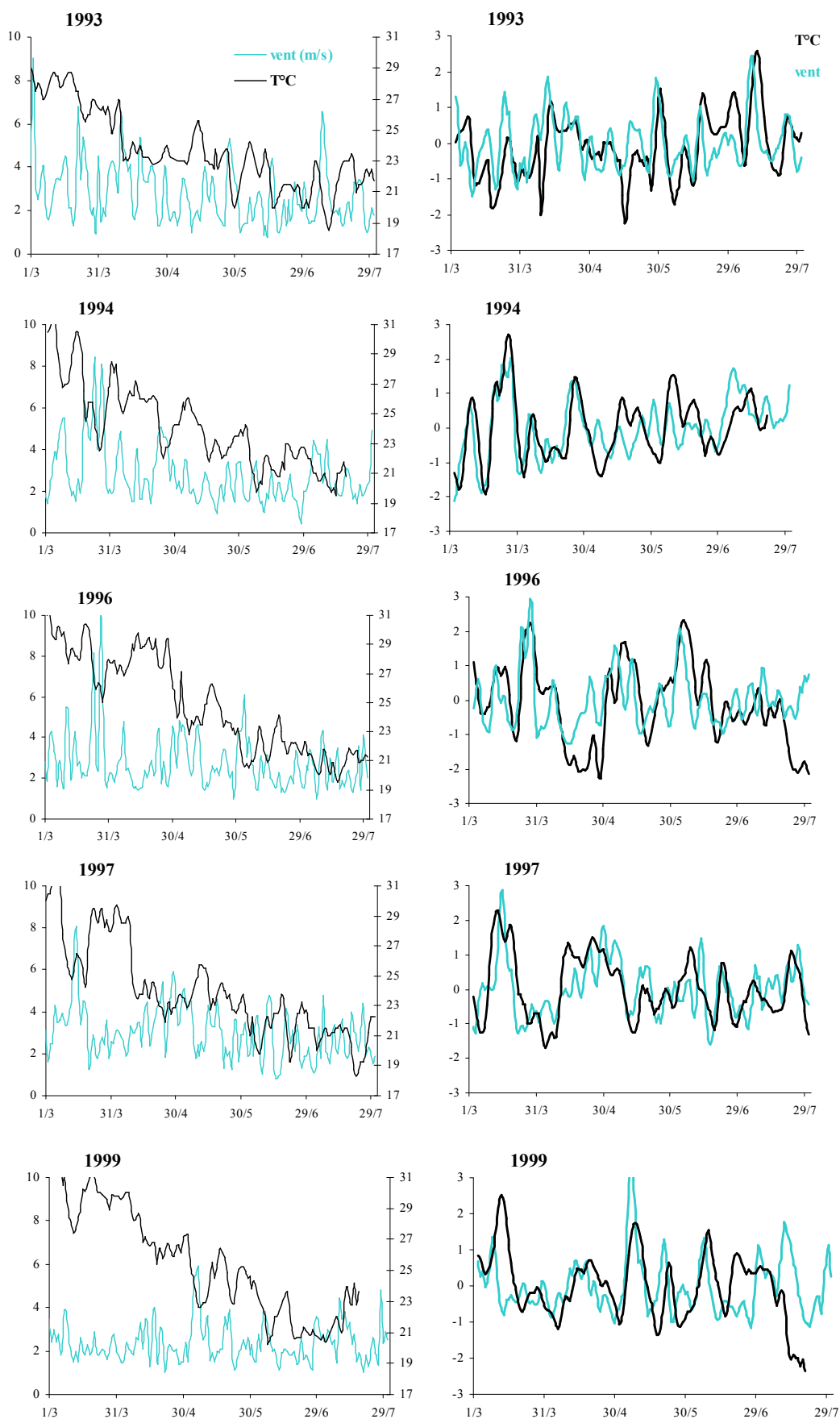


Figure 2.18 : Les courbes à gauche montrent l'évolution de la température et du vent en 1993, 1994, 1996, 1997 et 1999. Les courbes à droite montrent les mêmes évolutions après soustraction des tendances. Les données ont été centrées et réduites.

*La biomasse chlorophyllienne*

Le degré d'eutrophisation des bassins peut être évalué par les niveaux en chlorophylle (indicateur de phytoplancton) ou encore les concentrations de variables biochimiques comme l'oxygène (indicateur de la production primaire et de la respiration de tous les organismes), le pH ou l'ammonium (indicateur de l'excrétion et de la reminéralisation bactérienne de l'azote). Il y a très peu de données issues des fermes pour mesurer ce degré d'eutrophisation. En revanche, des suivis de la chlorophylle a ont été réalisés sur plusieurs années dans les bassins expérimentaux de l'IFREMER (fig. 2.19). Les mortalités sont associées en 1996 et 1997 à une augmentation de la concentration en chlorophylle a (Lemonnier et al., 2003 ; Lefevre et al., 2004). En 1996 et 1997, les concentrations passent respectivement de 10 à 30  $\mu\text{g.l}^{-1}$  et de 10 à 120  $\mu\text{g.l}^{-1}$  pour les bassins les moins renouvelés. En 1999, les mortalités ont été faibles. Contrairement aux fortes variations observées en 1996 et 1997, les concentrations augmentent régulièrement quel que soit le taux de dilution appliqué.

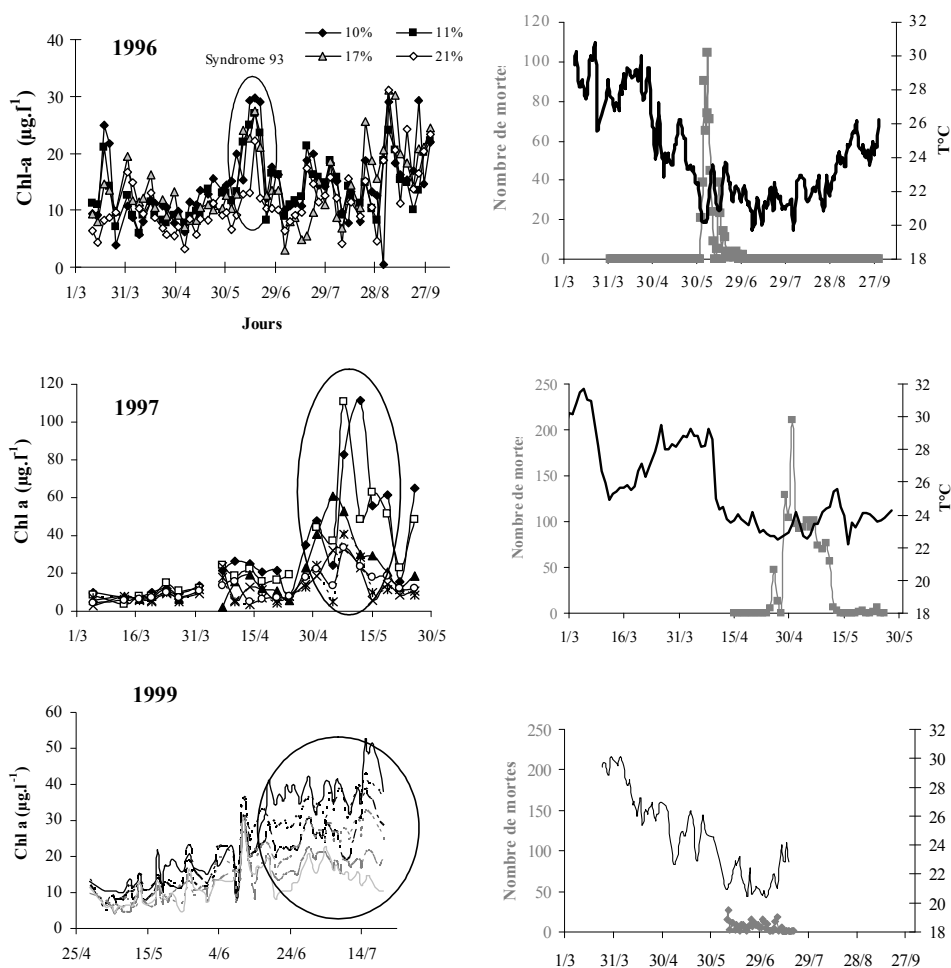


Figure 2.19 : Evolutions (A) des concentrations en chlorophylle a, (B) des températures moyennes journalières et des mortalités dans 6 bassins de terre de 1500 m<sup>2</sup> chacun en 1996 (N=4), 1997 (N=6) et 1999 (N=6).

### 3.3. Le syndrome d'été

#### 3.3.1. Description du syndrome d'été

##### *Dynamique de la mortalité*

Les premières mortes attribuées au syndrome d'été sont observées sur la ferme SeaFarm en moyenne  $58 \pm 8$  jours ( $N = 26$ ) après l'ensemencement des post-larves, à un poids de  $5,3 \pm 0,9$  g, alors que la croissance est forte ( $0,17 \pm 0,02$  g/j) et après une distribution d'aliment de  $169 \pm 46$  g/m<sup>2</sup>. Les coefficients de variation sont respectivement de 13, 18, 10 et de 27 %.

De véritables pics de mortalité de type courbe en cloche ont été observés sur l'ensemble des élevages ensemencés en 1997, 2000, 2001 et sur

certains élevages en 1999 (2 sur 7) (fig. 2.20). Cette dynamique n'a pas été observée en 1998. Il peut y avoir plusieurs pics de mortalité qui se succèdent pour un même élevage. Le premier pic de mortalité se situe autour d'une moyenne de  $73 \pm 14$  jours d'élevage ( $N = 19$ ), à un poids de  $7,7 \pm 2,3$  g, alors que le taux de croissance est de  $0,20 \pm 0,03$  g/j et après avoir distribué  $273 \pm 109$  g/m<sup>2</sup> d'aliment. Les coefficients de variation sont respectivement de 19, 30, 13 et de 40%. Durant la saison 2000-2001, pendant laquelle les mortalités ont été particulièrement marquées, la durée des épisodes de mortalité était comprise entre 8 et 11 jours. Ces épisodes étaient synchrones entre les bassins (Fig. 2.20). Pour un épisode donné, l'intensité des mortalités variait en fonction des bassins. Cinq épisodes successifs ont pu être identifiés sur certains élevages.

##### *Intensité de la maladie*

Le nombre de mortes comptabilisé augmente avec les années suggérant (si les méthodes d'observation ont été constantes) une intensification de la maladie dans le temps : modérée en 1998 et 1999, importante en 2000, très intense en 2001 et 2002. Sur l'ensemble des élevages étudiés, la survie finale est corrélée au nombre de jours pendant lesquels on observe des mortes ( $r^2=0.47$  ;  $p<0.01$ ). De très fortes mortalités (nombre de mortes observées par bassin  $> 500$  sur une même journée) ont été constatées à 6 reprises sur les différents élevages après en moyenne  $83 \pm 15$  jours. Elles sont associées

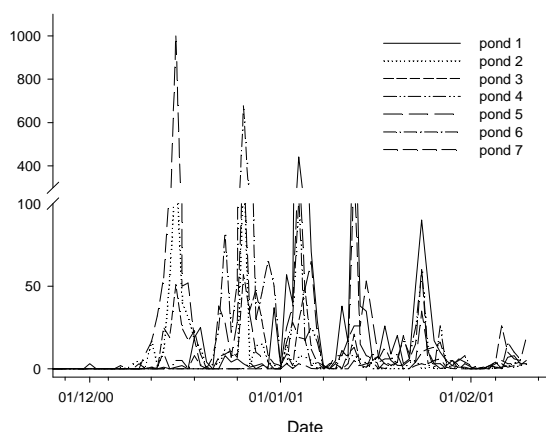


Figure 2.20 : Evolution des mortalités causées par le syndrome d'été et observées sur les berges des bassins de la ferme Sea-Farm sur la saison 2000-2001.



à des situations particulières du bassin : faible renouvellement de l'eau, taux d'alimentation élevé (alimentation *ad libitum*) et/ou à une chute de l'oxygène dissous.

La survie finale diminue significativement ( $p < 0.01$ ) en relation avec le nombre de jours où l'on observe des mortes. La densité finale et la survie finale sont respectivement comprises entre 6,9 et 10,7 animaux par  $m^2$  et entre 22,3% et 36,7%. Les années 1999 et 2000 présentent les résultats les plus faibles ( $p < 0.05$ ). Il existe une relation significative ( $p < 0.05$ ) entre la densité à l'ensemencement (DI) et la survie finale (S) ( $S = 57,9 - 0,95 \times DI$ ). Cette corrélation explique seulement 24,3% de la variabilité. Les bassins ensemencés à très haute densité (39 animaux par  $m^2$ ) montrent les survies les plus faibles.

### 3.3.2. Evolution des pratiques zootechniques

La durée des assecs a fortement fluctué dans le temps. Les assecs étaient extrêmement courts (parfois inférieurs à 10 jours) au cours des six premières années de la ferme. Par la suite, à partir de 1998 pour essayer « d'endiguer » le syndrome d'été, des assecs complets (bassins + canal) ont été pratiqués entre mai et août, sans résultats sur l'expression de la maladie. Les densités moyennes à l'ensemencement suivent une courbe en cloche entre 1991 et 2002. Une densité moyenne maximale de  $37 \pm 2$  animaux au  $m^2$  est atteinte en 1997, l'année d'apparition de la maladie. Par la suite les valeurs diminuent et deviennent inférieures à 25 animaux. $m^{-2}$  à partir de 2002. La figure 2.21 compare la gestion des assecs et des densités à l'ensemencement entre SeaFarm et les autres fermes du Territoire. Jusqu'en 1997, date d'émergence du syndrome d'été, la ferme SeaFarm présentait à la fois les densités les plus élevées et les durées d'assec les plus faibles du Territoire.

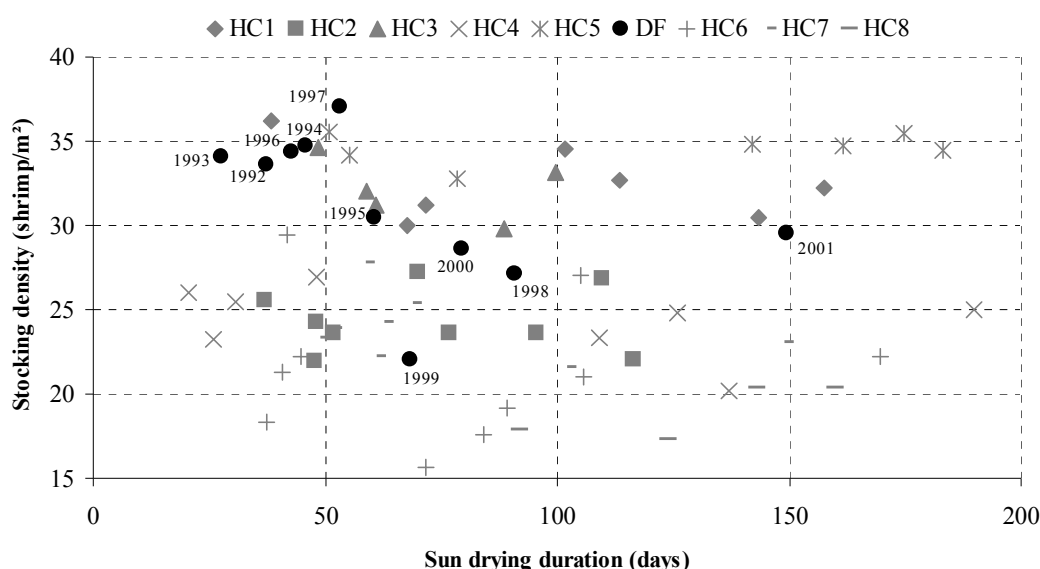


Figure 2.21 : Densités d'élevages en relation avec les durées d'assec. Chaque point représente la moyenne annuelle. HC : ferme sans syndrome d'été ; DF ferme avec syndrome d'été.

On observe aussi une augmentation des vitesses de croissance à 50 jours entre 1991 et 2001 (fig. 2.22A). Le poids moyen à J50 est passé de 2,6 g à 4,6 g pour des élevagesensemencés en septembre, octobre et novembre. L'étude de l'évolution interannuelle des températures enregistrées sur la ferme ne permet pas d'expliquer cette augmentation de croissance. En revanche, la quantité d'aliment distribuée cumulée lors des 50 premiers jours d'élevage a augmenté très sensiblement (34 à 157 g d'aliment /m<sup>2</sup>, fig. 2.22B).

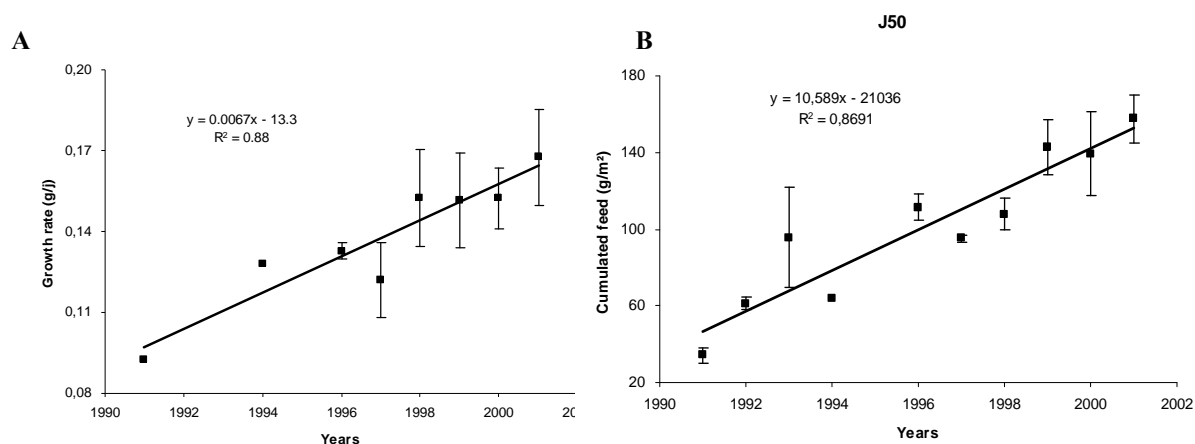


Figure 2.22 : Evolution de la croissance à J50 (A) et la quantité totale d'aliment distribuée sur les 50 premiers jours d'élevage (B).

Pendant le même temps on constate une dégradation des indices de conversion estimés (0,5 à 1,3). La teneur en azote de l'aliment a évolué simultanément de 5,8 à 6,5%. Au final, la production de déchets azotés à 50 jours a augmenté d'un facteur 7 à 10. Parallèlement, les données communiquées par la ferme n'indiquent pas de modification significative des renouvellements d'eau sur la même période. Il faut noter toutefois que l'augmentation des vitesses de croissance sur les autres fermes du territoire est similaire à l'augmentation mise en évidence à SeaFarm (fig. 2.7B).

### 3.3.3. Conditions environnementales lors de l'apparition du syndrome d'été

La maladie s'exprime en début de saison chaude caractérisée généralement par une augmentation de l'ensoleillement et de la température :

- à partir de novembre pour les élevagesensemencés en août,
- à partir de décembre pour les élevagesensemencés en septembre et octobre.

#### *Température, oxygène, salinité*

La température à l'apparition des premières mortes est de  $26,8 \pm 1,8^\circ\text{C}$  le matin et de  $29,1 \pm 2,3^\circ\text{C}$  le soir, aussi bien en période de montée que de descente de température. Les valeurs d'oxygène mesurées en début de mortalité restent en majorité dans une gamme considérée comme « non stressante » pour les animaux (concentrations supérieures à  $3 \text{ mg.l}^{-1}$ ). La fréquence des valeurs inférieures à  $4 \text{ mg.l}^{-1}$  ne

semble pas avoir évolué au cours de l'histoire de la ferme. Elle se situe entre 40 et 60% des observations. La salinité est en moyenne de  $38 \pm 1\%$  lors de l'observation des premières mortes. Ces valeurs ont varié en fonction des années et des bassins entre 36 et 41% sans qu'il soit possible d'identifier une tendance ou une relation de cause à effet dans l'état actuel de l'analyse.

*Biomasse chlorophyllienne et enrichissement organique du milieu*

Au fur et à mesure que l'élevage progresse, la charge croissante des intrants (nourriture) et des crevettes (ainsi que les produits de leur métabolisme) aboutissent à un enrichissement progressif des bassins. La biomasse chlorophyllienne qui atteignait des valeurs  $\sim 40 \mu\text{g.l}^{-1}$  après 110 jours en 1994, atteint en 2001 ce même niveau après seulement 75 jours pour des élevages ensemencés en août (fig. 2.23). Ce résultat traduit une eutrophisation plus précoce du système. Différents suivis de la concentration en Chl-a dans différents bassins sur la saison 2000-2001 mettent en évidence une augmentation de la

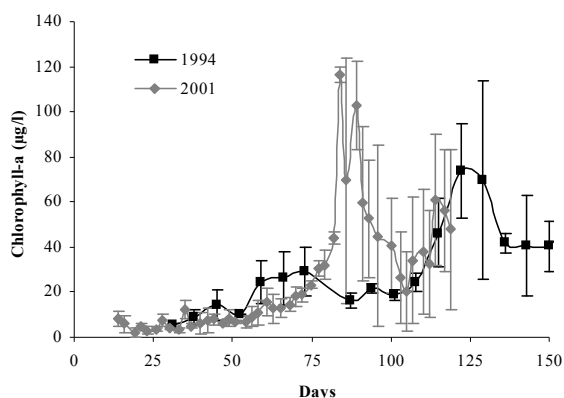


Figure 2.23 : Evolution moyenne des concentrations en Chl-a en 1994 (N=2) et 2001 (N=3) pour des bassins ensemencés en août.

biomasse chlorophyllienne et un enrichissement organique de la colonne d'eau parallèlement à l'apparition des mortalités (fig. 2.24). L'étude des différences de niveau d'oxygène entre soir et matin (production nette en oxygène), confirme cette augmentation de l'eutrophisation du système entre J60 et J120, période pendant laquelle s'exprime la maladie, avec les années. On observe une augmentation de la fréquence de la production nette en oxygène supérieure à  $8 \text{ mg.l}^{-1}$ . Elle passe de 1 à 49% entre 1996 et 2001. Le degré d'eutrophisation entre J60 et J120 à SF est aussi le plus élevé de la filière (fig. 2.25).

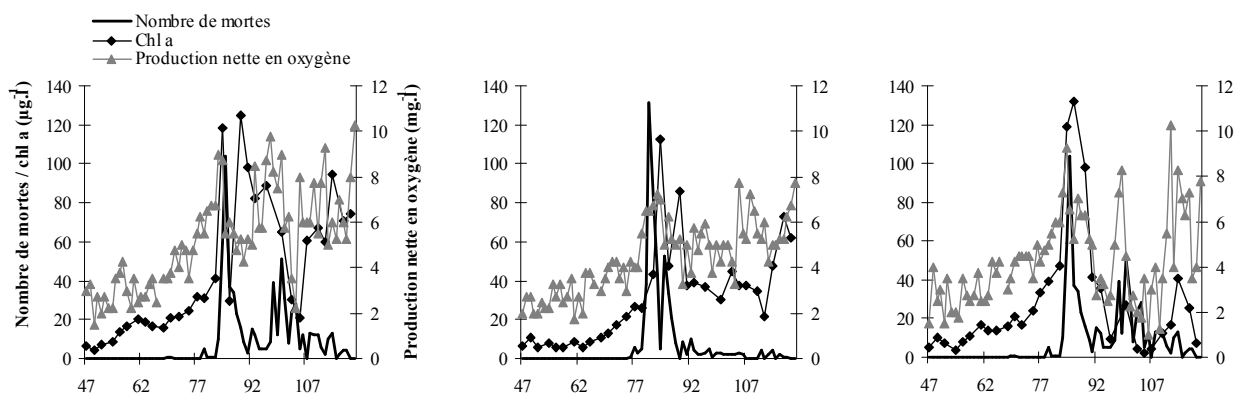


Figure 2.24 : Evolution des mortalités, des concentrations en chlorophylle a et de la production nette en oxygène dans trois bassins de la ferme SeaFarm en 2001-2002 (codes : SF136 ; SF137 ; SF138).

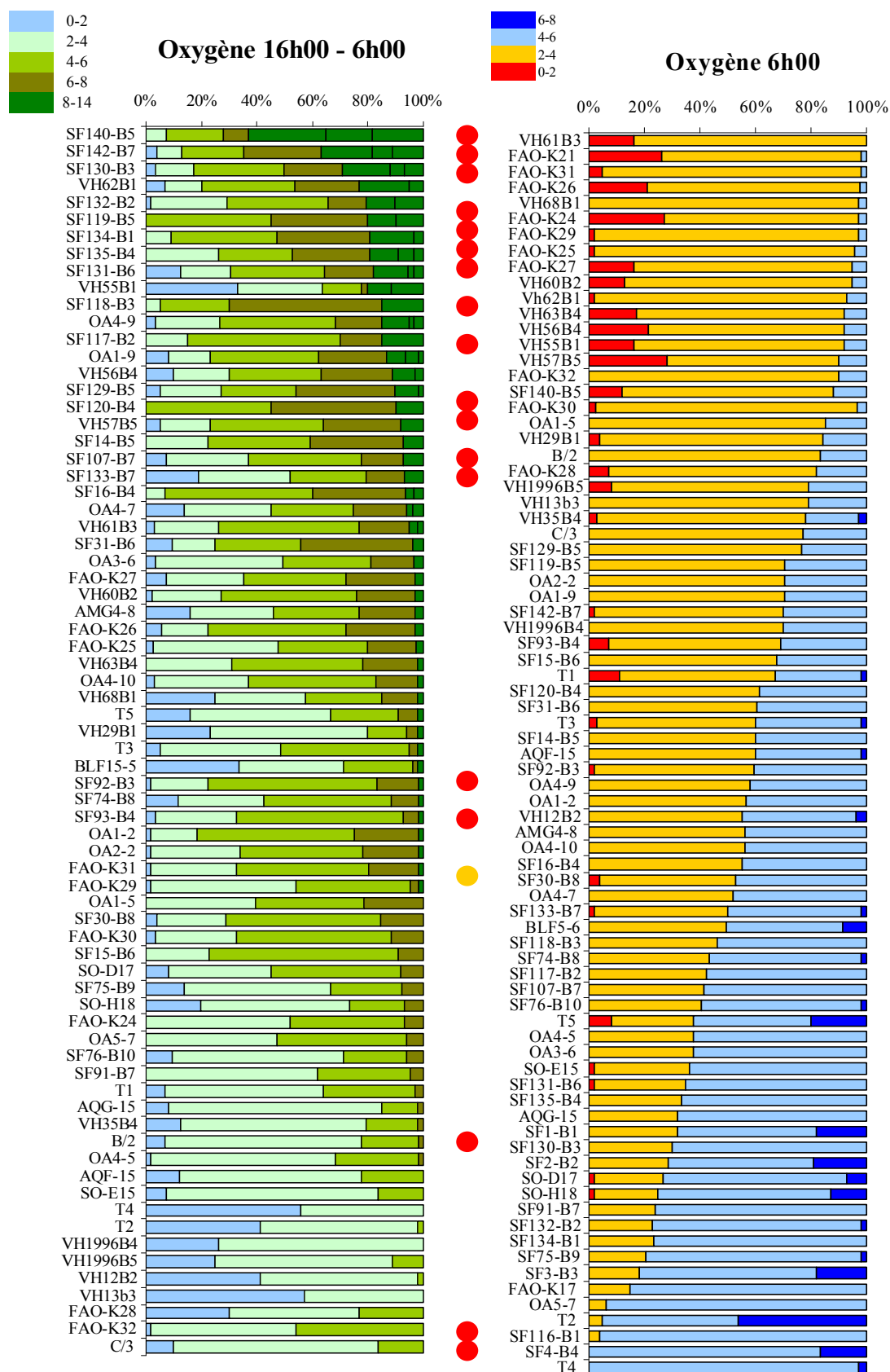


Figure 2.25 : Distribution des valeurs de production nette en oxygène (valeur du soir – valeur du matin) et des valeurs minimales journalières entre J60 et J120 en  $\text{mg.l}^{-1}$ . Les élevages ont été classés respectivement pour des fréquences avec des valeurs minimales  $< 4 \text{ mg.l}^{-1}$  et de production  $> 8 \text{ mg.l}^{-1}$  décroissantes. Les ronds indiquent les élevages qui ont déclaré le syndrome d'été. Le code des élevages de SeaFarm commence par SF.

Sur la saison 2000-2001, plusieurs cycles successifs de mortalité ont pu être observés. La force du vent présente la même tendance. Une augmentation de son intensité précède l'apparition des mortalités (fig. 2.26). On retrouve aussi ces cycles pour la température (données non montrées).

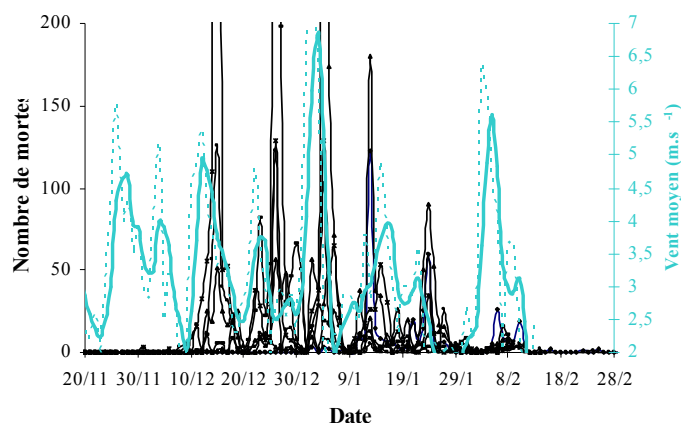


Figure 2.26 : Evolution des mortalités dans 7 bassins et force du vent sur la saison 2000-2001 (données Météo France – Tontouta). La courbe pleine en bleu représente la moyenne mobile d'ordre 3.

### 3.3.4. Extension du syndrome d'été

Dans les mortalités impliquant des vibrioses à *V. nigripulchritudo*, il convient de discriminer d'une part, les épisodes temporaires à caractère opportuniste et d'autre part, la maladie installée durablement, à caractère récurrent et répétitif, le syndrome d'été (DAC, 2006). Ces vibrioses opportunistes ont été observées sur de nombreuses fermes depuis 2003 dans le cadre de la veille zoonitaire (DAC, 2006). Les agents IFREMER en relation avec les services vétérinaires (DAVAR) et à la demande des producteurs peuvent intervenir sur les fermes pour diagnostiquer tout épisode de mortalité. Depuis 2003, les cas des vibrioses à *V. nigripulchritudo* sont en hausse. Sur la saison 2005-2006, ils représentaient 44% des déclarations. Sept fermes ont déjà été touchées dont 3 sont aujourd'hui considérées comme étant affectées par le syndrome d'été : SeaFarm, Aigue-Marine, Ferme Aquacole de la Ouenghi (FAO).

#### 3.3.4.1. Caractéristiques des épisodes de mortalités

##### *Aigue-Marine (AgM)*

En 2003, la ferme la plus proche de SeaFarm, Aigue-Marine qui commençait son activité, a été touchée dès son premier élevage par le syndrome d'été. Cette ferme est constituée de 3 bassins de 10 hectares. Pour le bassinensemencé en août, la maladie est apparue après 87 jours d'élevage (fig. 2.27). Les premières mortes ont été observées dix jours après celles observées à SeaFarm. Pour les bassinsensemencés en octobre – novembre, elle est apparue en moyenne après 51 jours d'élevage.

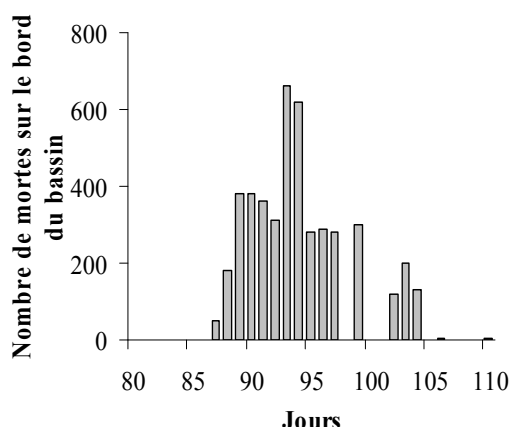


Figure 2.27 : Nombre de mortes sur le bord du bassin A de la ferme AgM au cours de son premier élevage.

Sur la saison 2004-2005, elle s'est de nouveau exprimée entraînant une cessation d'activité de l'exploitation. La survie moyenne était de  $29 \pm 7\%$  pour une densité initiale moyenne de  $20 \pm 3$  anx.m<sup>2</sup>. La ferme présentait toutes les caractéristiques de la maladie à savoir :

- le caractère récurrent et répétitif qui touche tous les élevages sur tous les bassins,
- des mortalités qui apparaissent autour de 60 jours pour les élevagesensemencés en octobre – novembre,
- des survies en final autour de 30%,
- des septicémies monomorphes à *V. nigripulchritudo*, souche « hautement pathogène » (Goarant et al., 2006b).

#### La Ferme Aquacole de la Ouenghi (FAO)

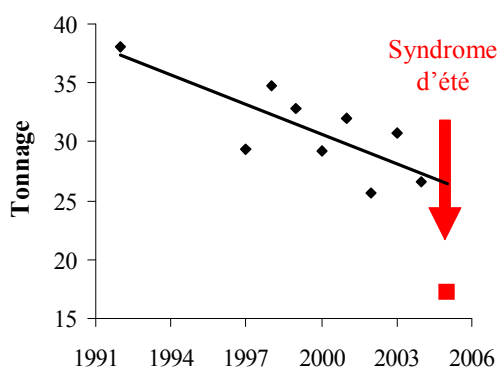


Figure 2.28 : Evolution du tonnage entre 1991 et 2005 réalisé dans le bassin K de la ferme FAO.

La ferme FAO, construite en 1981, est l'un des plus anciens sites aquacoles du territoire. Jusqu'en 1991, elle fût gérée par l'IFREMER pour la mise au point des techniques d'élevage puis, à partir de 1991, par un éleveur privé dans une optique de production. Le type d'élevage pratiqué est semi-intensif. Depuis 1998, la densité à l'ensemencement est comprise entre 20 et 25 anx.m<sup>2</sup>. Le tonnage produit sur le bassin K pour les élevagesensemencés en octobre –novembre a tendance à diminuer depuis 1991 (fig. 2.28). La baisse est significative à partir de 2005.

Un pic de mortalité s'est produit les 24 et 25 mars 2004 après 128 jours d'élevage (J128) sur le bassin K (ensemencé le 11/11/03). L'éleveur a comptabilisé 400 mortes au bord. L'année suivante, un épisode de 10 jours a été observé sur le même bassin à partir du 10 mars 2005 (ensemencé le 17/11//04). L'éleveur a comptabilisé 2113 cadavres. Les crevettes moribondes présentaient toutes une septicémie quasi-monomorphe à *V. nigripulchritudo* (Herlin, 2005). Cet épisode s'est déclaré après 115 jours d'élevage. La survie finale de 54% était proche de la normale pour des cycles de production de saison chaude.

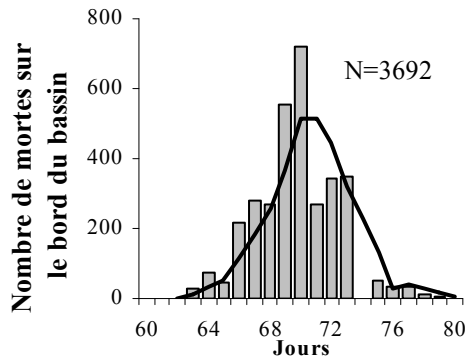


Figure 2.29 : Nombre de mortes sur le bord du bassin K de la ferme FAO en décembre 2005.

Au cours de la saison 2005-2006, la mortalité s'est déclenchée sur le même bassin le 19 décembre 2005 après seulement 63 jours d'élevage (fig. 2.29). Les animaux présentaient dans un premier temps une septicémie quasi-monomorphe à *V. nigripulchritudo* suivie d'une co-infection avec un autre *Vibrio* (Herlin, 2006). La mortalité observée a été particulièrement violente si l'on compare aux données historiques de la ferme SeaFarm. La survie finale de 34% est caractéristique des résultats obtenus en période de syndrome d'été pour ce type d'élevage.

### 3.3.4.2. Pratiques zootechniques sur ces sites

La maladie s'est propagée à deux fermes semi-intensives. Les trois bassins étaient neufs dans le cas de la ferme AgM. Cinq et 30 cycles de production avaient déjà été réalisés dans les 2 bassins de la ferme FAO. La durée des assecs sur FAO était relativement longue depuis 1997, date à laquelle les élevages d'hiver ont été abandonnés. Elles étaient comprises entre 109 et 190 jours depuis 1997. La quantité d'aliment distribuée sur la ferme FAO a augmenté entre 1992 et 2004 (fig. 2.30). En 12 ans, les quantités ont plus que doublé alors que les densités à l'ensemencement ont diminué. La recherche d'une croissance maximale par les éleveurs explique cette tendance (fig. 2.31A). En 2004, après 75 jours d'élevage, les quantités distribuées à AgM étaient équivalentes (environ 200 g.m<sup>-2</sup>) à celles distribuées sur FAO. Avec les années, la distribution de l'aliment est passée d'une tendance exponentielle à une tendance linéaire (fig. 2.30B). L'écart entre 1995 et 2003 est maximal entre J60 et J90.

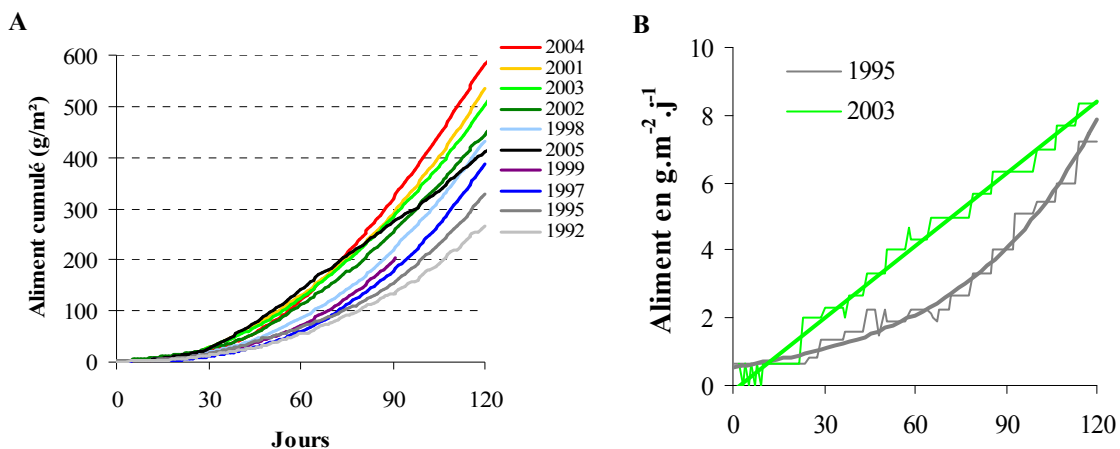


Figure 2.30 : (A) Aliment distribué cumulé pour les élevages ensemencés en oct. et nov. entre 1992 et 2004 dans le bassin K de FAO ; (B) Aliment distribué par jour en 1995 et 2003 sur ce même bassin.

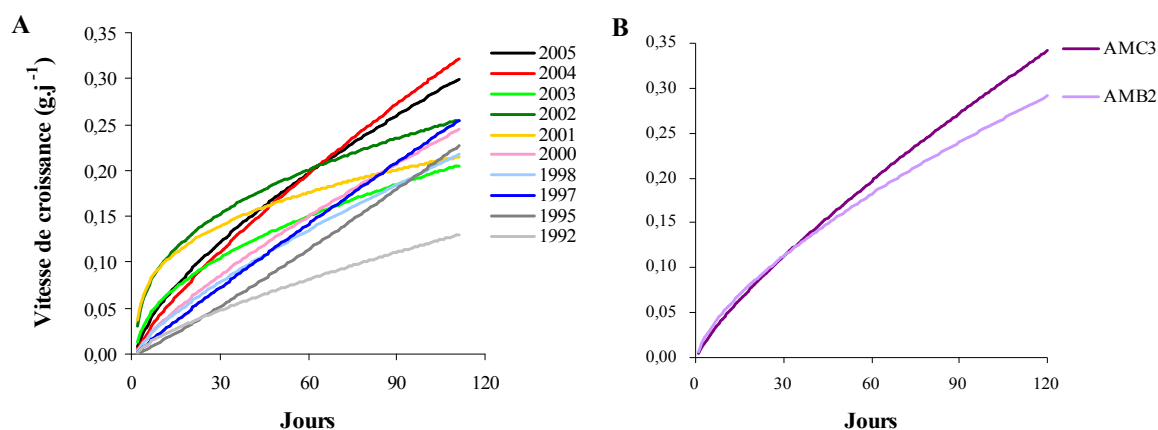


Figure 2.31 : Evolution des vitesses de croissance sur la ferme FAO en fonction des années (A) et sur la ferme AgM en 2003 (B) pour les élevages ensemencés en octobre et novembre.

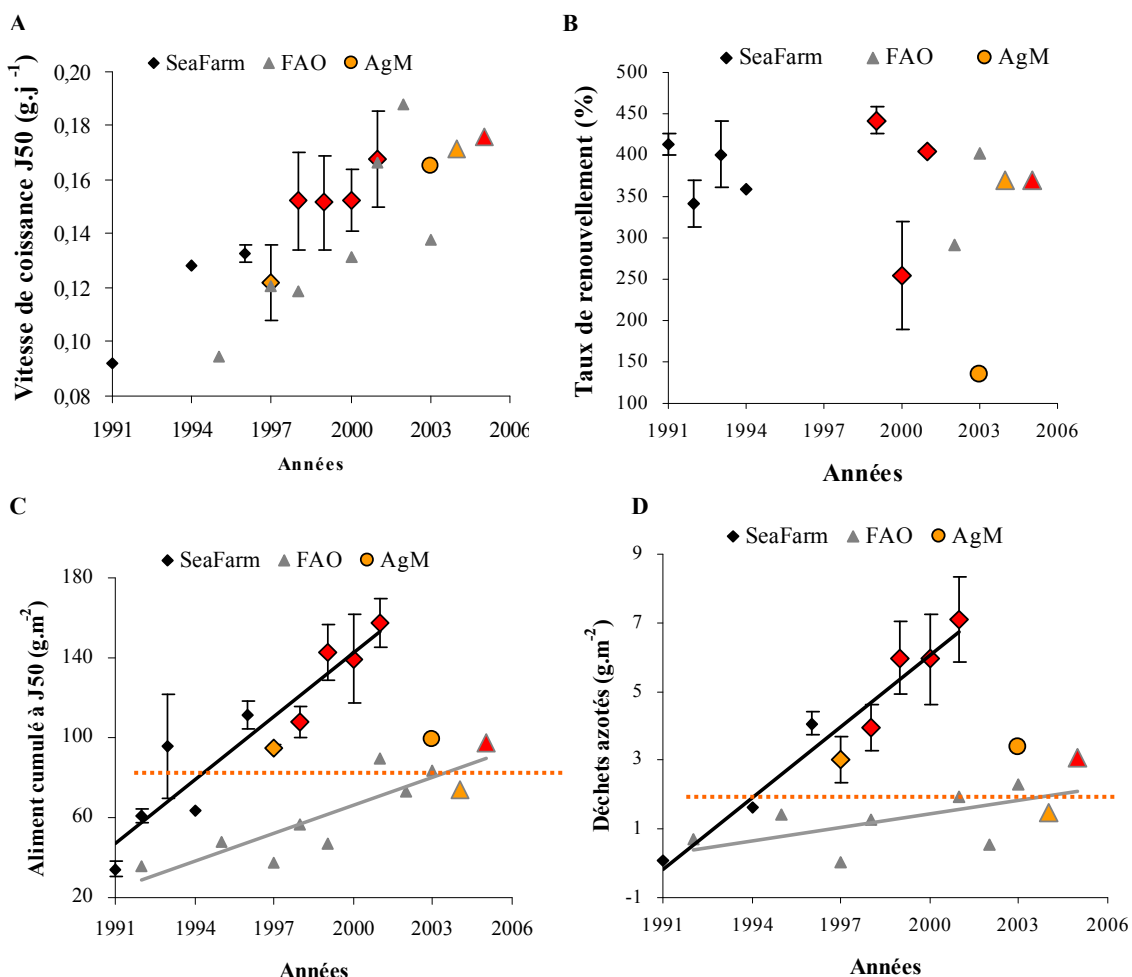


Figure 2.32 : Vitesses de croissance à 50 jours d'élevage (A); renouvellement en eau cumulé (B) Aliment distribué (C), et déchets azotés produits (D) sur les 50 premiers jours d'élevage pour des bassins ensemencés en octobre et novembre. Les symboles en orange et en rouge indiquent respectivement l'année d'apparition des premières mortes associées à *V. nigripulchritudo* et l'apparition de la maladie en tant que telle sur le site.



Les caractéristiques zootechniques des élevages à 50 jours d'élevage, juste avant l'expression de la maladie sont reportées fig. 2.32. A titre de comparaison, les données de la ferme SeaFarm y ont été ajoutées. A l'image de ce que nous avons observé sur la ferme SeaFarm entre 1991 et 2002, les poids moyens et les croissances des animaux ont fortement augmenté à FAO (fig. 2.32). Les élevages exprimant la maladie ont à J50 un poids moyen de 4 à 5g et une croissance de 0,16 à 0,17 g.j<sup>-1</sup>. Les taux de renouvellement pratiqués sur les différentes fermes sont du même ordre de grandeur exception faite pour AgM qui présente des échanges d'eau beaucoup plus faibles (fig. 2.32B). Quelle que soit la ferme, la maladie apparaît pour une distribution en aliment totale sur les 50 premiers jours d'environ 90 à 100 g.m<sup>-2</sup> (fig. 2.32C). La quantité de déchets azotés produite est alors supérieure ou égale à 3 g.m<sup>-2</sup> (fig. 2.32D).

### 3.4.4.3. L'environnement

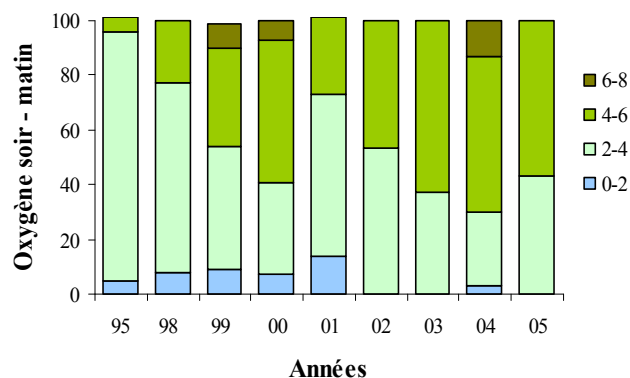


Figure 2.33 : Distribution des valeurs de production nette en oxygène (valeur du soir – valeur du matin) et des valeurs minimales journalières entre J60 et J90.

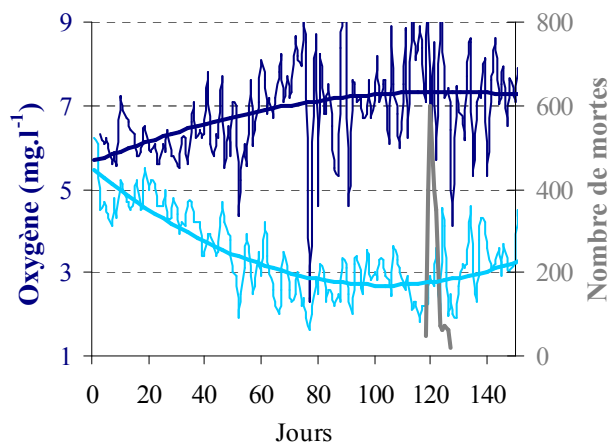


Figure 2.34 : Evolution des concentrations en oxygène le soir et le matin et du nombre de mortes comptabilisées sur le bord du bassin pour l'élevage K31ensemencé en novembre 2004.

La production nette en oxygène est corrélée à la concentration en Chl-a dans la colonne d'eau dont la tendance générale dépend de la quantité d'aliment distribuée. L'apport croissant en aliment entre 1995 et 2005 à FAO a induit une augmentation de la production nette en oxygène (fig. 2.33). Ce résultat suggère une augmentation du niveau d'eutrophisation du bassin entre J60 et J90 avec les années. Les données 2004-2005 d'oxygène du matin et du soir sur cette même ferme suggèrent une augmentation croissante de la biomasse phytoplanctonique entre J0 et J100 (fig. 2.34). Une production en oxygène de 4 mg.l<sup>-1</sup> est atteinte rapidement dans le bassin aux alentours de J60. Les mortalités sur la saison 2003-2004 font suite à une chute des concentrations journalières en oxygène sur la journée (moyenne de 2,4 mg.l<sup>-1</sup>). Sur la saison 2004-2005 s'est déclaré à FAO le premier épisode officiel de mortalité à *V. nigripulchritudo*. Les concentrations en oxygène à 6h00 ont atteint un minimum après 112 jours d'élevage et les valeurs n'ont

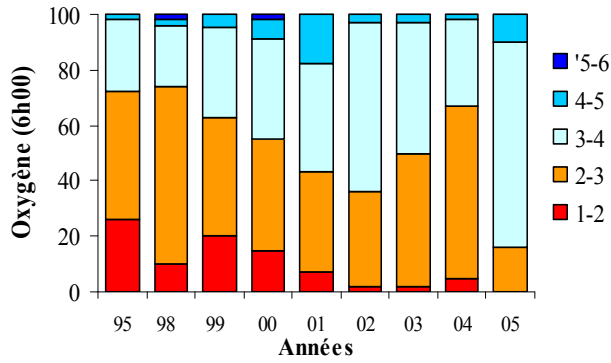


Figure 2.35 : Distribution des valeurs minimales journalières entre J60 et J120 de 1995 à 2005 sur le bassin K de la ferme FAO

pas dépassé le matin 2,2 mg.l<sup>-1</sup> la semaine précédant les mortalités. La production nette en oxygène y a été aussi la plus élevée avec en moyenne 6,7 mg.l<sup>-1</sup> (max de 8,7 mg.l<sup>-1</sup>). De 1995 à 2002, on note une diminution de la fréquence des valeurs inférieures à 3 mg.l<sup>-1</sup> sur la période J60-J120 (fig. 2.35). A partir de 2003, la tendance s'est inversée pour obtenir 50% de valeurs inférieures à ces 3 mg.l<sup>-1</sup>.

#### 3.4.4.4. Données géographiques

Les images satellites (fig. 2.36) montrent le positionnement géographique des trois fermes ayant déclaré la maladie. Elles sont proches les unes des autres. La maladie s'est déclenchée la première fois à SeaFarm puis en partant vers le Sud à Aigue-Marine et à FAO. Aujourd'hui, les fermes les plus proches des foyers infectieux sont les fermes « Pénéides de Ouano » au Nord et IFREMER au Sud. Toutefois, une mortalité suspecte a été observée dans le bassin 1 de l'IFREMER en 2005 et *V. nigripulchritudo* a été identifié sur des moribondes (Herlin, com. pers.).



Figure 2.36 : Positionnement des fermes touchées par le syndrome d'été (cercles rouges) et des fermes les plus proches des foyers infectieux (cercles blancs).

## 4. Discussion

### *Evolution des pratiques zootechniques de la filière*

Trois périodes ont été discriminées pour expliquer les résultats zootechniques de la filière. La première de 1987 à 1988 se caractérise par de faibles rendements. Ces résultats s'expliquent par une faible maîtrise des techniques d'élevage et par une qualité médiocre de l'aliment (SASV, 1991 ; Mermoud et al., 1998). On peut considérer cette période comme une phase d'apprentissage. La seconde entre 1994 et 1997 fait suite à l'émergence du syndrome 93 avec une baisse des survies et en final des rendements. La troisième à partir de 2003 se caractérise par une stagnation des résultats zootechniques de la filière (stagnation du gain annuel des vitesses de croissance et des densités finales en élevage). Toutefois, l'émergence d'une nouvelle crise durable et sérieuse n'est pas à exclure. La fermeture de deux fermes sur la saison 2005-2006, la mauvaise santé zootechnique de la ferme Seafarm, l'extension du syndrome d'été sur la ferme Aigue-Marine en 2002 et sur la ferme FAO en 2005, l'observation d'épisodes de mortalité sur la filière associée à *V. nigrapulchritudo*<sup>9</sup> (DAC, 2006) sont des raisons importantes d'inquiétudes.

L'émergence des maladies s'est faite dans un contexte d'intensification des élevages. Toutefois cette intensification s'est déroulée de différentes manières en fonction des époques (Martin et al., 1992) :

- **Intensification des densités à l'ensemencement.** En 1994, un audit de la filière (anonyme, 1994) recommandait de baisser les densités afin d'augmenter la marge de sécurité face à des impondérables (baisse de la qualité des post-larves, températures froides, dégradation de la qualité de l'eau, de l'aliment...). En effet, comparativement aux autres pays producteurs de l'époque (Equateur et Indonésie), la densité à l'ensemencement et la durée des élevages étaient beaucoup plus élevées. Malgré cette recommandation, on observe une augmentation des densités jusqu'en 1997. Plusieurs travaux ont depuis clairement montré qu'une augmentation des densités induit une production supérieure de déchets, une dégradation de la colonne d'eau et du sédiment (Martin et al., 1992 ; 1998 ; Lemonnier, 1997 ; Lemonnier et al., 2004).
- **Intensification des surfaces de bassins sur les sites sélectionnés.** L'augmentation du nombre de fermes en Nouvelle-Calédonie et donc des surfaces d'élevage pourrait être considérée comme un facteur d'intensification, d'autant plus que la distance entre certaines fermes est aujourd'hui très faible. De nombreuses baies proches les unes des autres accueillent une ferme sur toute la côte Ouest. Cette proximité peut conduire à une dissémination des pathogènes.

---

<sup>9</sup> 4 exploitations ont été affectées en 2003-2004 et 8 sur la saison 2004-2005

- **Intensification par augmentation des vitesses de croissance.** Avec les années, on note une nette augmentation de la quantité d'aliment distribuée par unité de surface et par jour alors que les densités à l'ensemencement diminuent. De 1990 à 2005, la quantité d'aliment distribuée par jour est passée en moyenne de 29 à 43 kg par hectare soit une augmentation de 45%. Ce phénomène induit une augmentation de la production journalière de déchets à recycler au sein de l'écosystème bassin et/ou à évacuer hors de l'enceinte d'élevage (Lemonnier, 1997 ; Martin et al., 1992 ; 1998).

Si la filière a su maîtriser ses densités à partir de 1997, a su augmenter sa durée d'assec à partir de 1994, elle a aussi en parallèle fortement intensifié les élevages eux-mêmes. En effet, la recherche d'une vitesse de croissance optimale à partir de 1997 pour permettre aux élevages d'été de ne pas subir l'arrivée de la saison froide a engendré une forte augmentation de la quantité moyenne d'aliment distribuée par jour dans un bassin. Cette augmentation des vitesses de croissance a même permis dans certains cas la conduite de deux élevages successifs au cours d'une seule saison chaude mais avec des durées d'assec extrêmement courtes voir inexistantes. Cette évolution dans les pratiques d'élevage a permis d'éviter les mortalités liées au syndrome d'hiver. On note aussi une meilleure maîtrise des indices de conversion jusqu'en 2004. On est toutefois en droit de se demander si le milieu d'élevage avec cette nouvelle stratégie a aujourd'hui la capacité suffisante pour assimiler les déchets produits. Les résultats zootechniques se dégradent depuis 2003. Sur certaines fermes, les indices de conversion ont augmenté avec probablement pour résultante une dégradation de la qualité des sédiments (Lemonnier et al., 2004).

### ***Le syndrome 93***

L'apparition de la maladie est associée à des changements dans les pratiques culturales avec en final des durées d'assèchement entre deux élevages courtes de 30 jours et une augmentation des densités à l'ensemencement (Mermoud et al., 1998). Ces deux paramètres sont listés comme des causes majeures d'apparition et de généralisation des épizooties (Bell & Lightner, 1987 ; Lightner, 1993). Par exemple, l'apparition de mortalités en Chine à Hainan a été associée à des densités excessives (Spaargaren, 1998). La densité explique 68% de la variabilité pour la survie lorsque le syndrome sévit. L'augmentation des densités entre 1987 et 1993 a sans doute permis à cette maladie de s'exprimer dans un premier temps de manière aléatoire sur certaines fermes et par la suite de manière systématique. Mermoud et al. (1998) exprimaient déjà leurs doutes sur la date d'apparition de cette épizootie. Les résultats présentés dans ce chapitre vont dans le même sens et dateraient cette émergence aux années 1990-1991. L'effet densité peut intervenir de deux manières ; (i) la première par augmentation de la promiscuité, facteur épidémique généralement de première importance

(favorise la dissémination du pathogène et le stress chez les animaux) ; (ii) la seconde par un effet « eutrophisation de l'écosystème » qui pourrait favoriser le stress des animaux et/ou la croissance et la virulence du pathogène. Dans l'immédiat, les données de la filière ne nous permettent pas de dissocier les deux effets en évaluant un éventuel effet eutrophisation de l'écosystème. En 1996, en conditions expérimentales, avec les mêmes densités initiales et en augmentant le niveau d'eutrophisation, on a observé une augmentation des mortalités et une baisse des survies en fin d'élevage (Lemonnier et al., 2003). En 1997, dans le même type d'expérience, les survies finales reflétaient l'intensité des mortalités qui diminuaient avec l'augmentation des renouvellements. Les mortalités étaient bien corrélées à l'abondance en picoplancton, à la flore vibronacée, à la concentration en phéopigments, en chlorophylle *a* et en matière organique particulaire. Toutefois, les résultats zootechniques ne montraient statistiquement pas de meilleures survies avec l'augmentation des renouvellements (Lefevre et al., 2004). Le faible nombre de réplicats ne permettait pas de conclure sur un éventuel effet des renouvellements. En 1999, les mortalités ont été très faibles mais d'une durée plus longue avec en final des survies comprises entre 36 et 45%. Elles étaient proches de la valeur théorique calculée à partir de la relation densité – survie (fig. 2.14A). La baisse de température a été beaucoup plus régulière que les années précédentes et on a noté un enrichissement organique régulier de la colonne d'eau contrairement à 1996 et 1997. L'ensemble de ces résultats suggère que ce sont les variations brutales du milieu pendant la phase d'eutrophisation qui pourraient constituer un facteur de risque de la maladie en intensifiant les mortalités.

Beaucoup d'auteurs considèrent les variations de température comme le facteur déclanchant du syndrome 93 (Mermoud et al., 1998 ; Chim et al., 2004 ; Goarant et al., 2004 ; Lefevre et al., 2004 ; Wabete et al., 2004 ; 2006). En effet, dans une grande majorité des cas, les mortalités sont concomitantes à des chutes de températures de plusieurs degrés en quelques jours. Toutefois, nous montrons que les variations de température sont bien corrélées au vent à l'intersaison. Un modèle de transfert énergétique pour les bassins d'élevage pourrait être développé en s'inspirant des travaux réalisés par Lamoureux et al. (2006a). Il indique par exemple une baisse de température d'environ 5°C pour une augmentation de l'intensité du vent de 0 à 5 m.s<sup>-1</sup>. Les baisses sont dues à l'évaporation et au phénomène de convection (Lamoureux et al., 2006b). Le vent en favorisant les échanges thermiques eau – air refroidit la colonne d'eau de plusieurs degrés. Mais par frottement avec la couche de surface, il génère aussi de la turbulence dans la masse d'eau. Le frottement de l'eau contre le fond des bassins engendre lui aussi un phénomène de turbulence qui se propage alors vers le haut. Cette turbulence augmente les échanges à l'interface eau – sédiment par remise en suspension des sédiments (Blackburn et al., 1988) induisant un apport en sels nutritifs vers la colonne d'eau. Elle est d'autant plus importante que les bassins sont des milieux peu profonds. L'arrivée de la saison froide se caractérise par un changement important de l'écosystème sur le plan physique par une baisse des

températures mais aussi biologique par une augmentation de la biomasse phytoplanctonique très probablement symptomatique d'une augmentation des échanges à l'interface eau sédiment.

En résumé, le vent serait le principal facteur déclanchant du syndrome 93, car il permettrait de faire coïncider une baisse de la température de l'eau favorable (i) à l'expression de la virulence du pathogène (Goarant et al., 2000), et (ii) à l'expression d'un stress physiologique (Lemaire et al., 2002, Wabete, 2005) et immunitaire (Le Moullac & 2000) des crevettes qui se retrouvent en limite inférieure de préférence thermique et une remise en suspension des sédiments défavorable à la crevette par mise à exposition de composés toxiques du sédiment vers la colonne d'eau (non démontré à ce jour). L'émergence d'un bloom de phytoplancton (en partie toxique) n'est pas à exclure (non démontré à ce jour). Ce dernier point sera discuté dans le chapitre suivant.

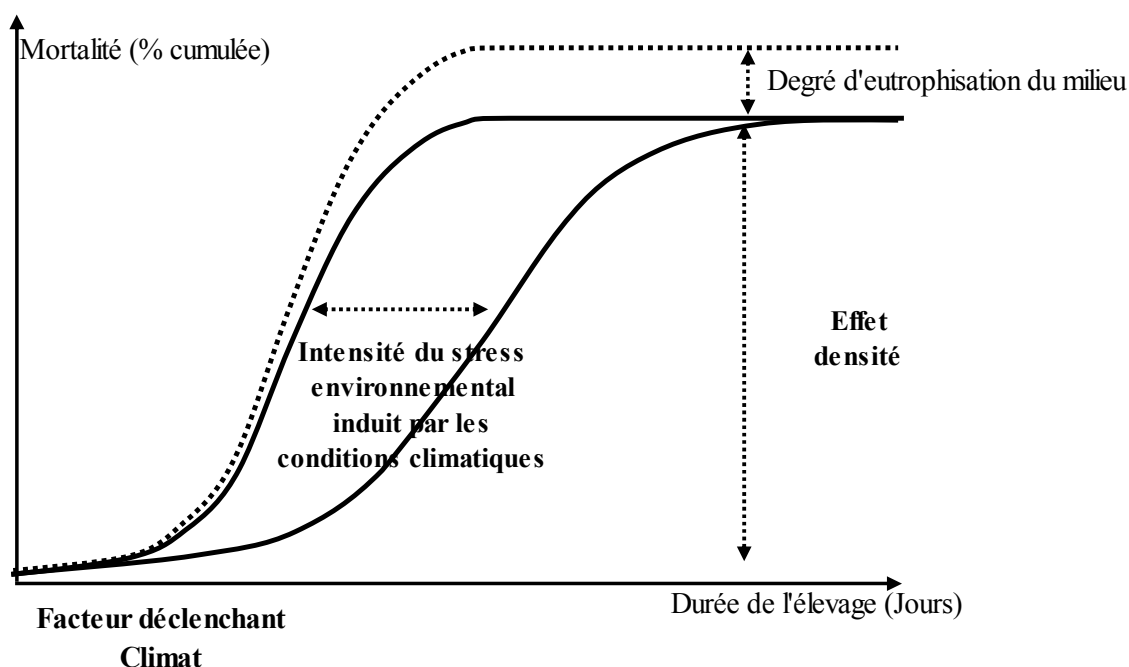


Figure 2.37 : Schéma théorique développé à partir des résultats et des hypothèses de travail sur le syndrome 93. Les conditions climatiques pendant les périodes de transition entre les deux principales saisons seraient responsables d'un stress environnemental. L'intensité des mortalités à un instant T dépendrait de l'intensité de ce stress. La mortalité cumulée en % en fin d'élevage serait principalement liée à la densité initiale. Toutefois, une eutrophisation excessive du milieu est potentiellement un facteur d'intensification de la maladie et permettrait d'expliquer les mortalités les plus fortes.

### ***Le syndrome d'été***

L'assec est réalisé pour aérer les sols, favoriser l'oxydation des composés inorganiques et organiques dont il retarde grandement l'accumulation dans les bassins (Boyd, 1995). Or avant et pendant l'émergence du syndrome d'été, SeaFarm présentait à la fois les densités en élevages les plus élevées

de la filière et les durées d'assec les plus faibles. Elles ont pu conduire à une accumulation de matière organique favorable au développement des *Vibrio* et en particulier aux pathogènes. Ces bactéries sont en effet plus fréquentes dans des sédiments riches en matière organique (Balebona et al., 1998). Elles peuvent même être considérées comme de bons indicateurs de l'enrichissement organique (La Rosa et al., 2001). A partir de 1998, la durée d'assec a augmenté sur la ferme et en août 2000, les sédiments ont été curés. Ces pratiques n'ont été suivies d'aucune amélioration des résultats zootechniques. Malgré ces opérations, Goarant et al. (2006a) supposent que le pathogène survit à l'assec dans des sédiments humides pour réapparaître au cours de l'élevage suivant. Toutefois et d'après Lavilla-Pitogo et al. (1998), l'assec élimine les *Vibrio* qui se rétablissent à l'intérieur du bassin après être entrées avec l'eau de renouvellement au cours de l'élevage suivant. Si l'assec est considéré comme une excellente opération pour préparer les sols à un nouvel élevage, il n'a, *a priori*, pas d'effet curatif dans le cadre de cette vibriose.

En période de syndrome d'été, les survies sont significativement corrélées aux densités initiales. Toutefois, la corrélation explique seulement 24,3% de la variabilité pour la survie. Les densités finales varient entre 6,9 et 10,7 animaux au m<sup>2</sup>. Caldéron et al. (2000) rapportent aussi un effet plus faible du White Spot Syndrome Virus dans des bassins ensemencés à moins de 7,5 anx.m<sup>2</sup>. Nous pensons que l'effet densité existe, bien que faible. A très haute densité, le cannibalisme pourrait contribuer à augmenter le taux de transmission de la maladie (Fegan & Clifford, 2001). Le risque de transmission de bassin à bassin en serait aussi augmenté (Kautsky et al., 2000).

De 1998 à 2001, les mortalités augmentent sans impact notable sur les survies finales. La maladie est de plus en plus « foudroyante » avec le temps. En parallèle, on note une augmentation des croissances qui pourrait avoir comme conséquence d'augmenter la fréquence des mues. Chez *Litopenaeus vannamei*, à l'âge d'un mois, un cycle de mue dure 4,6±0,5 jours. Il est de 11,8±1,7 jours à 3 mois et de 17,2±2,7 jours à 6 mois (Oliveira et al., 2006). Le Moullac et al. (1997) montrent un effet de la mue sur les paramètres physiologiques et immunitaires et une sensibilité plus élevée des animaux en pré-mue qu'en inter-mue à une infection à un *Vibrio*. Cette augmentation de la croissance est aussi observée sur les autres fermes du Territoire mais sans développement de la maladie. Toutefois, cela n'exclut pas le fait qu'une croissance forte pourrait être impliquée dans l'expression de la maladie et définit à terme comme facteur de risque. La mue pourrait être définie comme un marqueur de risque.

De 1991 à 2002, l'augmentation de la croissance s'explique par l'augmentation de l'apport alimentaire et du pourcentage d'azote contenu dans l'aliment. Parallèlement, les taux de renouvellement n'ont pas évolué entraînant une augmentation de la production de déchets dans l'écosystème bassin (Lemonnier & Faninoz, 2006). Comme conséquence, l'eutrophisation des bassins devient de plus en plus précoce.

Les mortalités sont concomitantes à cette eutrophisation précoce du milieu. La ferme SeaFarm apparaît comme la ferme dont le milieu d'élevage est en moyenne le plus eutrophisé de la filière sur la période J60-J120, période pendant laquelle s'exprime l'épizootie. Les concentrations en chlorophylle a enregistrées en 2001 sur cette ferme ont toutefois déjà été mesurées dans des milieux d'élevage mais plus tardivement (Martin et al., 1998 ; Lemonnier & le personnel du LAC, 2004 ; Lemonnier & Faninoz, 2006). Dans l'état actuel de nos connaissances, c'est donc le caractère précoce de l'eutrophisation qui doit être considéré comme un facteur de risque.

Des niveaux faibles en oxygène ont été parfois mesurés en parallèle à de fortes mortalités. Un oxygène bas augmente la sensibilité des crevettes aux *Vibrio* (Le Moullac et al., 1998). Toutefois, les conditions d'élevage restent généralement sur cette ferme dans une gamme considérée comme non stressante pour les animaux en élevage. De plus, SeaFarm ne présente pas les taux d'oxygène (fig. 2.25) les plus bas de la filière mais se caractérise par une plus forte variabilité de son milieu d'élevage. Ces variations sont susceptibles d'exacerber les mortalités comme c'est le cas pour le White Spot Syndrome Virus (Fegan & Clifford, 2001). De manière plus générale, les variations fréquentes et de grande amplitude des paramètres du milieu tels que l'oxygène, la salinité et la température augmentent la sensibilité des crevettes face aux maladies (Kautsky et al., 2000). Elles peuvent aussi avoir un effet sur la virulence des pathogènes comme c'est le cas pour *V. harveyi* (Shivappa, 1997).

Pour conclure :

- une eutrophisation précoce du milieu d'élevage pourrait (i) favoriser le développement et/ou la virulence du pathogène et (ii) diminuer la résistance des animaux,
- Une fréquence de mue élevée ne permettrait pas aux animaux de s'adapter à ces conditions stressantes du milieu.

### ***La propagation du syndrome d'été***

Les premières mortalités apparues sur les élevages 2003-2004 et 2004-2005 sur la ferme FAO sont difficilement associables au syndrome d'été tel qu'il a été défini (DAC, 2005 ; DAC, 2006 ; Goarant et al., 2006a, 2006b; Lemonnier et al., 2006). Ces épisodes ressemblent plus à des vibrioses opportunistes suite à un affaiblissement des animaux lié à des conditions insuffisantes d'oxygénation du milieu d'élevage. En revanche, en 2005-2006, toutes les observations, sur les plans de la zootechnie, de l'environnement et de la pathologie suggèrent l'installation du syndrome d'été sur le site de FAO.



Goarant et al. (2006b) ont montré que le syndrome d'été correspond à l'expression d'un pathogène clonal, hautement virulent et que sa répartition géographique dépasse celle de la maladie à laquelle il est associé. Cette souche a été retrouvée à SeaFarm (saison 2000-2001), à Pénéides de Ouano (saison 2002-2003), à Aigue-Marine (saison 2003-2004), à FAO (saison 2004-2005) et sur le site IFREMER (saison 2004-2005) (Goarant et al., 2006b ; Reynaud, com. pers.). Deux sites sur les cinq n'ont pas développé la maladie. La présence seule du pathogène serait donc insuffisante pour que la maladie se déclare. Sur les autres fermes de Nouvelle-Calédonie, la souche hautement virulente n'a pas été retrouvée. En revanche une souche moyennement virulente est présente et est généralement associée ou non à des épisodes opportunistes (Herlin, 2004).

A SeaFarm comme à FAO, les éleveurs en recherchant une croissance maximale ont intensifié leur système d'élevage avec les années. Pour la gestion de l'aliment, on est passé d'une tendance exponentielle à une tendance linéaire. Il en résulte une augmentation de la production de déchets sur les 100 premiers jours d'élevage et une augmentation du niveau d'eutrophisation du milieu sur cette période. A 50 jours d'élevage, la maladie se déclenche quel que soit le site (SeaFarm, Aigue Marine, FAO) si la quantité cumulée d'aliment distribué dépasse les 90 g.m<sup>-2</sup>.

Toutefois, les bassins de FAO et de Aigue-Marine ne présentaient pas une eutrophisation particulièrement élevée de leur milieu entre J60 et J120 comparativement à ce que nous avons observé à SeaFarm pour les années 1999 à 2002. Ces résultats suggèrent qu'un niveau d'eutrophisation même considéré comme faible (mais cela reste relatif) est suffisant pour que la maladie s'exprime. D'un point de vue environnemental, c'est le caractère précoce de cette eutrophisation qui est le plus à même d'expliquer l'apparition des mortalités<sup>10</sup>.

L'élevage tel qu'il est actuellement pratiqué au sein de la filière associé à une dissémination de ferme à ferme de la souche hautement pathogène pourraient être à l'origine de l'apparition de la maladie à Aigue-Marine puis à FAO.

---

<sup>10</sup> La mesure de la chlorophylle a *in vivo* est un indicateur simple et robuste pour évaluer le niveau d'eutrophisation de la colonne d'eau. Cette mesure pourrait être aisément réalisée par les éleveurs pour le suivi de leurs bassins et permettrait une comparaison inter site plus fiable que la méthode des bilans d'oxygène utilisés dans ce chapitre.

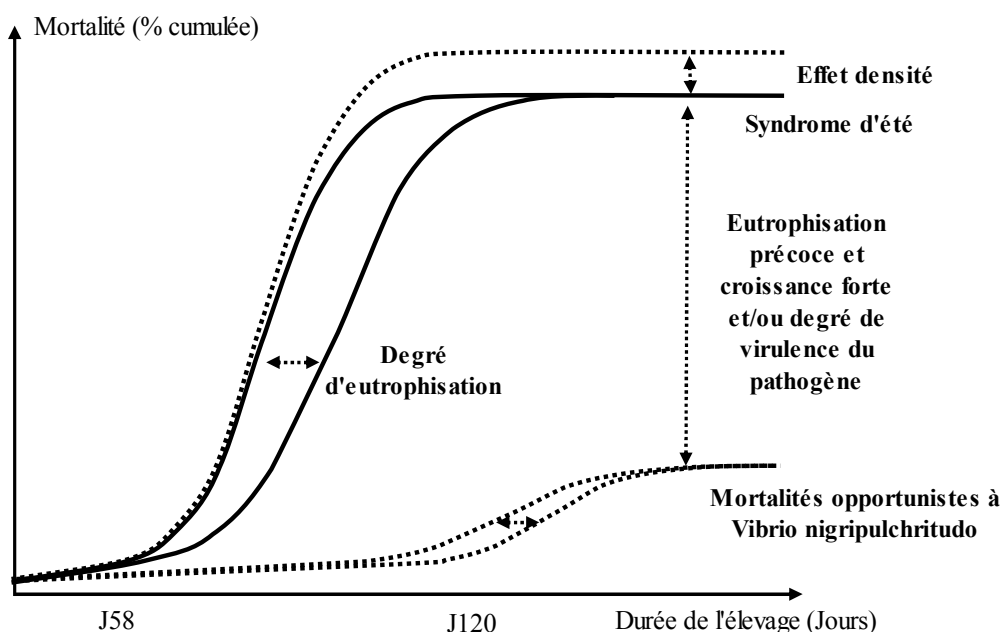


Figure 2.38 : Schéma théorique, établi à partir des résultats et des hypothèses de travail, sur les mortalités à *V. nigripulchritudo*. L'intensité des mortalités à un instant T dépendrait du degré d'eutrophisation du milieu. La mortalité cumulée en % en fin d'élevage pourrait dépendre de plusieurs facteurs : l'eutrophisation précoce du milieu, une croissance forte et/ou le niveau de virulence du pathogène. La densité pourrait être un facteur de risque pour les densités les plus fortes ( $> 35 \text{ anx.m}^{-2}$ ).

## 5. Conclusion et perspectives

Le système d'élevage de la filière crevette est, sous les contraintes économiques, en constante évolution. Une intensification du système d'élevage accompagne l'apparition des deux syndromes. Madec & Tillon (1988) définissent l'élevage intensif comme une méthode d'élevage des animaux, dont l'objectif économique est recherché au travers du meilleur rendement possible des facteurs de production. On peut considérer (i) que cette intensification des systèmes d'élevage conduite sous la pression économique et par la recherche des meilleurs rendements des facteurs de production n'était pas et n'est toujours pas maîtrisée sur le plan biologique. La maladie peut être définie comme une sortie de système. Parallèlement, l'intensification a engendré une modification importante des conditions de milieu. L'animal s'est adapté sous l'influence des innovations alimentaires et de sa domestication. Les évolutions qualitatives de l'aliment et de sa gestion ont permis un net gain de croissance sur ces quinze dernières années. La variabilité génétique de la souche de *Litopenaeus stylirostris* élevée en Nouvelle-Calédonie est aujourd'hui faible (Goyard et al., 2003). Il est difficile de dater cette perte de variabilité mais les généticiens estiment qu'elle a été précoce dans l'histoire de la filière. Il est même probable que cette perte ait eu lieu lors de l'introduction de l'espèce en 1981 (Goyard, com. pers.). L'animal s'est « adapté » à des conditions de croissance plus rapide mais en

même temps aurait peu de réserve d'adaptation pour résister à des pathogènes ou à des conditions délétères de son milieu. Faye et al. (1994) indiquaient que la modification des pratiques et des conditions d'élevage transforment aussi et en permanence l'état sanitaire d'un cheptel.

La notion de facteur de risque renvoie à une situation sur laquelle l'homme peut exercer un contrôle, à l'inverse du marqueur de risque (Faye et al., 1994). La densité et l'eutrophisation précoce pourraient être les facteurs de risque des deux pathologies. En revanche, la mue est un facteur intrinsèque et doit être définie comme un marqueur de risque. Après avoir décrit les facteurs de risque, la prochaine étape sera de mieux préciser les modèles statistiques régissant les liens entre maladie et facteurs explicatifs (Faye & Barnouin, 1996). La connaissance de ces facteurs de risque peut déboucher sur un programme d'intervention dont l'objectif est de modifier les pratiques et les conditions d'élevage liées aux maladies. Ce retour au terrain s'avère aussi indispensable pour valider ou non nos observations. Une politique de prévention doit aussi être élaborée au niveau de la filière en prenant en compte ces facteurs de risque et en tenant compte des objectifs économiques, zootechniques et commerciaux. Il s'agit à terme de normaliser les pratiques d'élevage par la mise en place d'un cahier des charges, de faire évoluer les pratiques en techniques et ainsi diminuer les risques d'apparition et d'extension des épizooties à l'échelle de la filière.

L'extension du syndrome d'été sur de nouvelles fermes est réellement inquiétante pour la filière. De nombreux épisodes de mortalité à *Vibrio nigripulchritudo* ont été déclarés ces dernières années sur plusieurs fermes sans être forcément associés à du syndrome d'été (DAC, 2006). Une enquête en éco-pathologie devrait être programmée rapidement à l'échelle de la filière pour évaluer les facteurs de risque en prenant la mortalité (une typologie devra être réalisée) comme variable à expliquer.

Les problèmes rencontrés au cours de cette étude furent l'accès aux données et leur archivage. Les données utilisées dans ce document sont en grande partie issues de données stockées sous forme papier sur les fermes. Un travail de saisie long et fastidieux a été nécessaire à plusieurs reprises depuis 1993 pour obtenir ces informations. Les données n'étaient pas toujours fiables, elles étaient souvent anciennes et difficilement vérifiables. Par expérience, on note une forte hétérogénéité sur la qualité des données exploitables en fonction des fermes. Il est donc important pour l'analyste d'estimer au mieux cette qualité et de sélectionner les données viables. Les séries de données étaient le plus souvent incomplètes engendrant des difficultés supplémentaires pour des analyses de données complexes. Le nombre trop faible de données disponibles dans le cadre du syndrome 93 a par exemple réduit considérablement notre capacité à définir les causes et peut être les facteurs de risque de la maladie. Si la densité semble être un facteur de risque important, nous n'avons pas pu, à partir des données de la filière, discriminer l'effet « eutrophisation » de l'effet « promiscuité ».

### **Une recherche de sortie de crise...**

Cette recherche devra se faire en explorant différentes voies. Il est peu probable qu'il y ait une solution unique. Toutefois, cette étude apporte des pistes qui pourraient être explorées :

- Maîtrise de la croissance via une alimentation moins « agressive » et/ou avec un aliment appauvri en azote. L'objectif est de ne pas faire coïncider une période de forte croissance des animaux avec un enrichissement organique important de l'écosystème.
- Maîtrise des blooms phytoplanctoniques précoces. Retarder les blooms, diminuer leur intensité, il s'agit de diminuer le niveau d'eutrophisation de l'écosystème. La gestion de l'eau est un outil efficace pour les élevages d'été pour gérer l'intensité et la variabilité des blooms. Les principes de base de la culture continue permettent d'optimiser le taux de croissance tout en fixant un niveau de biomasse (Herbland, 2007).
- Maîtrise des densités à l'ensemencement. Dans le cadre du syndrome 93, on note un effet très significatif de la densité. Des densités supérieures à 20 crevettes au m<sup>2</sup> impliquent généralement des survies faibles. De très bonnes survies apparaissent pour des densités d'environ 15 animaux au m<sup>2</sup>. Des essais devraient être menés à cette densité afin d'optimiser les résultats zootechniques.
- Dans le cadre du syndrome d'été, la faisabilité économique d'un retour vers des élevages d'hiver à basse densité doit être étudiée. Il s'agit d'améliorer le taux d'occupation des bassins, tout en optimisant la durée et la qualité des assec.

### **Stylog : Un outil performant pour l'écopathologie**

La mise en place récente de la base de données Stylog dans le cadre du programme DESANS en relation avec la filière devrait grandement faciliter les échanges entre les professionnels et les scientifiques (Martin et al., 2004). Elle permet d'accéder à des formulaires thématiques regroupant des données liées à l'environnement bassin, au cheptel et aux pathologies (Soulard, 2004). L'éleveur est central dans la collecte des données de terrain et dans sa connaissance de ses élevages (Faye et al., 1994). Il saisit les données à l'aide d'un outil lui permettant de les visualiser sous forme de nombreux graphiques préformatés. L'aspect pédagogique de cet outil a permis son implantation dans de nombreuses fermes depuis deux ans. Plus de la moitié des élevages de la filière ont ainsi pu être archivés depuis la campagne de production 2004/2005 (DAC, 2006). Avec la base Stylog, l'accès aux données par les scientifiques est rapide. Elle devrait permettre d'améliorer les diagnostics et à terme les rendre plus fiables et plus rapides. C'est un atout important en cas d'émergence d'une nouvelle maladie et/ou crise. Enfin, le risque d'implication du sujet-chercheur dans le cadre d'une recherche

sur la gestion de la ferme et donc sur l'évolution ou de l'apparition d'un événement est limitée avec l'utilisation de cette base de données (Calavas et al., 1996). L'interaction entre le dispositif de recherche et l'objet d'étude a été observée dans le cadre du syndrome d'été, l'éleveur ayant adapté sa gestion à court terme en fonction des résultats de l'équipe scientifique. Toutefois, il est probable que l'uniformisation liée à la mise place de la base de données Stylog engendre une perte d'information quant au fonctionnement des entreprises. Il est en effet possible de relier la diversité de saisie sur différents supports à la diversité des modes d'organisation et de gestion interne des exploitations (Mazé et al., 2004). La mise en place d'une stratégie exploratoire devrait à terme faciliter l'exploitation des données de la base Stylog. Un recoupement entre certaines données devrait être possible, permettant ainsi de corriger certaines erreurs, en contactant l'éleveur si nécessaire. La qualité des séries et des données devrait ainsi être globalement améliorée. Un travail d'évaluation et de normalisation de la qualité des données et en particulier des données environnementales doit aussi être mené. La mise en place d'une charte de qualité pourrait être une solution. Ce travail est nécessaire pour permettre des comparaisons optimales et fiables entre les fermes. De nombreux outils sont aujourd'hui disponibles pour des mesures en continu de paramètres physico-chimiques (T°C, salinité, oxygène, turbidité) et biologiques (*Chl-a in vivo*). Ces outils pourraient être implantés sur les bassins des fermes et les données intégrées à la base stylog. Ils permettraient en outre de valider les données fermes.

### **Création d'un groupe de travail d'écopathologie**

Un groupe de travail comprenant les représentants concernés par le travail d'écopathologie pourrait être créé au sein du groupement des fermes aquacoles (GFA) comme il en existe déjà un pour l'étude des fonds de bassin. Ce groupe de travail est l'une des conditions majeures pour de futures études en écopathologie (Faye et al., 1994). Il devrait permettre aux acteurs de la filière de s'impliquer plus fortement dans ce type de travaux et de s'approprier plus facilement les résultats. En pratique, il pourrait réunir les représentants des éleveurs, les organismes de développement, les laboratoires, la cellule vétérinaire (DAVAR) et les scientifiques en charge de l'analyse des résultats.

Le réseau d'éleveurs : Il doit être suffisamment motivé et volontaire pour réaliser au besoin des relevés au quotidien. Des prélèvements pour l'analyse de la chlorophylle-*a* ont déjà été effectués sur plusieurs élevages de plusieurs fermes avec des résultats satisfaisants montrant par là la capacité des éleveurs à effectuer des travaux en collaboration avec les équipes scientifiques (Lemonnier et al., 2006).

Un complexe technico-scientifique : Sa présence s'appuyant sur des techniciens-enquêteurs maîtrisant le problème des élevages et sur des moyens humains pour le traitement de l'information est nécessaire dans le cadre de ce groupe de travail (fig. 2.39). Depuis 2001, l'IFREMER, les services techniques de la DAVAR (Services des Laboratoires Officiels, Vétérinaires, Agroalimentaires et Phytosanitaires de la Nouvelle-Calédonie (LNC) et le Service d'inspection Vétérinaire, Agroalimentaire et Phytosanitaires (SIVAP)) ont associé leurs moyens et leurs compétences pour une veille zoosanitaire de la filière crevette (Primot et al., 2004 ; DAC, 2006). Cette collaboration pourrait être étendue dans le cadre d'un programme en Ecopathologie. (i) La base de données Stylog avec son module veille zoosanitaire, (ii) la mise en place de l'unité IFREMER de Koné et ses techniciens-enquêteurs, (iii) et la collaboration avec la DAVAR sont autant d'atouts qui permettraient la mise en place de ce complexe technico-scientifique.

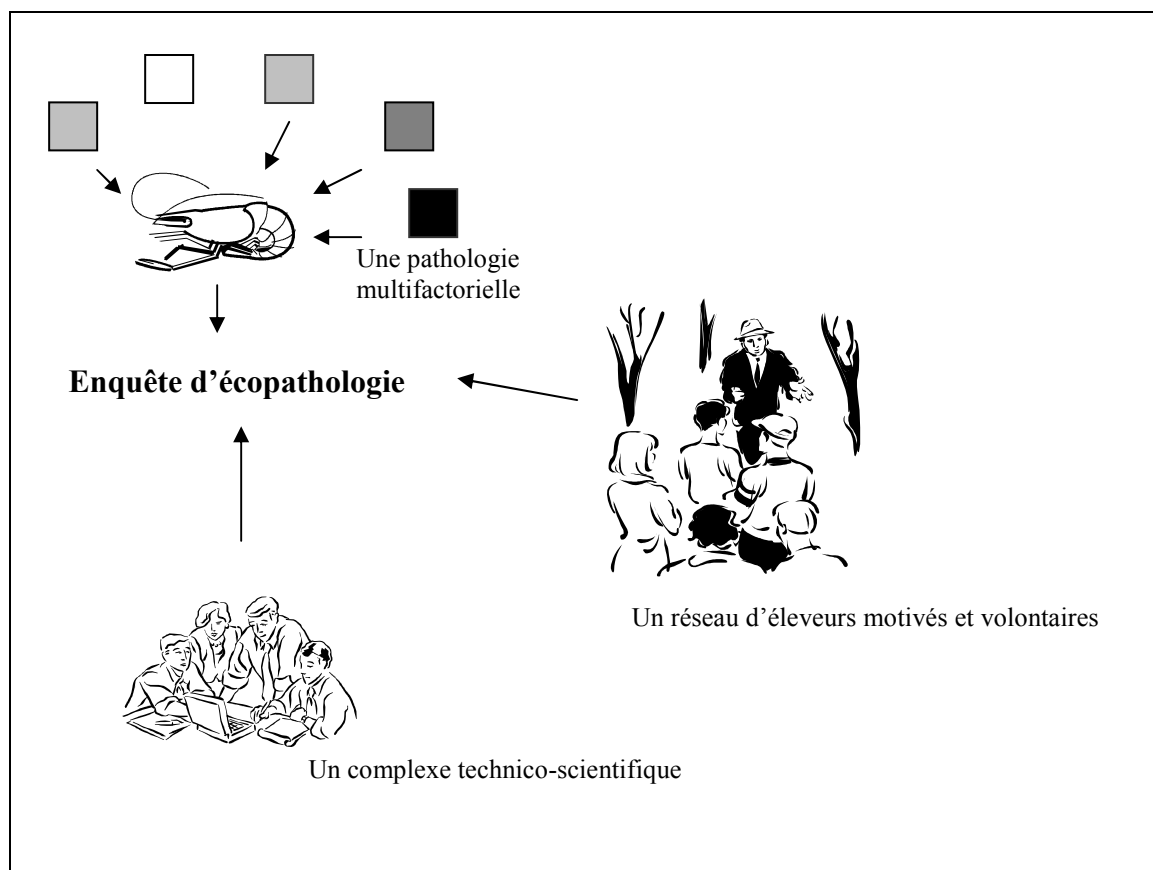


Figure 2.39 : Les trois conditions majeures pour la réalisation d'une enquête d'écopathologie (adapté de Faye et al., 1994). Ces conditions sont actuellement en passe d'être remplies au DAC et devraient permettre d'améliorer significativement les futurs travaux en écopathologie.

### **Perspectives pour l'écopathologie**

- Analyse des données pour définir le poids de chaque facteur et de chaque marqueur de risques dans l'expression des maladies,
- Mise en place d'une enquête écopathologique sur les mortalités à *V. nigripulchritudo* à l'échelle de la filière,
- Mise en place d'une stratégie exploratoire de la base de données « Stylog »,
- Mise en place d'une politique « qualité de la donnée »,
- Mise en place de sondes automatiques pour le suivi de l'environnement,
- Création d'un groupe de travail comprenant les représentants concernés par le travail d'écopathologie.





## Chapitre 3 : Variabilité et dynamique du compartiment colonne d'eau en relation avec les vibrioses

Ce paragraphe a fait l'objet d'une publication et de plusieurs communications orales dans différents séminaires. Une autre publication est en préparation.

**Lemonnier H.**, Courties, C., Herbland, A., Marteau, A-L., in prep. Phytoplankton community's successions in shrimp grow out ponds using flow cytometry. Possible relationship with vibriosis.

**Lemonnier H.** et le personnel du LAC, 2004. Environnement bassin et vibriose dans des élevages de crevettes de saison chaude en Nouvelle-Calédonie. Résultats préliminaires du programme DESANS. *In* : styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Edition Ifremer, Actes Colloq., 38, 187-195.

Courties C., **Lemonnier H.**, Herbland A., 2005. Structure et évolution des peuplements picoplanctoniques de bassins aquacoles mesurés en cytométrie en flux lors des deux syndromes en Nouvelle-Calédonie. Ecosystèmes et crevetticulture en Nouvelle-Calédonie : Séminaire organisé par l'IFREMER à Nouméa du 22 au 24 juin 2005. Communication orale.

Herbland A., **Lemonnier H.**, Torretton J-P, Le Borgne R., Marteau, A-L., 2005. Dynamique de la production planctonique dans les bassins d'élevage. Ecosystèmes et crevetticulture en Nouvelle-Calédonie : Séminaire organisé par l'IFREMER à Nouméa du 22 au 24 juin 2005. Communication orale.

**Lemonnier H.**, Herbland A., 2005. Variabilité des systèmes et évolution des paramètres avant et pendant les vibrioses. Ecosystèmes et crevetticulture en Nouvelle-Calédonie : Séminaire organisé par l'IFREMER à Nouméa du 22 au 24 juin 2005. Communication orale.

### 1. Introduction

Dans le cadre du programme DESANS, on a procédé à une étude globale du système d'élevage en prenant en compte les trois compartiments « environnement, pathogène et crevette ». Deux campagnes d'observations ont été menées en parallèle sur les trois compartiments. L'objectif de ces suivis était de décrire l'apparition des dynamiques de mortalités, en saison chaude comme en saison froide, en intégrant une approche pluridisciplinaire sur les points suivants :

- Etat de santé des crevettes par le biais d'échantillonnages réguliers en plusieurs points du bassin,
- Quantification de la dynamique d'apparition des pathogènes, dans l'eau d'arrivée, la colonne d'eau, l'eau interstitielle du sédiment et dans l'hémolymphe des crevettes,
- Etudes des paramètres biotiques et abiotiques du milieu d'élevage, avec enregistrement automatique et manuel de nombreux paramètres.

La première s'est déroulée au cours de la saison chaude 2002-2003 sur deux bassins de deux fermes intensives, l'une affectée par le syndrome d'été, l'autre non (bassin témoin). La seconde campagne s'est déroulée de février à juin 2004 dans le cadre de l'étude du syndrome 93. A défaut de pouvoir disposer d'un bassin témoin où la probabilité d'apparition du syndrome d'hiver serait quasi nulle, l'objectif était de décrire le plus précisément possible, le long d'un cycle d'élevage les conditions d'apparition de la maladie (DAC, 2006).

Pour l'étude de l'environnement, une stratégie d'échantillonnage des variables chimiques et biologiques a été mise en place (i) afin de recueillir le maximum d'information quant à leur variabilité spatio-temporelle, variabilité qui pouvait être considérée comme source de perturbation pour les animaux en élevage et/ou favoriser l'émergence et/ou la virulence du pathogène (Sung et al., 2001) et (ii) pour l'étude de processus écologiques. Un effort particulier a été consenti pour l'étude du compartiment phytoplanctonique qui prend de plus en plus d'importance au fur et à mesure que l'élevage progresse. La cytométrie est très rarement utilisée pour l'étude de la dynamique phytoplanctonique, bactérienne et virale dans les bassins d'élevage. Pourtant, elle est un outil approprié pour suivre ces populations qui se succèdent et se développent rapidement dans ces eaux très productives (Courties & Bœuf, 2004). Associée aux autres paramètres environnementaux, elle devait permettre une meilleure compréhension des fluctuations de l'environnement de l'élevage. La production bactérienne a été suivie car c'est un descripteur très efficace des « conditions trophiques », c'est-à-dire que l'on intègre en une seule mesure, l'ensemble des flux de matériel détritique qui stimulent la production bactérienne (Torréton, com. pers.).

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Sites d'étude et zootechnie

Dans le cadre du syndrome d'été, la campagne d'observation a été menée simultanément sur deux sites, l'un présentant un fort risque d'apparition de la maladie (ferme DF), l'autre non (ferme HC). Après 5 mois d'assec, les bassins d'environ 3 ha ont été mis en eau le 1<sup>er</sup> octobre 2002 (J-17). Ils ont étéensemencés le 18 octobre 2002 (J0) avec le même lot de post-larves (*Litopenaeus stylirostris*). La densité initiale était de 28 animaux.m<sup>-2</sup> pour la ferme DF et de 33 animaux.m<sup>-2</sup> pour la ferme HC. Les crevettes ont été nourries avec le même aliment commercial (35 à 40% de protéine). La gestion quotidienne était assurée par les éleveurs sans aucune intervention de l'équipe scientifique. L'eau des bassins a été renouvelée quotidiennement. Les bassins ont été fertilisés avec de l'urée (230 kg pour la

ferme DF distribués entre j-10 et j30 ; 200 kg pour la ferme HC distribués entre j-16 et J0). Les deux bassins étaient aérés (AirO<sub>2</sub> et Paddlewheel).

Dans le cadre du syndrome 93, le suivi a été réalisé au cours de l'année 2004 dans un bassin de 1,2 hectare. Ce bassin a été asséché pendant 82 jours avant sa mise en eau le 2 février. Il a été ensemencé avec des post-larves à une densité de 19 animaux au m<sup>2</sup> le 11 février. Les crevettes ont été nourries avec de l'aliment commercial (35-40% protéines). L'élevage a été géré selon les techniques habituellement employées en Nouvelle-Calédonie (Herlin, 1999). L'eau a été renouvelée chaque jour. Les bassins ont été aérés à partir de J91 avec deux aérateurs pour une puissance totale de 3,4 cv/ha. Les mortalités ont été évaluées par comptage des crevettes mortes sur le bord des bassins.

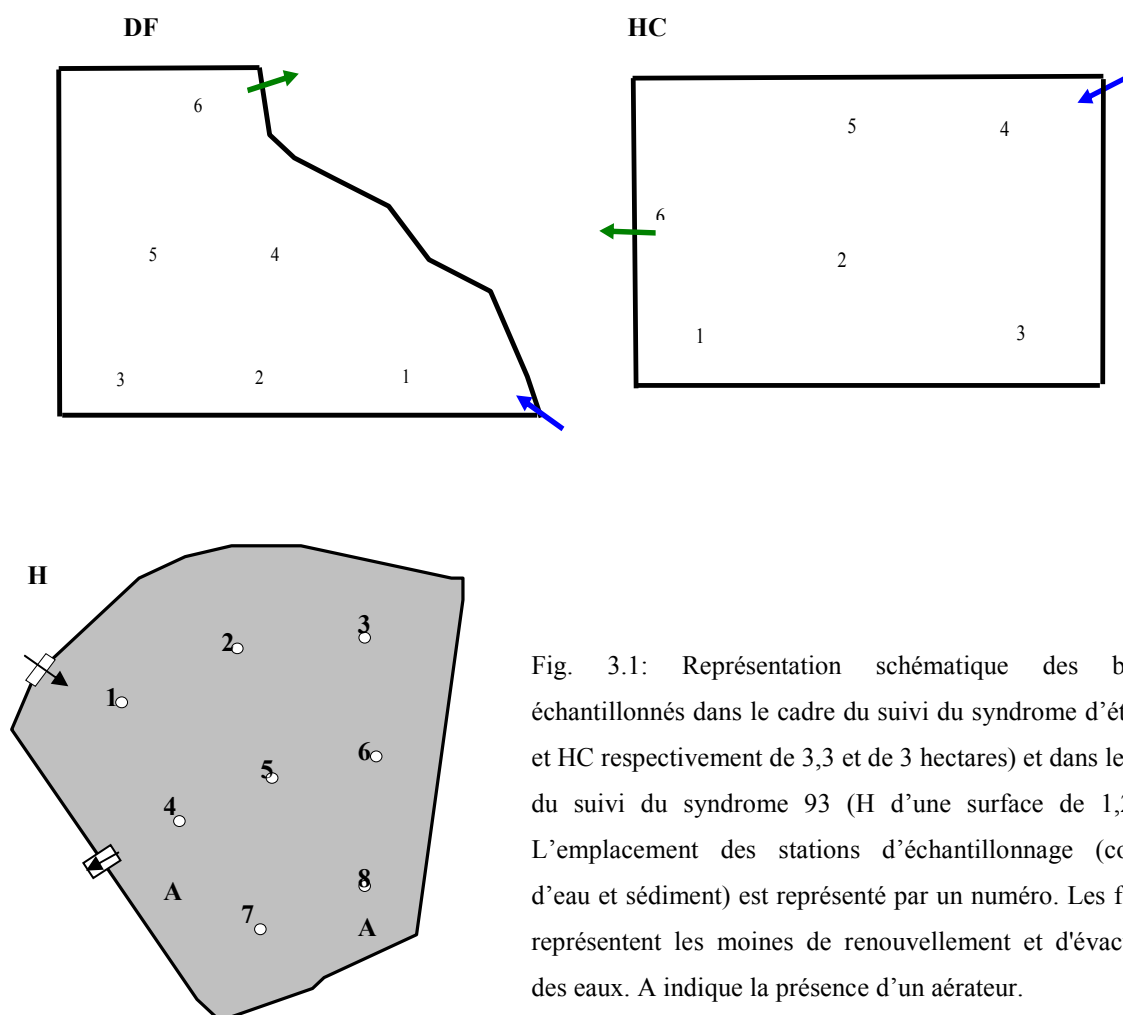


Fig. 3.1: Représentation schématique des bassins échantillonnés dans le cadre du suivi du syndrome d'été (DF et HC respectivement de 3,3 et de 3 hectares) et dans le cadre du suivi du syndrome 93 (H d'une surface de 1,2 Ha) L'emplacement des stations d'échantillonnage (colonne d'eau et sédiment) est représenté par un numéro. Les flèches représentent les moines de renouvellement et d'évacuation des eaux. A indique la présence d'un aérateur.

## **2.2. Choix des variables**

Le tableau 1 liste les variables de la colonne d'eau et indique pour chacune d'elle l'objectif recherché.

## **2.3. Stratégie d'échantillonnage**

Pour le suivi du syndrome d'été, deux litres d'eau ont été prélevés à chacune des trois stations en surface et au fond à environ 5 cm de la surface du sédiment à 6h00 et à 16h00, de manière hebdomadaire de J0 à J32 puis chaque jour entre J32 et J80 en alternance sur la ferme HC et sur la ferme DF. Les objectifs étaient (i) l'étude de la variabilité temporelle, (ii) la recherche des valeurs minimales et maximales et (iii) l'étude de la variabilité journalière. Sur les prélèvements de l'une de ces trois stations (dénommée station de référence), un suivi temporel plus approfondi de la colonne d'eau a été réalisé pour permettre l'étude de certains processus écologiques. Cette station était la plus proche du moine de sortie. Trois stations supplémentaires ont été échantillonnées une fois par semaine sur chaque ferme pour étudier la variabilité spatiale. La température a été suivie en continu avec un pas de temps de 15 min en surface et sur le fond du bassin à l'aide de sondes (Optic StowAway Temp Logger, Aquatic Eco-systems, USA).

Dans le cadre du syndrome 93, un suivi en continu des paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau a été réalisé à l'aide d'un automate mis au point par Hervé Chartois du CREMA-L'Houmeau (Baret, 2004 ; Annexe 6). Il permettait de suivre la température, l'oxygène, le pH et la turbidité avec un pas de temps de 5 min en surface et au fond sur une station de référence (fig. 3.2). Des échantillons d'eau ont été prélevés dans le bassin sur 3 stations (n°2, n°4, n°8) en surface et au fond et dans l'eau de renouvellement le matin (7h00), et le soir (16h00), une fois par semaine entre J0 et J41 et tous les deux jours jusqu'à la pêche finale à partir de J41. Sur les prélèvements de l'une de ces trois stations (n°4, fig. 3.1), un suivi temporel plus approfondi de la colonne d'eau a été réalisé à l'image de ce qui avait été fait dans le cadre du syndrome d'été.

Tableau 3.1 Liste des variables des différents compartiments étudiés en fonction de l'objectif recherché et du suivi (E pour le syndrome d'été ; H pour le syndrome 93).

<b>Paramètres suivis</b>	Evolution temporelle, min. et max.	Variabilité spatiale	Variabilité journalière	Stratification	Suivi en continu
<b>Physico-chimie</b>					
Température	E, H	E, H	E, H	E, H	E, H
Oxygène	E, H	E, H	E, H	E, H	H
pH	E, H	E, H	E, H	E, H	H
Salinité / conductimétrie	E, H		E, H	E, H	
Turbidité	E, H	E, H	E, H	E, H	H
<b>Le particulaire</b>					
MES	E, H	E, H	E, H	E, H	
MOP	E, H	E, H	E, H	E, H	
MM	E, H	E, H	E, H	E, H	
COP	E, H			E, H	
NP	E, H			E, H	
<b>Les sels nutritifs</b>					
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup>	E, H	E, H	E, H	E, H	
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	E, H	E	E, H	E, H	
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	E, H			E, H	
P-PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	E, H	E, H		E, H	
SiO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	E, H			E, H	
<b>La matière organique dissoute</b>					
COD	E, H			E, H	
NOD	E, H			E, H	
<b>Le compartiment phytoplanctonique</b>					
Abondance par genre cytométrie	H			H	
Chl-a in vivo	E, H	H		E, H	
Chl-a totale	E, H	E, H	E, H	E, H	
Chl-a < 2μ	E, H			E, H	
2μ < Chl-a < 20 μ	E, H			E, H	
Chla > 20μ	E, H			E, H	
Production primaire	H			H	
Etude des pigments (HPLC)	E, H			E, H	
<b>Le compartiment zooplanctonique</b>					
Abondance par ordre	H				
<b>Le compartiment bactérien</b>					
Abondance	E, H			E, H	
Production pathogène	E, H			E, H	

## 2.4. Analyses de laboratoire

### 2.4.1. Paramètres physico-chimiques

La température et l'oxygène dissous ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un oxymètre Oxyguard à  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  et à  $\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ . La salinité a été relevée à l'aide d'un réfractomètre ( $\pm 0,5\%$ ). Le pH a été mesuré dans les échantillons à l'aide d'un pH/mvètre KNICK 651. La turbidité et la fluorescence *in vivo* de la Chl-a ont été mesurées avec un fluorimètre de terrain Aquafluor™ Handheld Fluorometer (Turner designs, USA). Le seston total (matières en suspension, MES) a été déterminé par filtration sur membrane Whatman GF/C 47 mm de diamètre (porosité moyenne  $1,2 \mu\text{m}$ ) préalablement calcinée à  $450^\circ\text{C}$  pendant 4 heures. Les fractions organiques (matières organiques particulaires MOP) et minérales ont été calculées par différence de poids après une calcination au four à moufle à  $450^\circ\text{C}$  pendant 4 heures.

### 2.4.2. Les sels nutritifs

Les échantillons ont été immédiatement filtrés à travers une membrane Whatman GF/F. Les analyses colorimétriques pour l'ammoniaque ( $\text{N-NH}_{3,4}^+$ ) (Koroleff, 1976) et les phosphates ( $\text{P-PO}_4^{2-}$ ) (Murphy & Riley, 1962) ont été réalisées manuellement sur les échantillons frais avec un spectrophotomètre Spectronic Genesis 5 (cuve quartz de 10 cm). Des échantillons ont été congelés pour analyse différée des silicates, des nitrites et des nitrates. Les nitrites et les silicates ( $\text{SiO}_2^-$ ) ont été dosés manuellement au spectrophotomètre selon les méthodes respectives de Benschneider & Robinson (1952) et de Mullin & Riley (1955). Les nitrites-nitrates ( $\text{NO}_{2,3}^-$ ) ont été analysés avec un auto-analyseur selon la méthode de Wood et al (1967), adaptée par Treguer & Le Corre (1975).

### 2.4.3. La matière organique dissoute

Les dosages de l'azote total (NOT) ont été réalisés sur chaîne Technicon après une minéralisation des échantillons au persulfate suivant la méthode de Raimbault et al. (1999). L'azote organique dissous (NOD) est calculé par soustraction de l'azote total aux nitrites, aux nitrates et à l'ammoniaque. La matière organique dissoute (MOD) a été analysée après filtration sur filtre Whatman GF/F 47 mm en suivant la méthode de Pagès (Pagès et al., 1997) par lecture au spectrophotomètre Spectronic Genesis 5 dans des cuves en quartz de 10 cm pour des longueurs d'onde comprises entre 200 et 350 nm.

#### 2.4.4. La matière organique particulaire

Le carbone organique et l'azote particulaires ont été déterminés, après filtration sur membrane Whatman GF/F 25 mm de diamètre préalablement calcinée, par analyse au CHN, de marque Carlo Erba, modèle 1500, selon la méthode de Hedges & Stern (1984). L'acétanilide a été utilisé comme standard. Une décarbonatation des échantillons sous vapeur d'acide sulfurique a été réalisée avant les analyses.

#### 2.4.5. La biomasse phytoplanctonique

Vingt cinq à cinquante ml d'échantillon ont été filtrés sur filtre Whatman GF/F pour l'analyse de la Chl-a et des phéopigments. Les filtres ont été congelés dans des cupules protégées de la lumière avant analyse. Les concentrations en pigments ont été mesurées par fluorescence (Holm-Hansen et al., 1965) avec un fluorimètre Turner 112, à 665 nm, avant et après l'acidification d'un extrait méthanolique (méthanol 100%) de pigments. Les fractions de taille de la Chl-a ont été déterminées (<2 $\mu$ m ; entre 2 et 20 $\mu$ m et >20 $\mu$ m) par filtration de 10, 25 et 50 ml sur membranes Nucléopore pour la fraction inférieure à 2 $\mu$ m et sur une soie de nylon pour la fraction inférieure à 20 $\mu$ m.

#### 2.4.6. Analyse par cytométrie en flux (FCM)

Des échantillons de 2 ml dans lesquels on a ajouté 1% de paraformaldehyde (concentration finale) ont été fixés dans de l'azote liquide puis conservés à -80°C avant analyse au cytomètre en flux. Une fois décongelés à température ambiante, les échantillons ont été analysés avec un cytomètre FACScan en flux (BD-Biosciences, San Jose, CA) équipé d'un laser argon (488 nm, 15 mW). Le premier millilitre d'échantillon a été utilisé pour l'analyse du phytoplancton et le second pour le comptage des bactéries. Les cellules phytoplanctoniques ont été discriminées après analyse multiparamétrique des propriétés de taille apparente (SSC-H) et de fluorescence rouge (FL3-H > 670 nm) et orange (FL2-H, 560-620 nm), fluorescence respectivement liée aux pigments de phycoérythrine et de chlorophylle. L'acquisition des données a pu se faire avec le logiciel CellQuest software (BD-Biosciences). Les données sont analysées à l'aide d'un cytogramme avec des échelles logarithmique comprenant deux graphes. Le premier SSC versus FL2 permet de discriminer les cyanobactéries et les cryptophytes, le second SSC versus FL3, les cellules contenant des pigments chlorophylliens (Legendre et al., 2001). Un standard interne (billes de 1  $\mu$ m - Polysciences Inc., Europe) est simultanément analysé afin de normaliser les propriétés des cellules discriminées. Le volume pour l'analyse est compris entre 225 et 400  $\mu$ l. Les concentrations en cellules sont calculées en prenant en compte le volume initial et le volume non utilisé par l'analyse.

Pour l'analyse de l'abondance bactérienne, les échantillons ont été marqués avec du SYBR Green I, marqueur spécifique de l'ADN (Molecular Probes, 1/10000<sup>e</sup> de la solution commerciale). L'excitation lumineuse à 488nm, disponible sur le cytomètre, permet de mesurer la fluorescence verte (512 nm) émise par chaque cellule marquée au SYBR Green qui contient de l'ADN. La mesure simultanée de la fluorescence rouge émise par les cellules contenant de la chlorophylle (phytoplancton) permet de différencier les populations bactériennes hétérotrophes (qui ne fluorescent qu'en vert) de celles autotrophes qui présentent une double fluorescence (verte pour l'ADN et rouge pour les pigments chlorophylliens) (Lebaron et al., 1998 ; Marie et al., 1999 ; 2006).

#### 2.4.7. La Production bactérienne

La production bactérienne est estimée par incorporation de thymidine (TdR) [methyl-<sup>3</sup>H] dans l'ADN (Fuhrman & Azam, 1982). Des triplicats de 1,5 ml sont incubés dans des tubes eppendorf à l'obscurité et à température des échantillons avec une concentration de thymidine de 15 nM TdR (concentration finale ; Amersham France). Après une heure d'incubation, l'incorporation est stoppée par addition de formol (5% au final). Les échantillons sont centrifugés et le surnageant éliminé. Le culot est rincé avec de l'acide TrichloroAcétique (TCA 5% w/v). L'opération est répétée 3 fois. Les tubes sont placés dans des fioles à scintillation, hydrolysées 30 min avec de l'acide chlorhydrique 0,5N et reçoivent 4 ml de liquide scintillant. La quantité de radioactivité incorporée par les bactéries est mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation. Le rendement du comptage est déterminé à l'aide d'un standard externe. L'incorporation est calculée après soustraction d'un témoin. La production bactérienne est exprimée en  $\mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}$  qui représente le taux d'incorporation de <sup>3</sup>H-TdR.

#### 2.5. Analyse des données

Les données sont présentées sous forme de moyennes, d'écart types, de minima et de maxima. Elles ont été transformées en  $\log(X+1)$  pour être normalisées. Des analyses de variance ont été utilisées pour l'étude de la variabilité du milieu. Des corrélations de Pearson (Sokal & Rohlf, 1995) sur les données transformées ont été utilisées pour l'étude des associations possibles entre les sels nutritifs et les paramètres phytoplanctoniques et entre la matière organique et les paramètres bactériens. Une analyse en composantes principales (ACP) normée a été réalisée à partir d'une matrice de 116 observations et de 25 variables (Legendre & Legendre, 1998). Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels Statview 4.02 ® (Abacus Concepts) et Statgraphics plus 5.1.



### 3. Résultats

#### 3.1. Le syndrome d'été

##### 3.1.1. La zootechnie

Les premières mortalités ont été observées à J50 à un poids moyen de 5,8 g sur le bassin de la ferme DF et ont été importantes autour de J59 et de J77 (fig. 3.2A). Le syndrome d'été ne s'est pas exprimé sur la ferme HC. La survie finale a été respectivement sur les fermes DF et HC de 27% et de 62%.

La quantité d'aliment distribuée à J50 était similaire sur les fermes et d'environ 200 kg pour une quantité totale cumulée distribuée depuis le début de l'élevage d'environ 5 tonnes par bassin (fig. 3.2B).

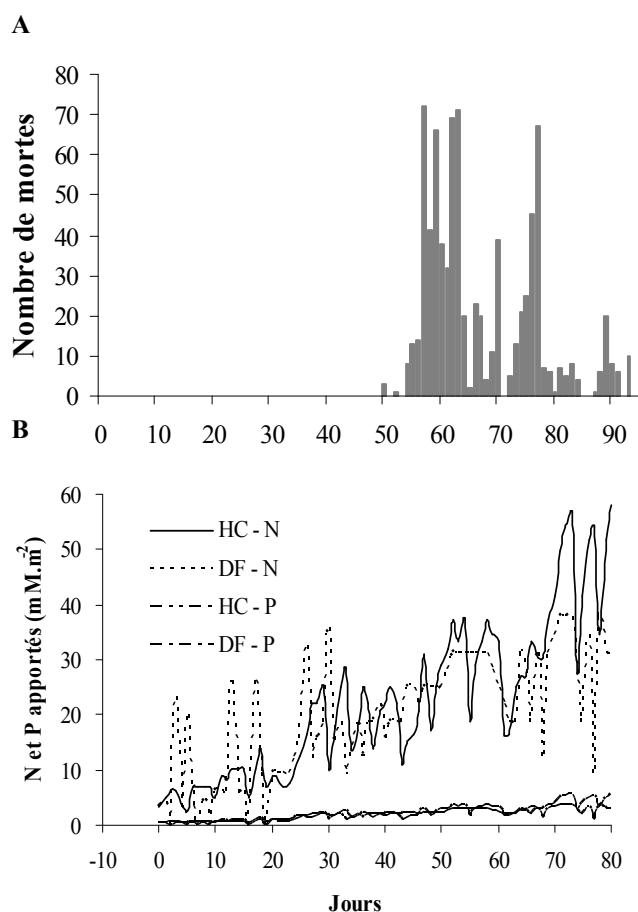


Figure 3.2. (A) Nombre de mortes comptées sur le bord des bassins sur la ferme DF. (B) Azote et phosphore apportés par les éleveurs sous forme d'aliment et de fertilisants au cours de l'élevage.

##### 3.1.2. Variabilité de La colonne d'eau

###### 3.1.2.1. Variabilité spatiale et stratification

La variance moyenne et les coefficients de variation (CV) ont été calculés pour caractériser la variabilité spatiale dans le milieu (Tab. 3.2). On note des CV très élevés pour les matières minérales et paramètres associés (turbidité, MES). La variabilité spatiale est plus élevée sur le fond qu'en surface, et le soir que le matin sur les deux fermes. Cette variabilité est plus élevée sur la ferme HC que sur la ferme DF quelles que soient la zone et l'heure d'échantillonnage. Les CV pour la Chl-a sont plus élevés le soir sur le fond des deux fermes. Les variances et les coefficients de variation pour les paramètres dissous sont faibles et inférieurs à 5% quelles que soient l'heure et la zone

d'échantillonnage exception faite pour l'ammoniaque. Pour ce paramètre, on note un coefficient de variation proche de 10% le soir en surface et au fond sur la ferme DF.

Tableau 3.2 : Analyse de la variabilité spatiale de la colonne d'eau avec variance moyenne et coefficients de variation (entre parenthèses) pour chaque variable, établie à partir de 12 séries de données.

	DF				HC			
	6H00		16H00		6H00		16H00	
	Surface	Fond	surface	Fond	Surface	Fond	surface	Fond
T°C	0,062 (0,2)	0,035 (0,1)	0,031 (0,1)	0,025 (0,1)	0,008 (0,0)	0,011 (0,0)	0,019 (0,1)	0,034 (0,1)
Oxygène	0,071 (1,8)	0,047 (1,1)	0,166 (1,7)	0,148 (1,9)	0,029 (0,7)	0,057 (1,2)	0,163 (1,6)	0,252 (3,1)
pH	0,004 (0,0)	0,001 (0,0)	0,001 (0,0)	0,001 (0,0)	0,001 (0,0)	0,001 (0,0)	0,003 (0,0)	0,003 (0,0)
Turbidité	0,64 (30)	1,87 (39)	0,53 (14)	1,62 (44)	1,01 (15)	5,54 (45)	0,80 (14)	50,17 (273)
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup>	0,0253 (2,0)	0,0405 (1,6)	0,1529 (10,5)	0,1734 (8,8)	0,0436 (4,8)	0,0409 (5,4)	0,0096 (2,2)	0,0291 (3,6)
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,0010 (0,9)	0,0059 (3,1)	0,0004 (0,5)	0,0004 (0,4)	0,0009 (1,1)	0,0023 (3,1)	0,0011 (1,7)	0,0010 (1,0)
P-PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,0009 (1,8)	0,0011 (2,0)	ND	ND	0,0003 (0,8)	0,0004 (1,0)	ND	ND
MES	28 (140)	153 (576)	79 (241)	118 (359)	121 (257)	456 (738)	304 (761)	1818 (1759)
MOP	3 (41)	5 (64)	4 (49)	5 (44)	7 (72)	11 (99)	12 (111)	27 (200)
MM	19 (142)	113 (605)	61 (295)	86 (401)	74 (221)	338 (682)	199 (708)	1515 (1690)
Chl-a	15,5 (32)	25,6 (45)	38,8 (30)	11,1 (83)	4,6 (20)	6,7 (18)	6,4 (27)	35,1 (91)
Phéo.	1,4 (19)	2,6 (27)	2,7 (35)	2,7 (26)	1,4 (20)	1,8 (16)	0,9 (11)	3,6 (62)

ND: Absence de données

Le tableau 3.3 montre la moyenne des écarts « fond – surface » afin de caractériser la stratification du milieu. Les moyennes sont élevées pour les matières minérales et paramètres associés (turbidité et MES). Pour les autres paramètres, les écarts restent peu importants comparativement aux valeurs mesurées. L'analyse des données de température prises en continu montre un écart moyen entre le fond et la surface respectivement pour la ferme DF et la ferme HC de  $-0.1 \pm 0.3$  °C et de  $-0.1 \pm 0.2$  °C. Les écarts minimum et maximum sur les deux bassins sont respectivement de  $[-1.7 ; +1.6$  °C] et de  $[-1.2 ; +1.3$  °C].

Tableau 3.3 : Moyennes des écarts ( $\pm$  écart-types) pour l'étude de la stratification.

	DF		HC	
	AM	PM	AM	PM
T°C	-0,02±0,16	0,14±0,10	0,10±0,11	0,22±0,24
Oxygène (mg.l <sup>-1</sup> )	-0,03±0,33	0,23±0,29	0,01±0,23	0,55±1,09
pH	0,00±0,04	0,00±0,03	0,00±0,03	0,01±0,07
Turbidité (NTU)	-0,77±1,08	-1,01±1,37	-2,15±3,65	-3,39±7,04
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup> (μmol.l <sup>-1</sup> )	-0,017±0,145	-0,083±0,359	-0,020±0,281	-0,034±0,197
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (μmol.l <sup>-1</sup> )	-0,011±0,100	-0,004±0,040	0,004±0,052	-0,005±0,046
P-PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (μmol.l <sup>-1</sup> )	-0,001±0,021	ND	-0,003±0,030	ND
MES (mg.l <sup>-1</sup> )	-2,76±11,88	-2,81±8,91	-8,86±25,70	-6,32±56,37
MOP (mg.l <sup>-1</sup> )	-0,07±2,64	-0,05±2,32	-0,78±4,45	-0,33±6,35
MM (mg.l <sup>-1</sup> )	-2,61±10,34	-3,06±7,68	-8,34±21,97	-6,00±51,47
Chl-a (μg.l <sup>-1</sup> )	0,9±6,7	-0,8±4,5	-1,4±3,2	-3,2±9,5
Phéopigments (μg.l <sup>-1</sup> )	-0,2±1,8	-0,6±1,8	-0,9±1,7	0,1±0,1

On note un effet significatif vertical et horizontal essentiellement pour les matières minérales (Tab. 3.4). Sur le nombre total d'échantillonnages, 50% des cas présentent une stratification de la colonne d'eau pour la turbidité. Cette stratification est essentiellement liée à la matière minérale. On ne note pas de stratification pour la matière organique et uniquement à deux reprises pour la biomasse chlorophyllienne. Une variabilité horizontale est montrée à plusieurs reprises pour la matière minérale et pour la turbidité.

Tableau 3.4 : Analyse de variance à deux facteurs (vertical - horizontal) testée toutes les semaines pour l'étude de la variabilité spatiale à DF.

	-3	4	11	18	25	32	40	46	54	60	66	74
T°C												
Oxygène												
pH												
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup>												
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>												
Turbidité		V		V			V	V		H	VH	
MES		H								H	V	
MOP												
MM		H			V			H				
Chl-a				H								
Phéopigments												

Table 3.4 - suite : Analyse de variance à deux facteurs (vertical - horizontal) testée toutes les semaines pour l'étude de la variabilité spatiale à HC.

	-2	5	12	19	26	33	39	47	53	61	67	73
T°C												
Oxygène												
pH												
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup>												
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								V				
Turbidité				VH	V	V		V	V			V
MES		H			V						V	V
MOP												
MM		H			V						V	V
Chl-a						V					V	
Phéopigments											V	V

V = effet vertical significatif (p<0.05) ; H effet horizontal significatif p<0.05). HxV : effet couple

*Pour conclure, une variabilité spatiale et une stratification ont été montrées essentiellement pour les matières minérales et la turbidité dans les bassins. Elles sont plus élevées à HC qu'à DF.*

### 3.1.2.2. Variabilité journalière

Le tableau 3.5 présente la somme des écarts journaliers afin de caractériser la variabilité journalière. La comparaison de ces écarts entre les deux fermes montre des valeurs plus élevées sur la ferme DF pour l'oxygène, l'ammoniaque, la Chl-a et les phéopigments. L'évolution de la biomasse en

chlorophylle a entre 6h00 et 16h00 exprimée en pourcentage des valeurs matinales montre à plusieurs reprises un doublement de la biomasse au cours de la journée. Elle est en moyenne plus élevée sur DF que sur HC avec respectivement des valeurs de  $+8 \pm 38\%$  et de  $-4 \pm 24\%$ . La matière minérale et les paramètres associés présentent des écarts plus importants pour la ferme HC (tab. 3.4). Ces écarts sont proches que ce soit en surface ou au fond pour les autres paramètres suivis.

Tableau 3.5 : Sommes des écarts journaliers (16H00 – 6H00) (étude de la variabilité soir - matin) établies à partir des données de 3 stations par bassin (valeurs intégrées sur toute la durée du suivi).

	DF		HC	
	Surface	Fond	surface	Fond
T°C	215.6	204.1	201.7	200.8
Oxygène (mg.l <sup>-1</sup> )	374.7	353.7	282.9	261.1
pH	19.04	17.7	18.0	18.2
Turbidité (NTU)	112.4	166.6	118.7	212.5
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup> (μmol.l <sup>-1</sup> )	41.5	40.1	8.2	12.3
N-NO <sub>2</sub> (μmol.l <sup>-1</sup> )	1.4	4.3	2.1	3.4
MES (mg.l <sup>-1</sup> )	787	833	1284	1118
MOP (mg.l <sup>-1</sup> )	282	234	330	257
MM (mg.l <sup>-1</sup> )	550	652	974	921
Chl-a (μg.l <sup>-1</sup> )	544.5	613.8	297.4	407.4
Phéopigments (μg.l <sup>-1</sup> )	272.1	247.9	123.8	146.8

### 3.1.2.3. Variation d'un jour sur l'autre

#### Les paramètres physico-chimiques

La moyenne journalière de la température établie à partir des données prises en continu était de  $28,9 \pm 0,9^\circ\text{C}$ . Les valeurs ont varié entre 22 et  $32^\circ\text{C}$  (fig. 3.3). La différence de température entre les deux bassins n'est pas significative que ce soit en surface ou au fond. La salinité était plus élevée sur la ferme DF sur les quarante premiers jours d'élevage (fig. 3.4A). Le pH évolue de manière semblable sur les deux fermes (fig. 3.4B). Les valeurs sont généralement supérieures de 0,2 unités entre les deux sites sur les 45 premiers jours d'élevage. L'évolution temporelle est complexe et les valeurs varient d'une unité sur l'ensemble du suivi. L'évolution des concentrations en oxygène à 6H00 mesurées sur les deux sites montre des

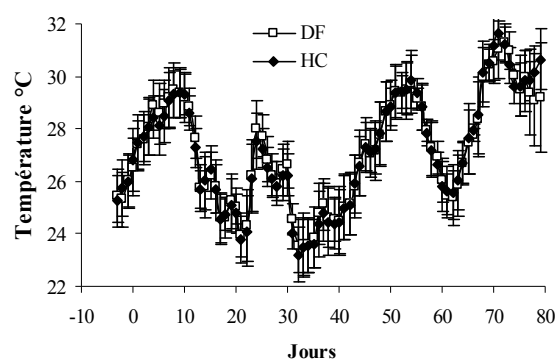


Figure 3.3 : Evolution de la température moyenne journalière de la colonne d'eau sur les deux sites.

valeurs qui diminuent significativement entre J0 et J80 (fig. 3.4C) avec respectivement pour les fermes DF et HC :

$$\text{Oxygène 6h00 (mg.l}^{-1}\text{)} = -0,046 \times (\text{nombre de jours}) + 6,50 ; r^2 = 0,80$$

$$\text{Oxygène 6h00 (mg.l}^{-1}\text{)} = -0,023 \times (\text{nombre de jours}) + 5,98 ; r^2 = 0,35.$$

Elles deviennent inférieures à 4 mg.l<sup>-1</sup> après J40. La pente est plus faible sur la ferme HC. La tendance linéaire n'explique dans ce cas que 35% de la variabilité alors qu'elle explique 80% de la variabilité à DF. Les valeurs de Chl-a le soir sont beaucoup plus variables sur la ferme DF que sur la ferme HC (fig. 3.4D)

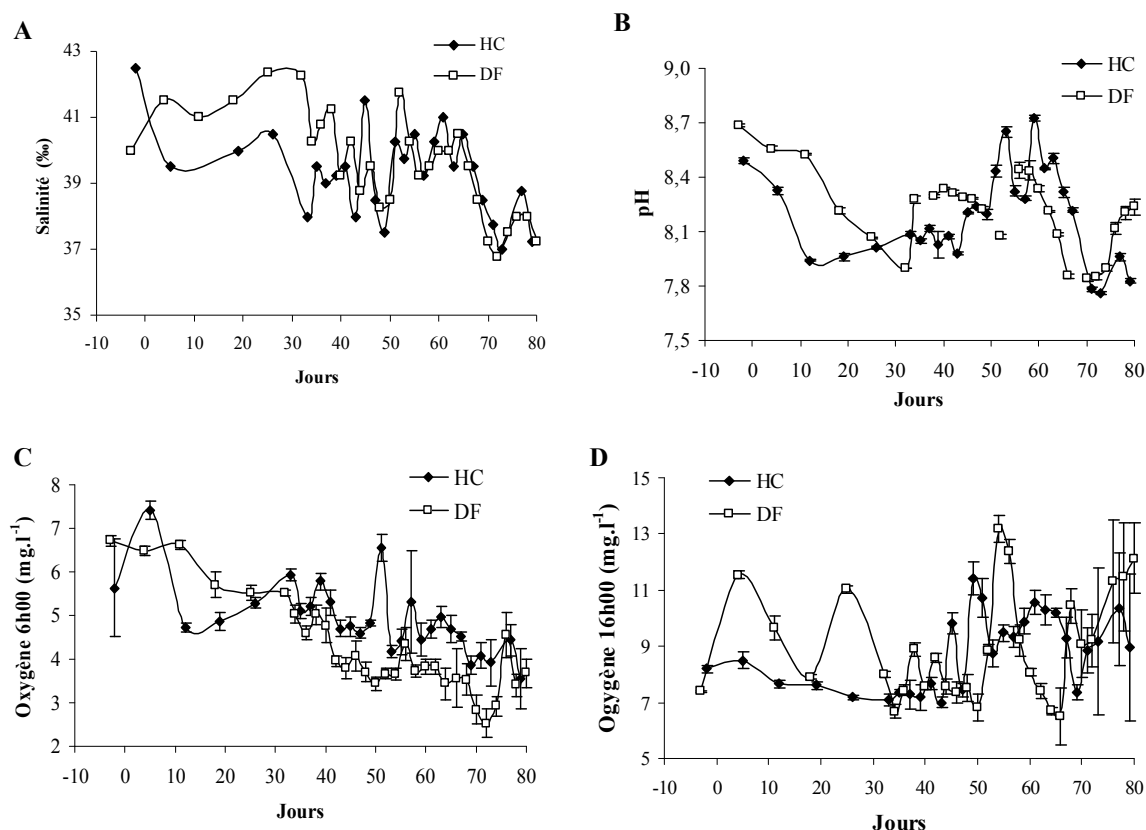


Figure 3.4 : Evolutions moyennes de la salinité, du pH et de l'oxygène à 6H00 et à 16H00 sur les deux fermes. Les barres représentent les écart-types.

### Les sels nutritifs

L'ammoniaque représente 83% ±15% de l'azote minéral dissous. Trois pics d'azote ammoniacal ont été observés sur la ferme DF à J36, J50 et J64 et pas sur la ferme HC (fig. 3.5A). Ils sont concomitants à une forte augmentation des rapports N/P. Le rapport moyen à HC et à DF est respectivement de 31 et de 45. Les valeurs varient respectivement pour les deux bassins entre 4 et 117 et entre 1 et 195. Les valeurs pour les phosphates sont comprises entre 0 et 0,1 μmol.l<sup>-1</sup> quel que soit le bassin. Les

concentrations en nitrite sont similaires entre les deux fermes. Elles sont faibles et comprises entre 0,05 et 0,15  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . Les silicates sont élevés lors des 30 premiers jours d'élevage. Les valeurs sont comprises entre 0,8 et 27,4  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  (fig. 3.5B). Le rapport Si/P est compris entre 2 et 1095 pour des valeurs moyennes de 193 et 114 à HC et à DF. Le rapport Si/N montre des valeurs moyennes de 3,3 à HC et de 5,0 à DF. Les valeurs varient respectivement entre 0,8 et 27,4 et entre 0,9 et 11,8.

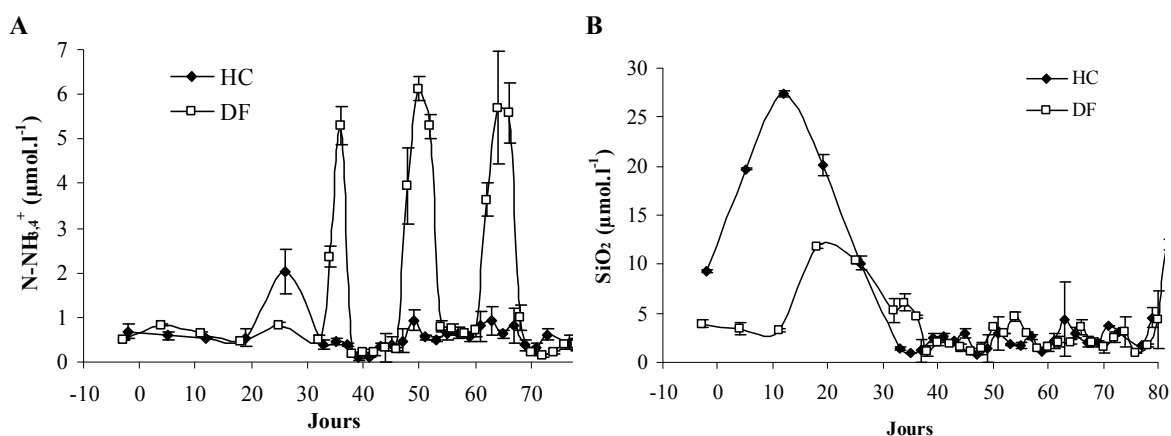


Figure 3.5 : Evolutions temporelles des concentrations en ammoniacque et en silicates sur les deux fermes. Les barres représentent les écart-types.

#### La matière organique dissoute

Les évolutions des concentrations en N organique dissous (fig. 3.6A) sont similaires entre les deux fermes mais les valeurs sont généralement plus élevées sur la ferme DF (autour de 30  $\mu\text{M}$  contre 20  $\mu\text{M}$  sur la ferme HC). Le carbone organique dissous mesuré par la méthode de Pagès montre les mêmes tendances (fig. 3.6B).

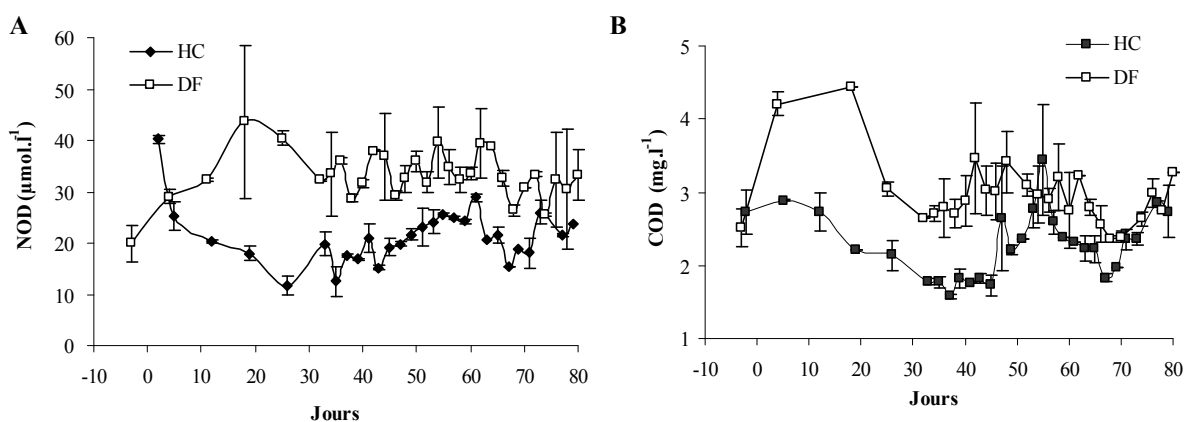


Figure 3.6 : Evolutions temporelles des concentrations en azote organique dissous (NOD) et en carbone organique dissous (COD) sur les deux fermes (N=2). Les barres représentent les écart-types.

*Les matières particulaires*

L'évolution des matières minérales diffère entre les fermes (fig. 3.7A). On note une augmentation des concentrations beaucoup plus précoce sur la ferme HC que sur la ferme DF. Les valeurs deviennent similaires entre J50 et J70 puis redeviennent plus élevées sur HC en fin d'élevage. A l'image des matières minérales, la turbidité présente les mêmes profils (données non montrées). La turbidité est significativement corrélée ( $p < 0.01$ ) à la concentration en matières minérales et à la Chl-a. Les régressions linéaires expliquent respectivement 58% et 28% de la variabilité observée. L'évolution générale des paramètres liés à la matière organique particulaire (C, N, MOP) est la même sur les deux bassins. La figure 3.7B présente l'évolution générale de la MOP sur les deux bassins. Les valeurs absolues et l'amplitude des variations d'un jour sur l'autre sont légèrement plus fortes sur la ferme DF que sur la ferme HC. Cette évolution est à relier à l'évolution de la Chl-a.

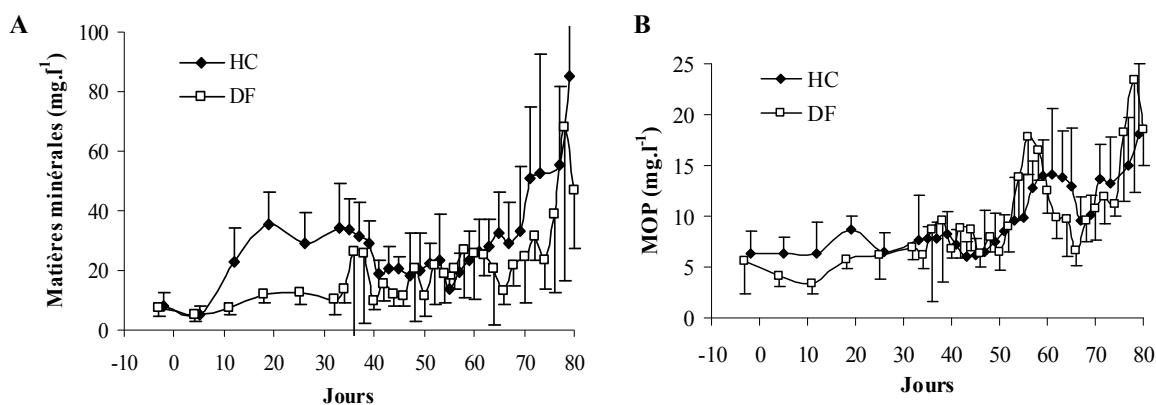


Figure 3.7 : Evolution journalière moyenne des matières minérales et de la matière organique particulaire sur les deux fermes (N =12). Les barres représentent les écart-types.

*Le compartiment phytoplanctonique*

La biomasse

L'évolution des phéopigments et de la Chl-a est similaire sur les deux bassins. L'évolution de la chlorophylle a est de type exponentiel avec respectivement pour DF et HC :

$$\text{Chl-a } (\mu\text{g.l}^{-1}) = 4,14 \exp^{(0.0386X)} ; r^2 = 0,72,$$

$$\text{Chl-a } (\mu\text{g.l}^{-1}) = 4,91 \exp^{(0.0317X)} ; r^2 = 0,74.$$

x = nombre de jours d'élevage

La figure 3.8A présente l'évolution des concentrations et les valeurs de Chl-a filtrée de la tendance exponentielle. L'écart à la tendance (fig. 3.8B) est variable en fonction du bassin étudié. Il est globalement plus important sur la ferme déclarant la maladie avec des valeurs comprises entre - 33 et

+ 67  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Sur la ferme HC, ces variations sont comprises entre -12 et + 32  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . La Chl-a montre des pics de concentration à J44, J56 et J80 sur la ferme DF (fig. 3.8A). Le fractionnement de taille montre une prédominance de la fraction inférieure à 2  $\mu\text{m}$  sur les 40 premiers jours d'élevage. Cette fraction peut atteindre 80% de la biomasse. Sur la seconde partie de l'élevage, la fraction comprise entre 2 et 20  $\mu\text{m}$  domine le compartiment phytoplanctonique.

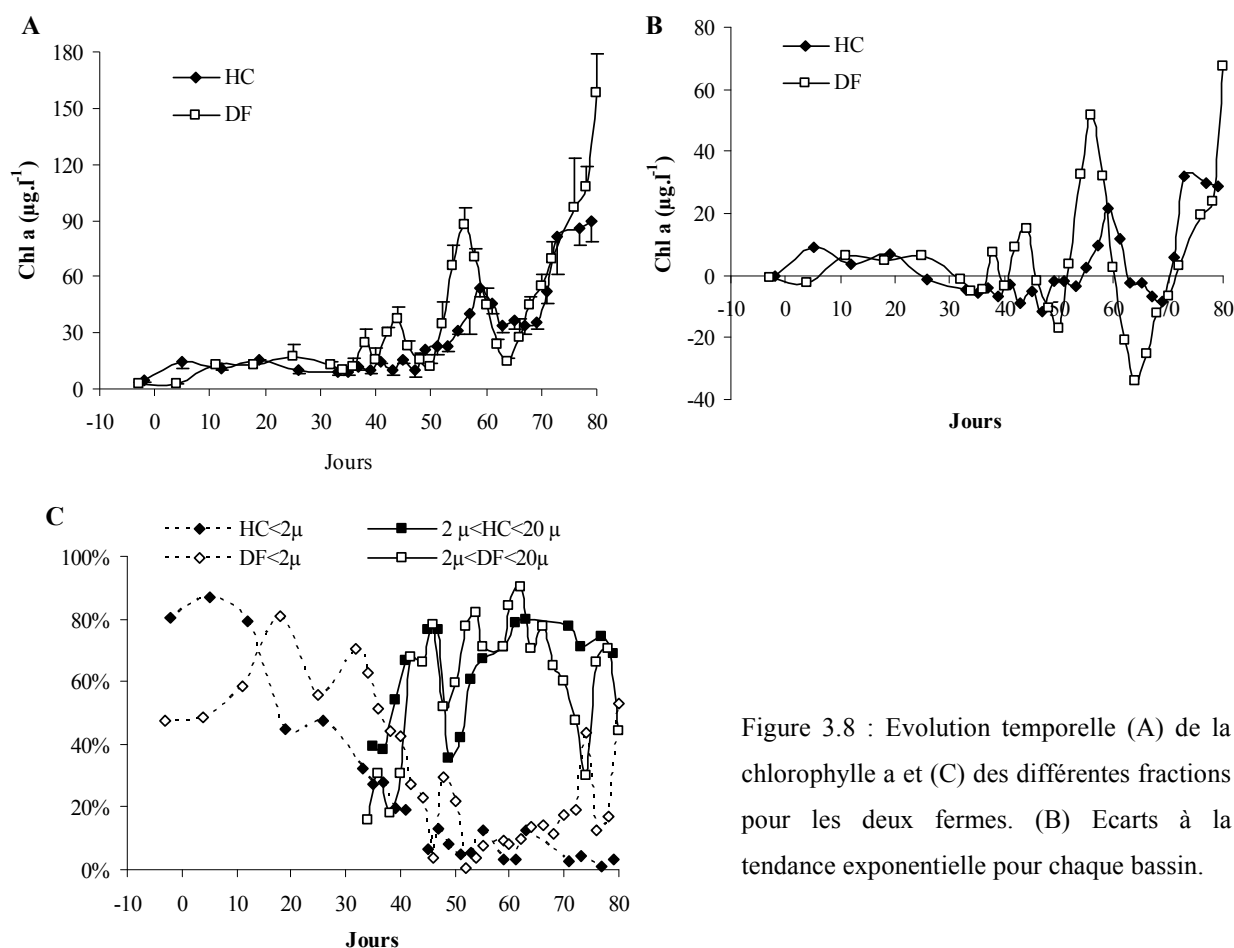


Figure 3.8 : Evolution temporelle (A) de la chlorophylle a et (C) des différentes fractions pour les deux fermes. (B) Ecarts à la tendance exponentielle pour chaque bassin.

### La diversité cytométrique (Courties, 2005)

Plusieurs types cellulaires ont été mis en évidence par cytométrie en flux sur la base (i) de leurs propriétés de diffusion lumineuse (SSC) normalisées sur un standard interne et (ii) de leur fluorescence naturelle qui sont produites par les pigments contenus dans les cellules phytoplanctoniques (chlorophylle et phycoérythrine) après une excitation à 488 nm (Legendre et al., 2001). Sept principaux types cellulaires ont été détectés en surface ou au fond de la colonne d'eau sur les deux fermes au cours de la période d'échantillonnage (fig. 3.9).



Les cellules picophytoplanctoniques pour lesquelles on a vérifié en cytométrie en flux qu'elles passaient à travers un filtre Nucléopore de 3 µm de porosité, sont représentées par 3 groupes cytométriques : Unk, Cya et PicoE.

- Unk (pour unknown) présente une signature cytométrique inédite caractérisée par une très faible fluorescence rouge (FLR/1µm) et de taille apparente intermédiaire entre celles de Cya et de PicoE.
- Les cyanobactéries (Cya) de type *Synechococcus*, procaryotes photosynthétiques ont la particularité d'émettre simultanément une fluorescence rouge et une orange parce qu'elles contiennent de la phycoérythrine.
- les picoeucaryotes (PicoE) présentent une signature cytométrique typique d'eucaryotes autotrophes qui ne fluorescent qu'en rouge et dont le contenu apparent en Chl-a (FLR/1 µm) et la taille apparente (SSC/1 µm) sont supérieurs à ceux du groupe Cya.

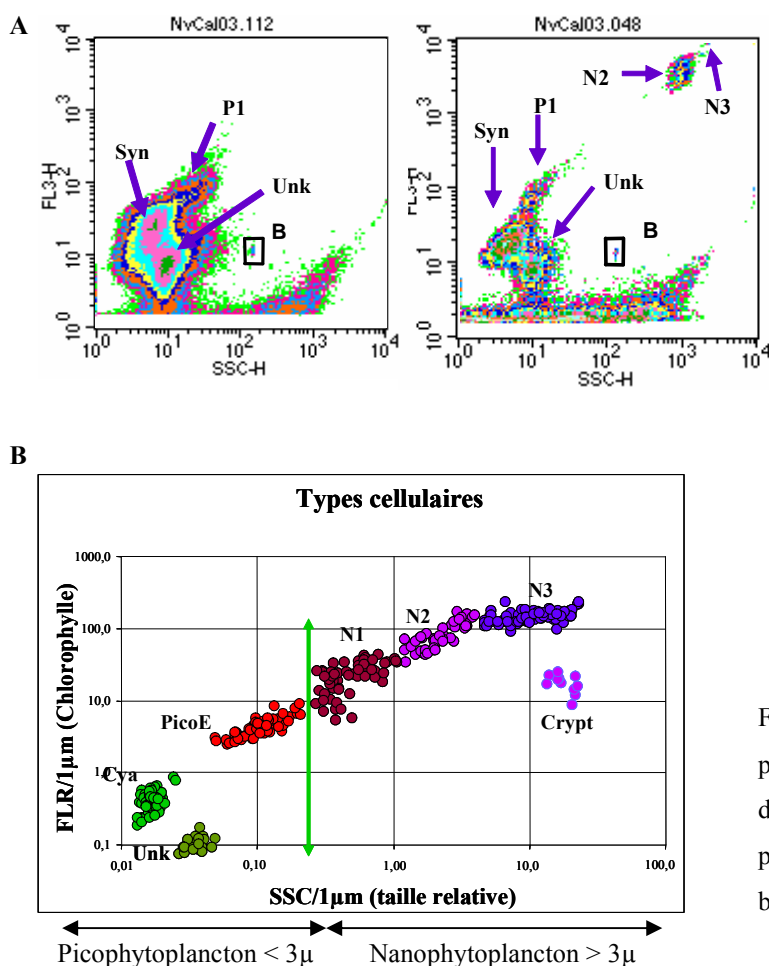


Figure 3.9 : (A) Cytogrammes obtenus à partir d'échantillons de bassins d'élevage. (B) Diversité cytométrique du phytoplancton mis en évidence dans les bassins d'élevage (Courties, 2005).

Les cellules nanophytoplanctoniques sont représentées par 4 groupes principaux. Les signatures N1, N2 et N3 correspondent à des populations qui montrent une relation croissante entre la taille apparente et les propriétés FLR. Les cellules Cry ont la propriété de fluorescer en rouge et en orange (signe d'une double pigmentation : chlorophylle et phycoérythrine). Elles pourraient être apparentées aux cryptophytes et sont plus rarement présentes.

### Abondance en picophytoplancton

Sur les deux fermes, l'abondance est similaire en surface et au fond indiquant l'absence de stratification dans la colonne d'eau pour ces cellules. Pour les trois types de cellules, les valeurs d'abondance sont très élevées comparativement à d'autres environnements marins avec des densités supérieures à  $1$  ou  $2 \times 10^6$  cellules.ml<sup>-1</sup>. Le pourcentage de cellules picophytoplanctoniques diminue du début de l'échantillonnage jusqu'à J80. Cette baisse est beaucoup moins variable et moins forte à HC qu'à DF (fig. 3.10).

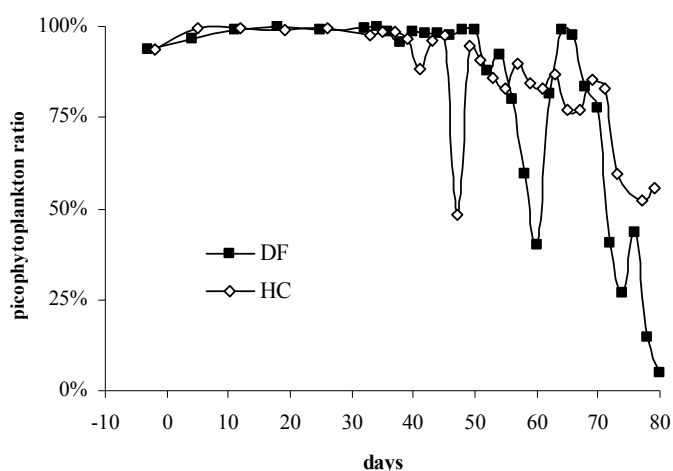


Figure 3.10: Evolution temporelle du rapport picophytoplancton / nombre total de cellules comptabilisées par cytométrie en flux.

- **Population Unk** (fig. 3.11A) : Du début de l'échantillonnage jusqu'au jour 47 à PO et jusqu'au jour 50 à DF, ce type de cellules est présent avec différents pics supérieurs à  $10^6$  cellules par ml. Après J60, ces cellules n'ont plus été détectées. Elles représentaient la majorité des cellules picophytoplanctoniques sur les deux bassins de J25 à J47 (fig. 3.12A).

- **Population Cya** (fig. 3.11B) : Sur la ferme PO, un pic principal de cyanobactéries a été mesuré au début de l'échantillonnage (J5) à une abondance de près de  $5 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup>. Ce pic diminue rapidement en dessous de  $10^5$  ml<sup>-1</sup> sur la période J43-J47. Par la suite, la densité cellulaire est généralement inférieure à  $3 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> jusqu'à la fin du suivi (d 79). Sur la ferme DF, deux principaux pics au dessus  $1 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup> ont été mesurés, le premier à J32 et J34 et le second plus tard à J66. Trois autres pics plus faibles autour de  $5 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> ont été observés à J18, J40 et J54-56. Les autres valeurs restent en dessous de  $0,8 \times 10^4$  ml<sup>-1</sup>. Le picophytoplancton est majoritairement composé de ces cellules en tout début d'élevage et après J50 (fig. 3.12A).

- **Population Euk** (fig. 3.11C) : Sur les deux fermes, les abondances les plus élevées ont été mesurées au cours de la première période d'élevage entre J-2 et J47 à HC et entre J-3 et J50 à DF. Sur la ferme HC, la densité en PicoE atteint environ  $3 \times 10^5$  cellules.ml<sup>-1</sup>, alors qu'après J47, elle est en dessous de  $2 \times 10^4$  cellules.ml<sup>-1</sup>. A DF, un premier pic apparaît à J25-32. Il est suivi par un pic beaucoup plus élevé proche de  $1 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup> entre J40 et J46. Après J50 et jusqu'à la fin de l'élevage, toutes les densités mesurées sont faibles et inférieures à  $10^4$  ml<sup>-1</sup> exception faite d'un petit pic à J70.

#### Abondance en nanoplancton

Sur les deux fermes et à l'image de ce qui a été observé pour le picoplancton, les densités en nanoplancton sont généralement similaires en surface et au fond. Le développement du nanophytoplancton (N1, N2, N3 et Cry) apparaît principalement après J47-50 et jusqu'à J79-80 sur les deux fermes au moment où les densités en picophytoplancton (Cya, Unk and PicoE) sont les plus faibles (fig. 3.10).

- **Population N1** (fig. 3.11D) : D'après la mesure SSC/1µm, N1 serait le groupe des plus petites cellules nanophytoplanctoniques discriminé par cytométrie. Jusqu'à J47 à HC, la densité cellulaire présente des variations erratiques et des valeurs généralement inférieures à  $5 \times 10^3$  et  $5 \times 10^4$  cellules.ml<sup>-1</sup>. Un important bloom apparaît à J41 ( $1,5 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup>). Après J47, N1 augmente régulièrement pour atteindre une valeur de  $10^5$  ml<sup>-1</sup> à la fin de la période d'échantillonnage. A DF, 4 pics successifs avec des densités croissantes ont été mesurés à J32, J46, J56 et J80 respectivement aux densités suivantes :  $2 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $8 \times 10^4$  et  $5 \times 10^5$  cellules.ml<sup>-1</sup>.

- **Population N2** (fig. 3.11E) : A HC, au cours de la première période jusqu'à J47 les abondances de N2 restent faibles, généralement inférieures à  $2 \times 10^3$  ml<sup>-1</sup>. Le développement de N2 apparaît clairement après J47 atteignant des valeurs proches de  $6 \times 10^4$  cellules.ml<sup>-1</sup>, lorsque les concentrations en picoplancton sont les plus faibles. A DF, N2 présente un bloom important centré autour de J56-58 avec des abondances proches de  $10^5$  cellules.ml<sup>-1</sup>.

- **Population N3** (fig. 3.11F) : D'après la taille apparente et les propriétés de diffusion lumineuse, N3 correspondrait aux cellules les plus grosses détectées dans le nanophytoplancton. Comme observé pour N2, le développement de N3 apparaît sur les deux fermes après J47 lorsque les densités en picophytoplankton diminuent. A HC, un petit pic proche de  $8 \times 10^3$  cellules.ml<sup>-1</sup> est clairement observable autour de J59 alors que le nombre de cellules sur la première partie de l'élevage est inférieur à  $10^3$  cellules.ml<sup>-1</sup>. Sur DF, trois blooms apparaissent après J50. Le premier avec  $1,5 \times 10^5$  cellules.ml<sup>-1</sup> est centré autour de J56-58, le second autour de J70 et le troisième autour de J74-J76.

- **Population Cry** : Sur les deux fermes, ces cellules sont présumées être des Cryptophytes. Elles apparaissent sporadiquement à des densités inférieures à  $5 \times 10^2$  ml<sup>-1</sup> (données non montrées).

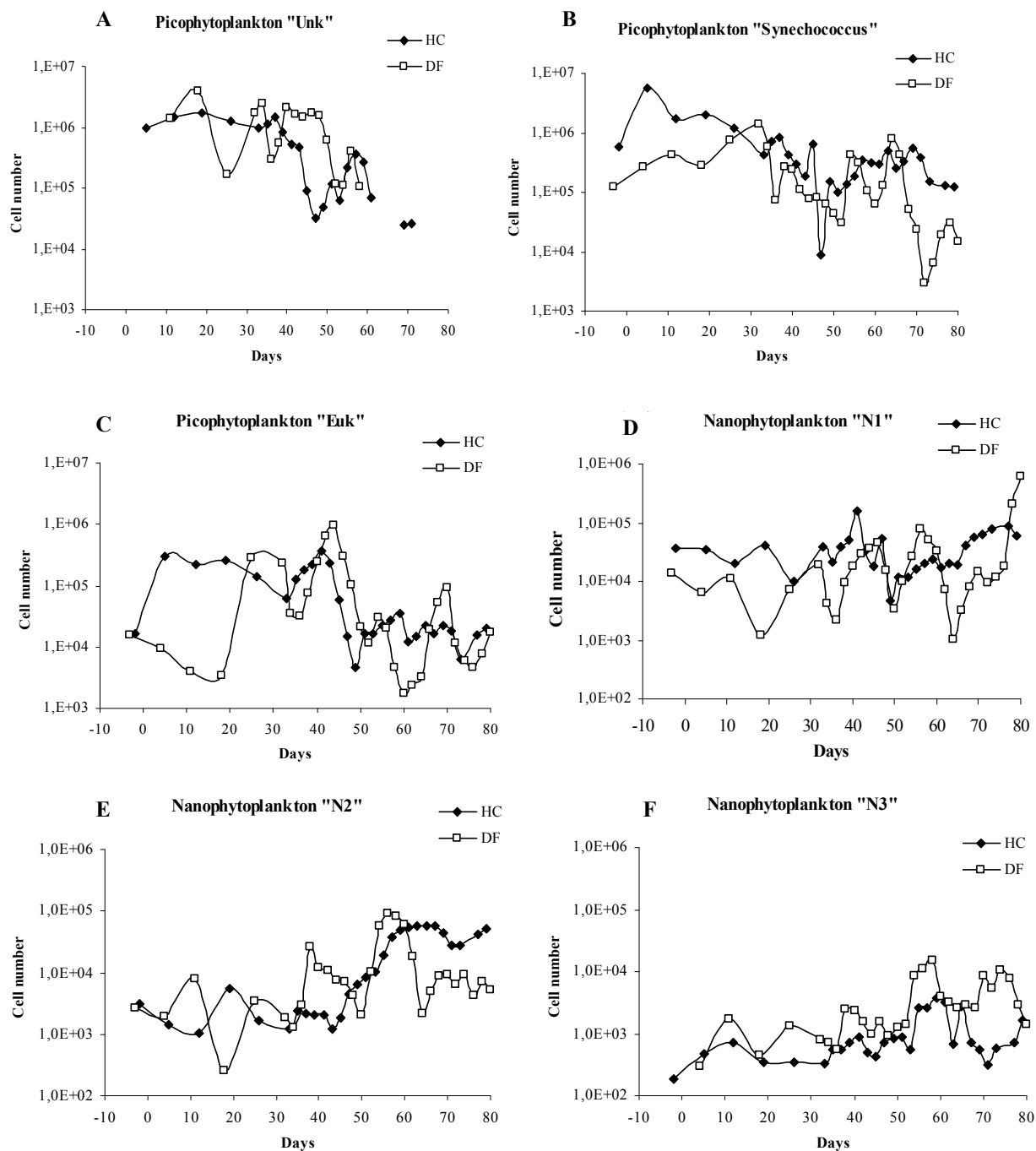


Figure 3.11 : Evolutions temporelles des principaux groupes cellulaires discriminés par cytométrie en flux dans les deux bassins.

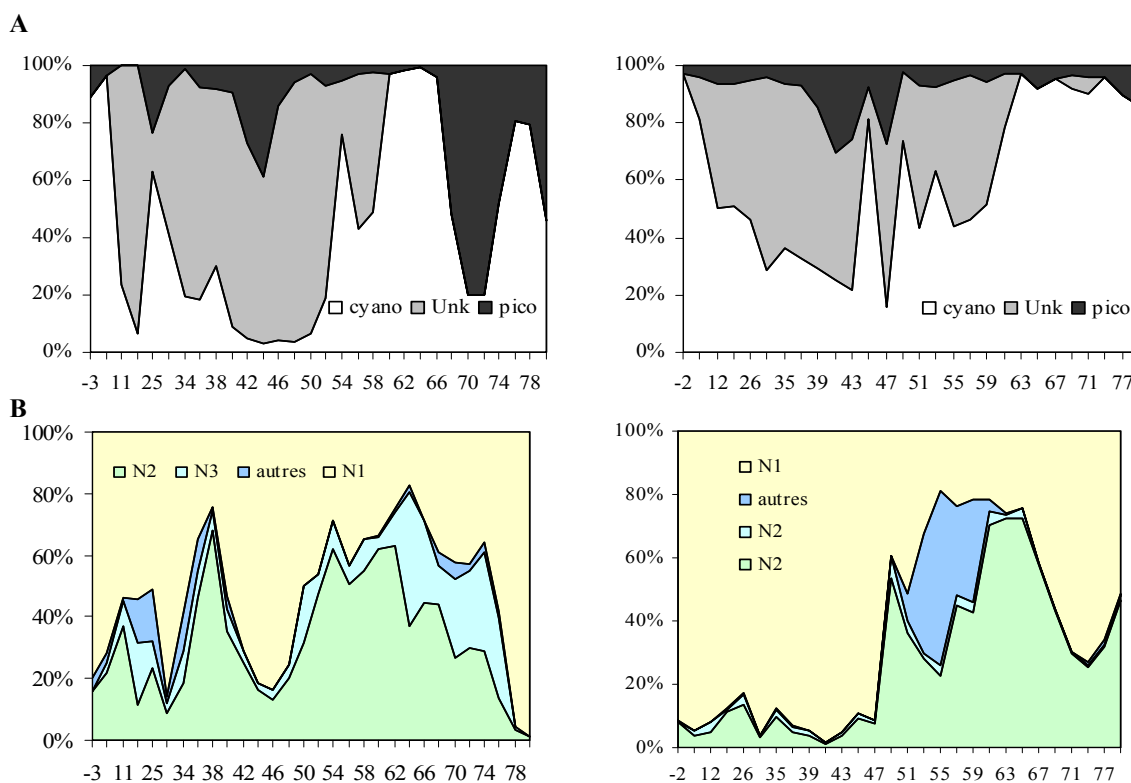


Figure 3.12 : (A) Abondance relative des différents groupes cytométriques constituant le picophytoplancton ; (B) Abondance relative des différents groupes cytométriques constituant le nanophytoplancton.

Le tableau 3.6 présente les coefficients de corrélation entre les paramètres physico-chimiques, les sels nutritifs et les variables phytoplanctoniques. La Chl-a augmente significativement avec la température, les matières minérales et la turbidité. Elle décroît avec la salinité. Le picophytoplancton est inversement corrélé aux matières minérales et à la température. Le nanophytoplancton est corrélé positivement aux matières minérales. Aucune corrélation significative n'a été trouvée entre les nutriments azotés ( $N-NH_{3,4}^+$ ,  $NO_{23}^-$ , DIN) et les nutriments phosphorés. La Chl-a augmente parallèlement à une diminution de l'azote inorganique dissous, de la silice et du rapport DIN/DIP.

Tableau 3.6 : Coefficients de corrélation entre les paramètres physico-chimiques, les sels nutritifs et les variables phytoplanctoniques (N=58). \*\*: P<0,01, \* : P<0,05. T : Température; S: Salinité; MM: Matière Minérale ; Chl-a: Chlorophylle a; DIN : azote inorganique dissous ( $\text{NH}_3,4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) ; DIP : Phosphore inorganique dissous ; Si : silicate (N (HC) =28 ; N (DF)=30).

	Paramètres	T	S	Turbidité	MM	DIN	DIP	Si	DIN/DIP	Si/DIP	Si/DIN
DF	Chl-a	0,49**	-0,46*	0,76**	0,81**	-0,44*	0,42*	-0,44*	-0,59**	0,52**	0,21
	Unk	-0,51**	0,45*	-0,30	-0,49**	0,03	-0,22	0,23	0,19	0,32	0,04
	Cyano	-0,57**	0,73**	-0,49**	-0,55**	0,23	-0,27**	0,39*	0,57**	0,62**	-0,14
	Picoplancton	-0,66**	0,55**	-0,50**	-0,71**	0,16	-0,41*	0,14	0,40*	0,46*	-0,08
	nanoplancton	0,30	-0,26	0,44*	0,68**	-0,46**	0,25	-0,45*	0,45*	-0,44*	0,12
HC	Chl-a	0,67**	-0,50**	0,56**	0,65**	-0,16	-0,16	-0,24	0,39*	0,17	-0,19
	Unk	-0,34	0,09	-0,51**	-0,40*	-0,09	0,13	0,04	-0,34	-0,13	0,10
	Cyano	-0,30	0,36	-0,16	-0,23	0,15	-0,07	0,66**	-0,05	0,37	0,59**
	Picoplancton	-0,54**	0,32	-0,32	-0,37	0,06	-0,08	0,55**	-0,24	0,23	0,53**
	nanoplancton	0,28	-0,35	0,42*	0,40*	-0,45*	-0,43*	-0,26	0,05	0,10	-0,01

### Le compartiment bactérien

Les bactéries hétérotrophes totales ont des abondances très élevées ( $>10^7 \text{ ml}^{-1}$ ) sur les deux sites (fig. 3.13A). Dans les deux cas, les distributions présentent des variations importantes avec des abondances les plus fortes autour de J60. Il est difficile de relier ces abondances aux paramètres environnementaux (tab. 3.7).

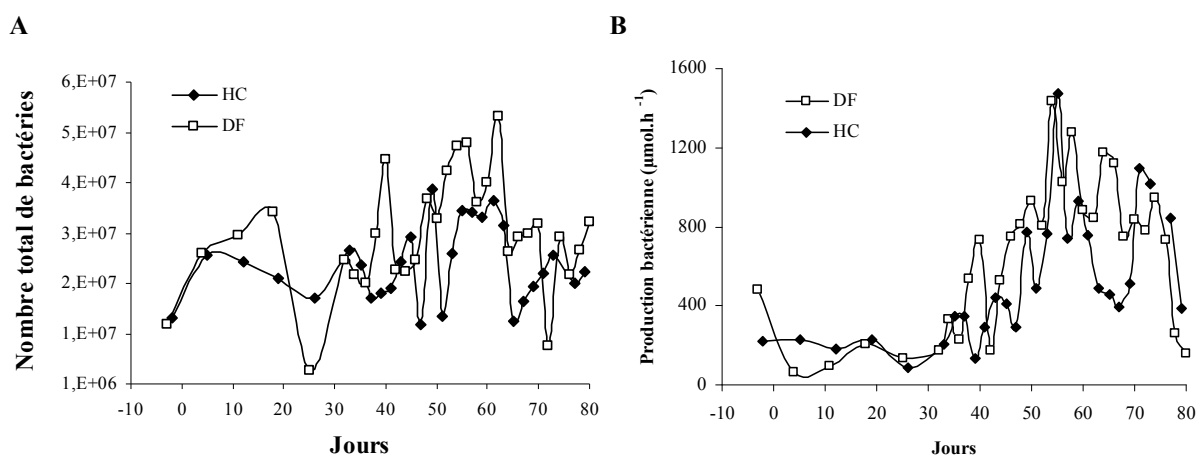


Figure 3.13 : Evolution (A) de l'abondance et (B) de la production bactérienne dans les deux bassins.

La production bactérienne (PB) est similaire en surface et au fond quelle que soit la ferme. Ces valeurs de production sont considérables (fig.3.13B). Elles représentent 3 à 6 fois les plus fortes valeurs trouvées dans le lagon (Torréton, com. pers.). Les valeurs sont stables sur les deux sites jusqu'à J30 puis augmentent progressivement pour atteindre  $1200 \mu\text{M.h}^{-1}$ . Les corrélations entre la PB et la Chl-a,

la PB et l'aliment distribué sont significatives quelle que soit la ferme (tab.3.7). Toutefois, le coefficient de corrélation est plus élevé à HC dans la relation avec la Chl-a. Sur la ferme HC, la BP est aussi corrélée à la température.

Tableau 3.7 : Coefficients de corrélation entre la production bactérienne (BP), l'abondance bactérienne (BA) et la température, l'aliment distribué, les concentrations en chlorophylle a (Chl-a), en carbone organique dissous, en azote organique dissous (NOD) et en azote inorganique dissous (DIN) dans chaque bassin (N (HC) =28 ; N (DF)=30). \*\* : P<0,01, \* : P<0,05.

	PB		BA	
	HC	DF	HC	DF
<b>BA</b>	0,48**	0,37*	-	-
<b>T</b>	0,61**	0,16	0,10	0,06
<b>Aliment</b>	0,52**	0,52**	0,08	0,23
<b>Chl-a</b>	0,69**	0,42*	0,26	0,26
<b>NOD</b>	0,36	0,02	0,16	0,07
<b>DIN</b>	0,15	0,18	0,11	0,16

#### 3.1.4. Dynamique de l'eutrophisation sur les deux sites

L'ACP réalisée sur la matrice des 26 paramètres x 116 observations a montré que les axes factoriels 1 et 2 représentaient respectivement 30,4% et 10,9% de la variabilité totale. La valeur propre des deux premiers axes correspond à 41,3% de l'inertie de l'analyse. L'analyse de la projection des variables et du nuage d'observation a révélé que seul le premier axe factoriel méritait une description détaillée. C'est en effet sur l'axe 1-2 que se trouve représenté la plus grande variabilité. La projection des variables et des individus sur le plan factoriel 1-2 est présentée figure 3.14.

La première composante principale est corrélée négativement avec l'oxygène (-0.64), les nitrites-nitrates (-0,42) le picophytoplancton (Unk :-0,50 ; Cya : -0,35 ; Euk : -0,32) et positivement avec la Chl-a (0,93), les phéopigments (0,88), le carbone organique particulaire (0,94) et l'azote particulaire (0,93). Elle caractérise le niveau d'enrichissement en matière organique particulaire de l'eau. La seconde composante est corrélée à la présence de bactéries (0,60), à la concentration en ammoniacque (0,55), en azote organique dissous (0,51), dans une moindre mesure à l'activité bactérienne (0,47) et inversement corrélée aux matières minérales (-0,56).

La position des individus permet de distinguer plusieurs groupes entourés par cinq cercles sur le plan factoriel 1-2 présenté fig. 3.14. Ces groupes sont composés des individus issus du bassin HC avant J50, du bassin HC après J50, du bassin DF avant J50, du bassin DF de J50 jusqu'à J70 et du bassin DF après J74. On notera une augmentation de la dispersion pour un même bassin entre avant et après J50.

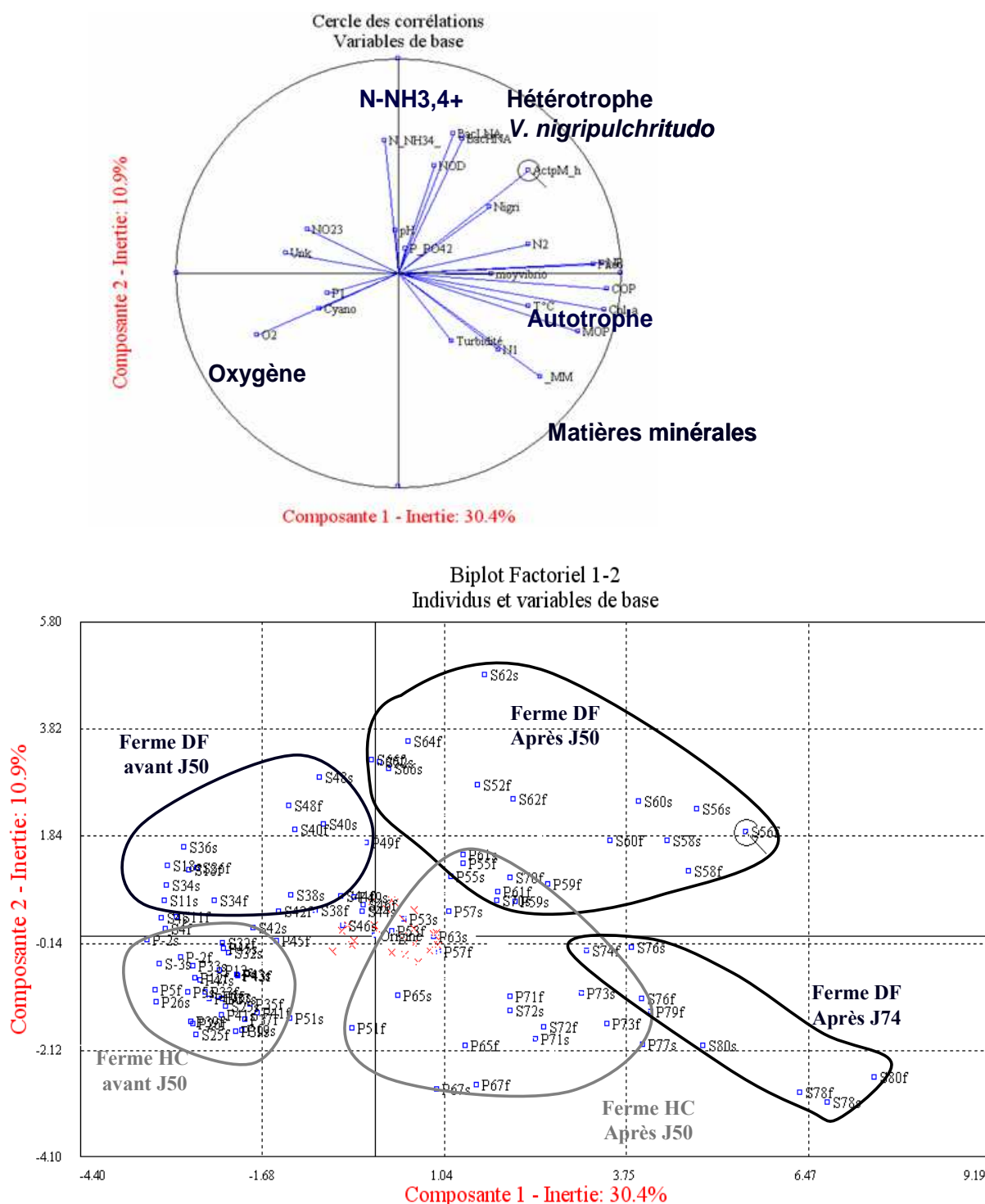


Figure 3.14 : Cercle de corrélations et plan factoriel 1-2 de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) menée sur 25 variables et sur 116 observations. La ferme DF présente un caractère plutôt hétérotrophe alors que la ferme HC un caractère autotrophe. Avant J50, la ferme HC se distingue de DF par une plus forte turbidité et une meilleure oxygénation. Après J50, la ferme DF se distingue par son caractère soit très hétérotrophe, soit très autotrophe.



Les deux bassins se distinguent par le caractère autotrophe et hétérotrophe. Si l'un comme l'autre montrent un enrichissement organique de la colonne d'eau avec le temps, le bassin DF présente des caractéristiques extrêmes avec d'un côté une forte hétérotrophie (caractérisée par l'abondance bactérienne, l'ammoniaque et l'azote organique dissous) et d'un autre côté une forte autotrophie (richesse organique très importante, forte concentration en Chl-a). Le pathogène est associé au caractère hétérotrophe du milieu. Avant J50, la ferme HC présente un système mieux aéré et plus riche en matières minérales.

Une image du rapport hétérotrophie/autotrophie peut être obtenue en figurant le rapport de la production bactérienne à la Chl-a (fig. 3.15). Les tendances sont différentes entre les deux fermes. Les évolutions de ce rapport, des concentrations en ammoniaque et du rapport N/P sur la ferme DF sont similaires. Ce n'est pas le cas de la ferme HC. La dynamique de l'eutrophisation montre des différences importantes. Mais ce ne serait pas tant les niveaux atteints que la précocité de l'eutrophisation et ses fluctuations qui les différencient. A DF, on constate une alternance de maxima d'autotrophes et d'hétérotrophes de plus en plus élevés au fur et à mesure que l'élevage progresse, qui se traduisent par des variations rapides et importantes de concentrations en éléments comme l'oxygène ou l'ammonium.

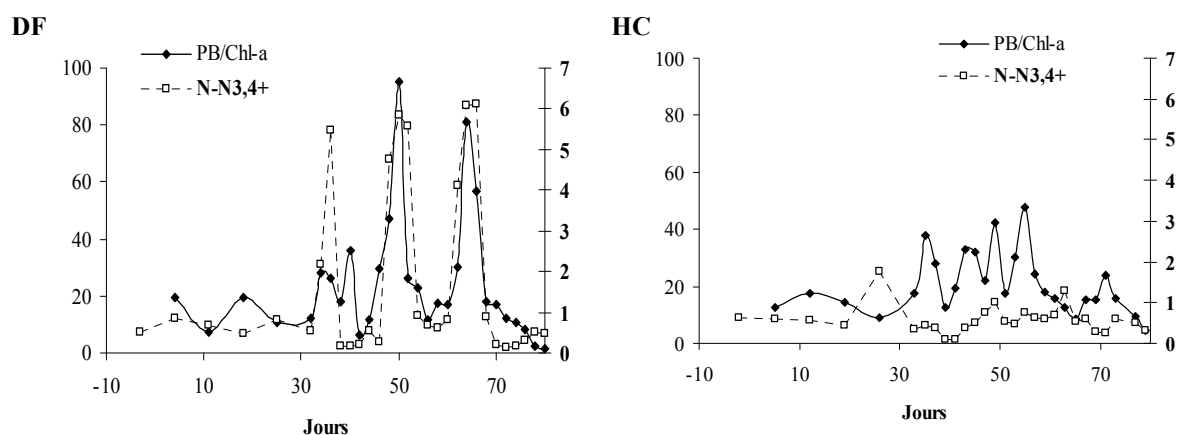


Figure 3.15 : Evolution du rapport hétérotrophe/autotrophe (la Chl-a est utilisée comme une approximation de la production primaire) et de la concentration en ammoniaque dans la colonne d'eau sur la ferme DF et sur la ferme HC.

### 3.2. Le syndrome 93

#### 3.2.1. La zootechnie

Les premières crevettes faibles ont été observées à partir de J75 et jusqu'à J92 (fig. 3.16A). On considère toutefois cette période comme atypique (Collectif DAC, 2006). Plus de 60% des crevettes présentaient un hépatopancréas atrophié et un tube digestif vide (Mugnier, com. pers.). A J91, les concentrations en oxygène du milieu devenant critiques, deux aérateurs ont été mis en route. A partir de J97 (le 18 mai 2004), un pic important de mortalité apparaît. Il est typique du syndrome 93 et culmine à J100. Cette forte mortalité a été observée jusqu'à la fin du suivi. La maladie s'est déclarée pour un poids des animaux d'environ 16 grammes. La survie finale a été de 44,3%. Environ 7% des animaux ont été pêchés au cours du suivi pour les études de physiologie. La quantité d'azote ajoutée au bassin sous forme d'aliment ou de fertilisants ne dépasse pas  $34 \text{ mmol.m}^{-2}$ . Elle est maximale après J60 (fig. 3.16B). Les bassins ont été fertilisés avec du triphosphate et de l'urée respectivement jusqu'à J2 et J35.

#### 3.2.2. Variabilité et évolution du milieu

Une décroissance irrégulière de la température a été observée entre le début et la fin du suivi (fig. 3.17). Il n'y a pas de différence pour les températures du matin entre le fond et la surface, ce qui traduit une bonne homogénéisation de la colonne d'eau pendant la nuit. En revanche à partir de J68, la température, l'oxygène et le pH du soir sont plus élevés en surface qu'au fond, ce qui est l'expression d'une stratification pendant la journée. La concentration en oxygène ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) diminue très régulièrement le matin, et comme pour la température, on n'observe aucune différence entre le fond et la surface (fig. 3.18). Elle atteint un seuil critique assez rapidement, dès J65. A J88 et J89, les valeurs baissent fortement, baisse qui s'explique par deux journées sans soleil (donc sans photosynthèse, résultats avérés par la méthode au  $^{14}\text{C}$  (données non montrées)).

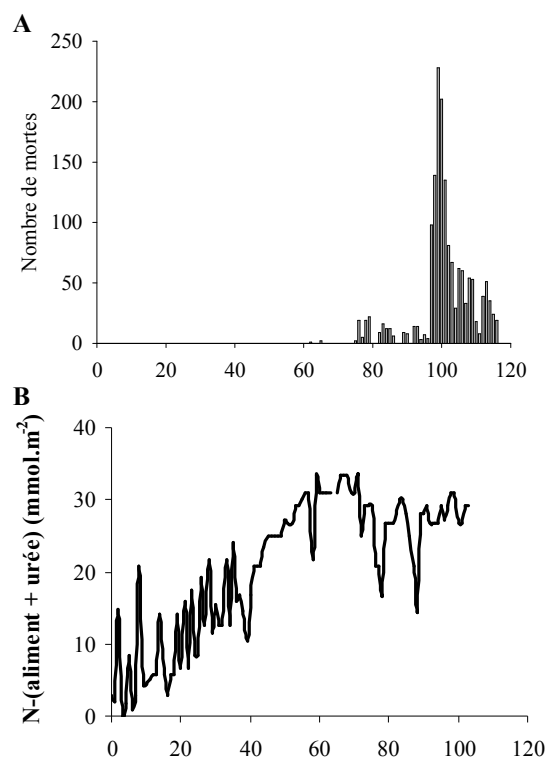


Figure 3.16: (A) Nombre de mortes comptées sur le bord du bassin. (B) Azote apporté sous forme d'aliment et de fertilisants au cours de l'élevage.

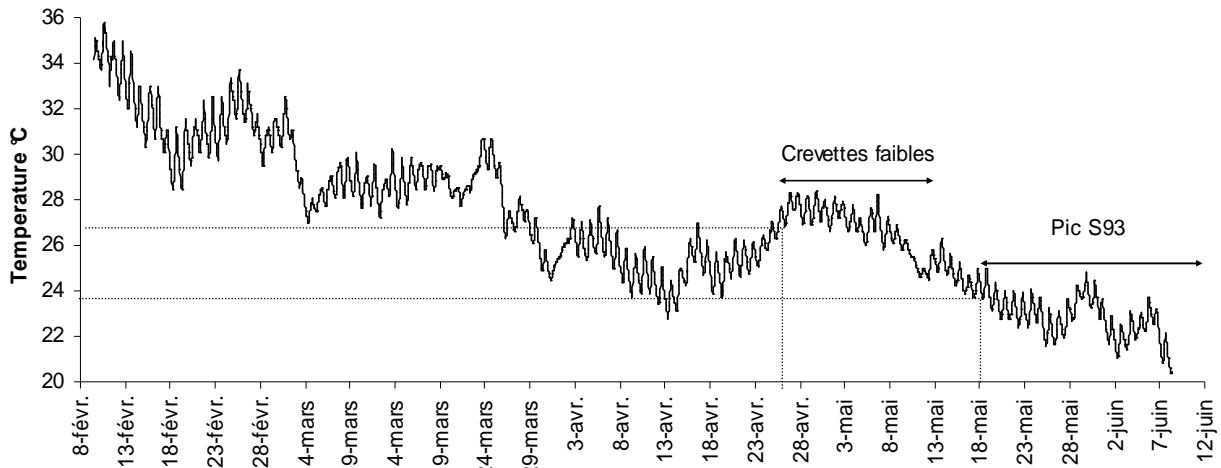


Figure 3.17 : Evolution moyenne de la température sur le fond du bassin prise en 3 points (pas de temps de la mesure : 30 min.).

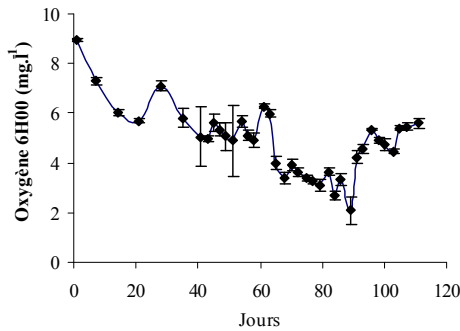


Figure 3.18 : Evolution moyenne (n=12) de la concentration en oxygène à 7H00 du matin de J0 à la pêche finale.

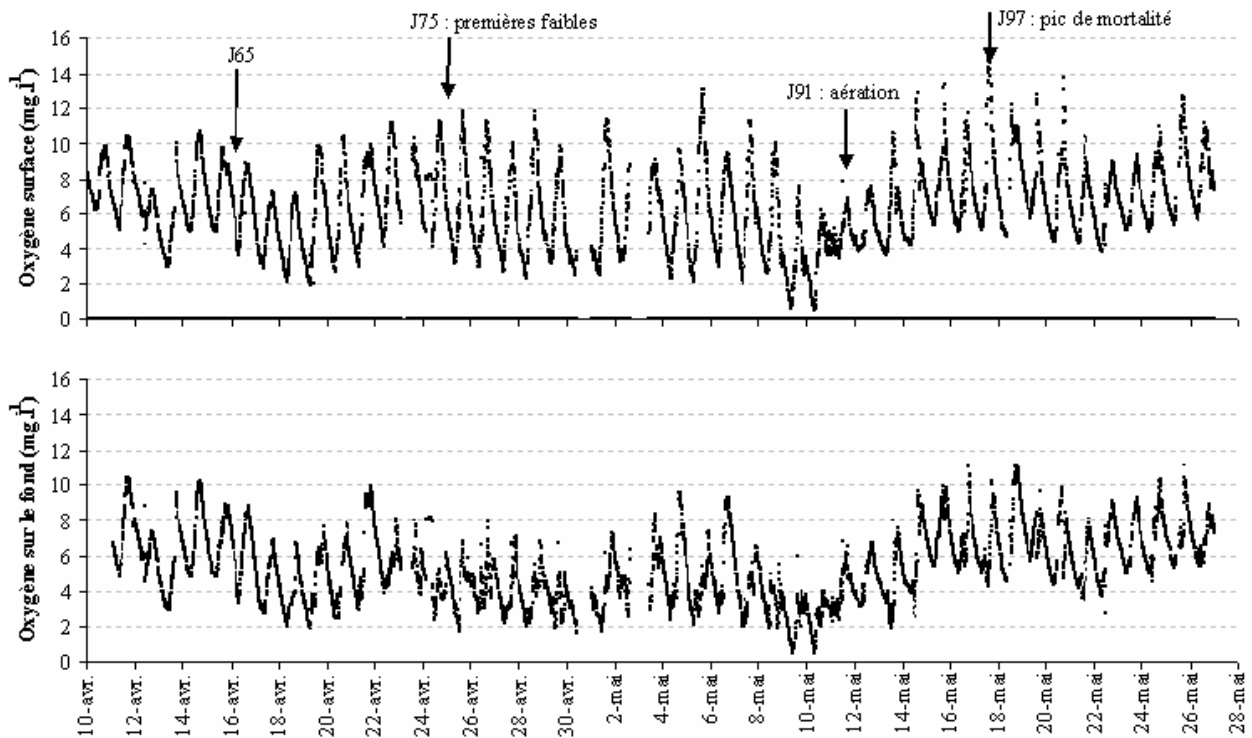


Figure 3.19 : Evolution de la concentration en oxygène en surface et au fond du 11 avril (J60) au 28 mai (J107).

Le même jour, la salinité diminue dans le milieu de 2,5‰ à la suite de fortes précipitations (fig. 3.19). Les concentrations en oxygène du matin remontent à partir de J91, jour de mise en service des aérateurs (fig. 3.19). Les concentrations du soir, quasi systématiquement plus élevées en surface à partir de J68, confirment l'existence d'une stratification diurne. A partir de J68, les pourcentages de saturation en oxygène du matin sont en dessous de 50%, pour atteindre 25-30% à J89. Le pH diminue tout au long de l'élevage avec une chute entre J35 et J41 (fig. 3.20). Après avoir atteint une valeur de 7,8, il remonte à partir de J91.

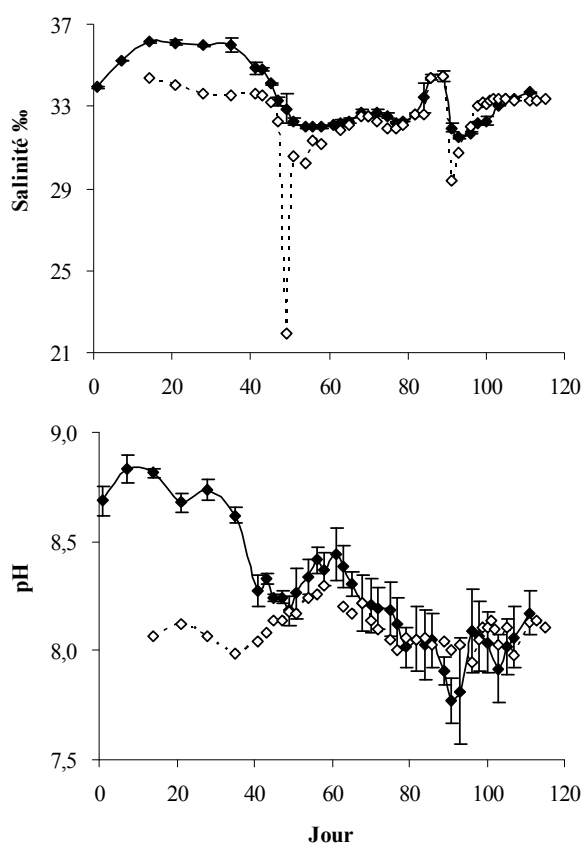


Figure 3.19 : Evolution moyenne journalière de la salinité (N = 12).

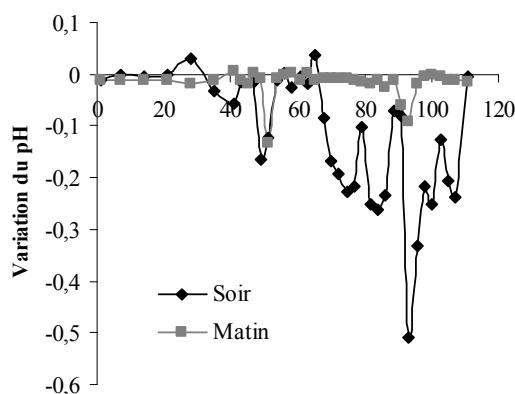


Figure 3.20 : (A) Evolution moyenne journalière du pH (N = 12) - (B) Stratification (valeurs du fond – valeurs de la surface) le soir et le matin observée dans le bassin.

La tendance générale pour les matières minérales et la turbidité est à l'augmentation de J0 à J111 (fig. 3.21 et 3.22). Les valeurs de surface sont moins élevées que les valeurs du fond, ce qui est l'expression d'une stratification (fig. 3.22). Les valeurs sur le fond sont aussi beaucoup plus variables que les valeurs de surface. L'évolution temporelle est complexe et pourrait refléter des causes multiples (bioturbation, effet du vent). Un pic de concentration pour les matières minérales peut être observé entre J40 et J50. C'était une période ventée (fig. 3.23). Sur la seconde période de l'élevage, le vent est faible et ne peut donc être la cause de l'augmentation générale des valeurs et des variations autour de la tendance générale.

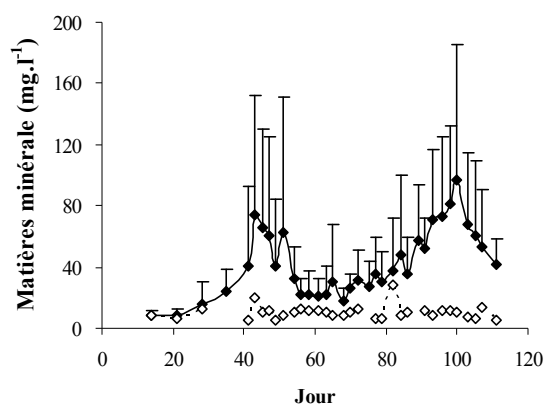


Figure 3.21: Evolution moyenne journalière (N = 12) des concentrations en matières minérales dans le bassin et dans l'eau de renouvellement.

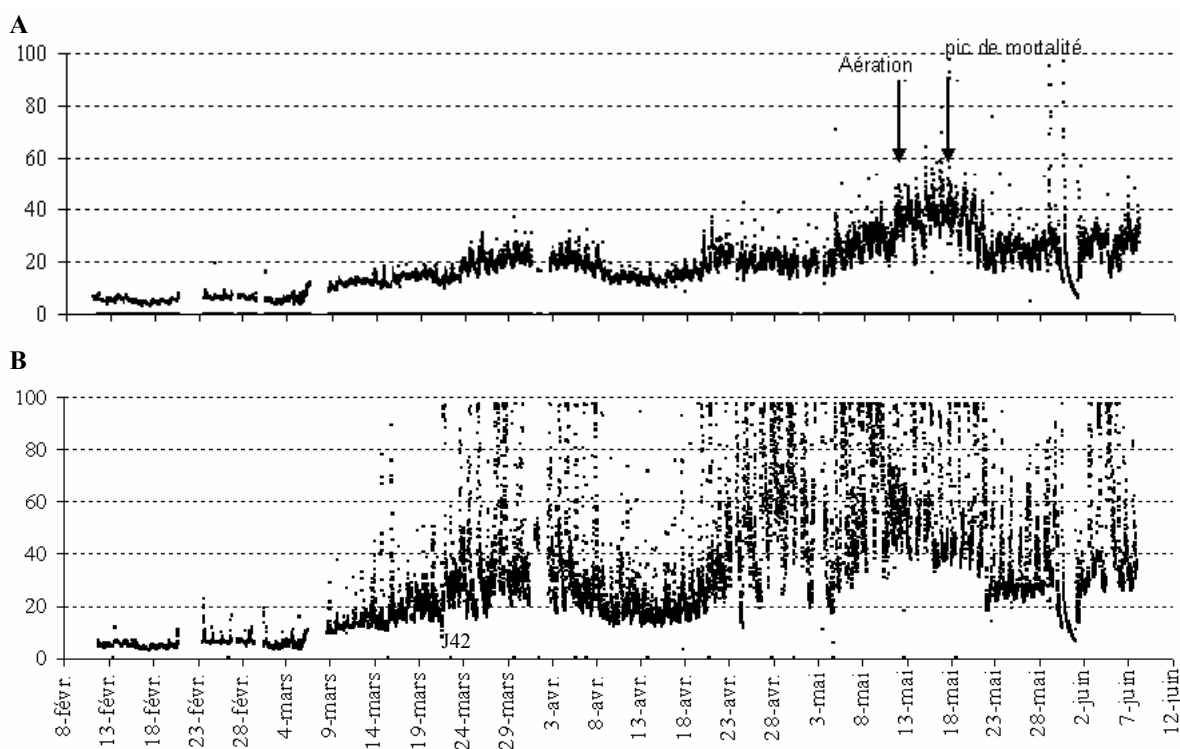


Figure 3.22 : Evolution de la turbidité (A) en surface et (B) au fond en un point de mesure (pas de temps de la mesure : 5 min.).

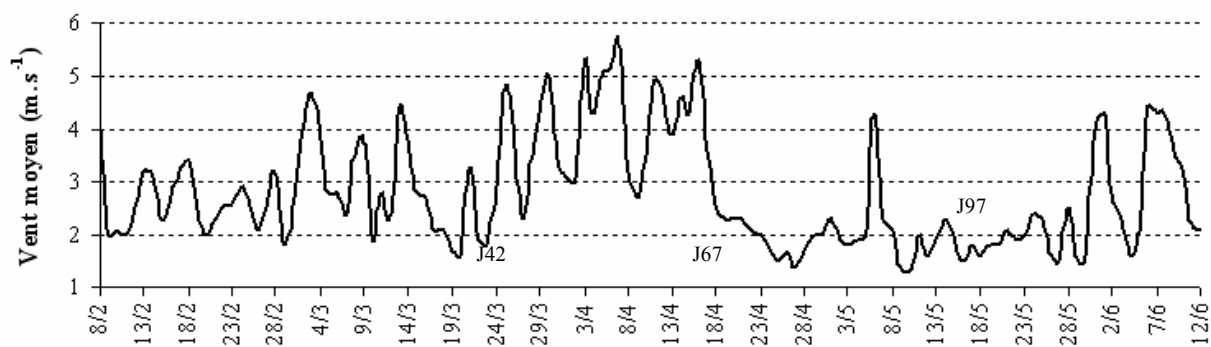


Figure 3.23 : Evolution des conditions de vent entre le 8 février date d'ensemencement et le 12 juin fin du suivi.

### Les sels nutritifs

La mise en route des aérateurs (J91) précède de quelques heures une augmentation spectaculaire des concentrations en ammonium et en phosphore tant en surface qu'au fond pour l'ammonium (fig. 3.24). En dehors de ce contexte, les concentrations journalières moyennes en ammoniacque sont inférieures à  $0,8 \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Les concentrations moyennes en nitrites - nitrates et en phosphates sont respectivement inférieures à  $0,25 \mu\text{mol.l}^{-1}$  et à  $0,1 \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Les silicates montrent des concentrations moyennes entre 15 et  $25 \mu\text{mol.l}^{-1}$  dans le bassin. Les valeurs sont généralement inférieures à celles de l'eau de renouvellement. Deux périodes se distinguent avec une baisse des concentrations autour de J65 et de J98.

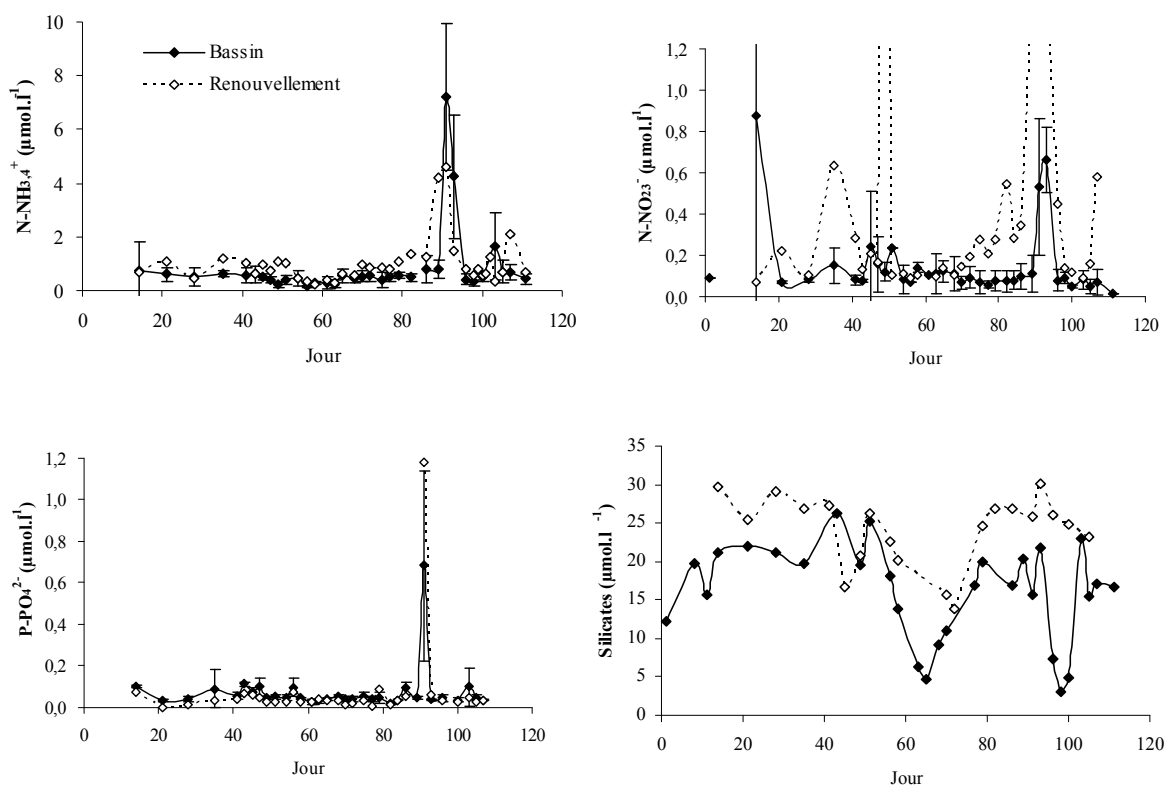


Figure 3.24 : Evolution des moyennes journalières des sels nutritifs dans la colonne d'eau.

### La matière organique

Le milieu s'enrichit en azote particulaire au cours de l'élevage mais peu en carbone organique particulaire (fig. 3.25A et C). En conséquence, on note une diminution du rapport C/N pour les matières particulaires pour atteindre des valeurs comprises entre 4 et 5 (fig. 3.25E). Parallèlement, les

concentrations en carbone organique dissous et en azote organique dissous diminuent au cours de l'élevage (fig. 3.25B et D). Le rapport entre les deux évolue dans le même sens (données non montrées) suggérant une épuration plus importante du milieu en carbone comparativement à l'azote.

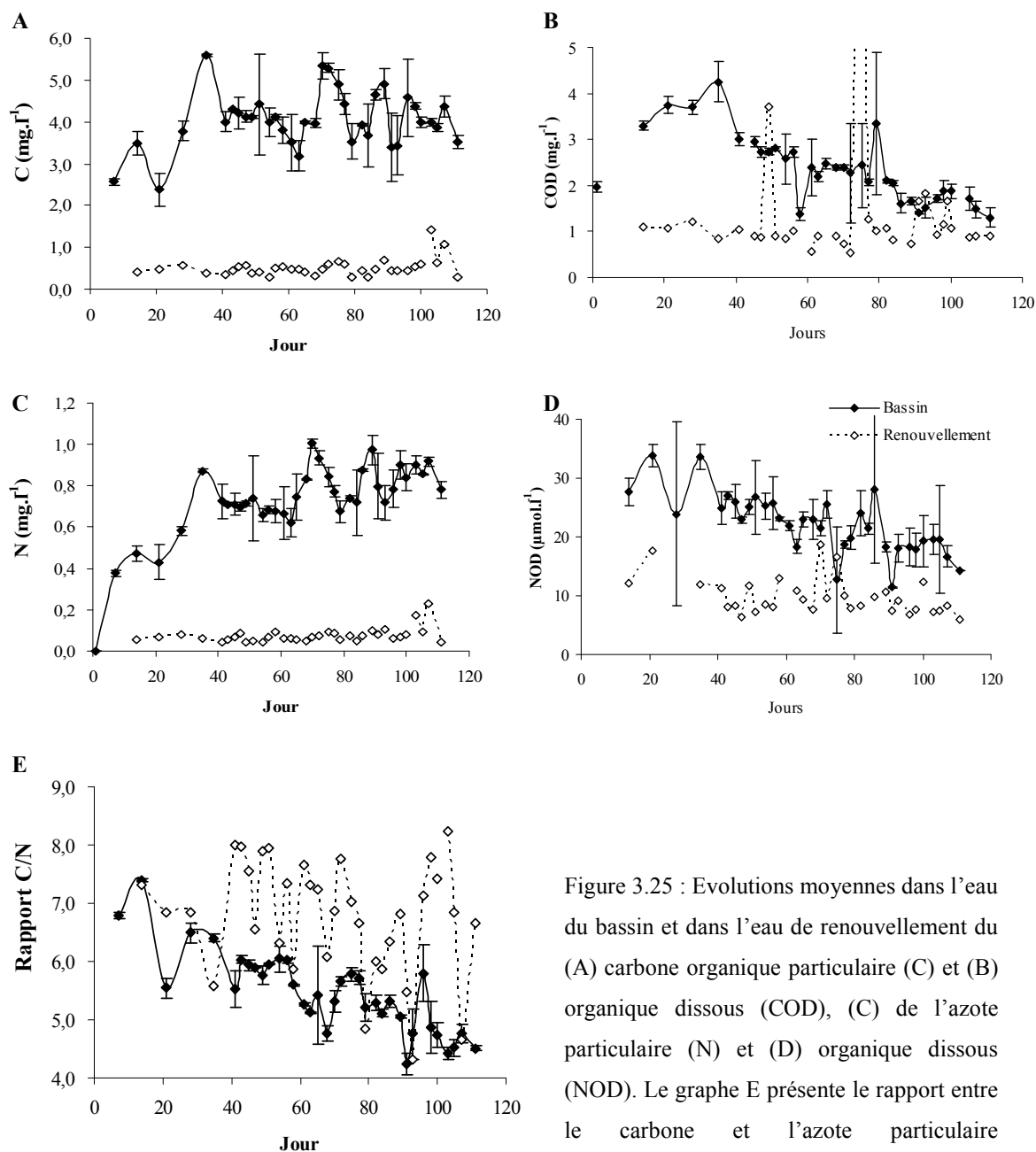


Figure 3.25 : Evolutions moyennes dans l'eau du bassin et dans l'eau de renouvellement du (A) carbone organique particulaire (C) et (B) organique dissous (COD), (C) de l'azote particulaire (N) et (D) organique dissous (NOD). Le graphe E présente le rapport entre le carbone et l'azote particulaire (masse/masse).

### La biomasse phytoplanctonique

Elle augmente régulièrement tout au long de l'élevage pour atteindre un maximum de  $71 \mu\text{g.l}^{-1}$  à J96 (fig. 3.26A). L'évolution de la Chl-a est de type exponentiel avec :

$\text{Chl-a} (\mu\text{g.l}^{-1}) = 15,08 \exp^{(0,0118X)}$  ;  $r^2 = 0,72$ . Sur toute la première partie de l'élevage jusqu'à J77, la biomasse est majoritairement composée de cellules inférieures à  $2\mu$ . A partir de J68, la biomasse des cellules de tailles comprises entre 2 et  $20\mu$  augmente progressivement au détriment des cellules inférieures à  $2\mu$  (fig. 3.26B)

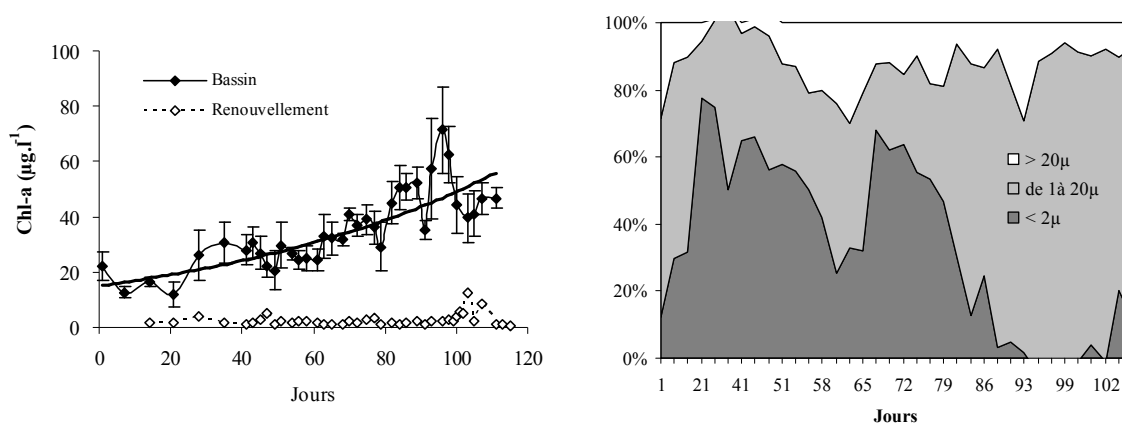


Figure 3.26 : (A) Evolution des concentrations moyennes journalières (N =12) en Chl-a dans le bassin H et dans l'eau de renouvellement ; (B) Fraction de taille dans le bassin H le matin à la station de référence (N = 2).

### Diversité et abondance cytométrique (Courties, 2005)

Nous retrouvons les mêmes types cellulaires précédemment définis dans le cadre du syndrome d'été que ce soit dans le bassin ou dans l'eau de renouvellement. Seules les abondances beaucoup plus faibles diffèrent dans l'eau de renouvellement (fig. 3.27). Le picophytoplancton est à 3 composantes (*UNK*, *Syn* et *PI*) et domine numériquement pendant presque toute la période échantillonnée (fig. 3.28). Le nanophytoplancton est essentiellement représenté par la classe de taille *N1* avec un bloom important à  $2.10^5 \text{ ml}^{-1}$  pendant les jours 96 et 98, soit au cœur de la période J93-J100 où les abondances du picophytoplancton sont les plus faibles ( $10^5 \text{ ml}^{-1}$ ) (fig. 3.27). La classe de taille *N2* présente aussi un pic de concentration à la même période. Les abondances de *N3* sont faibles et sporadiques. Les densités les plus fortes se concentrent autour de J10, J60 et de J100 (fig. 3.27).



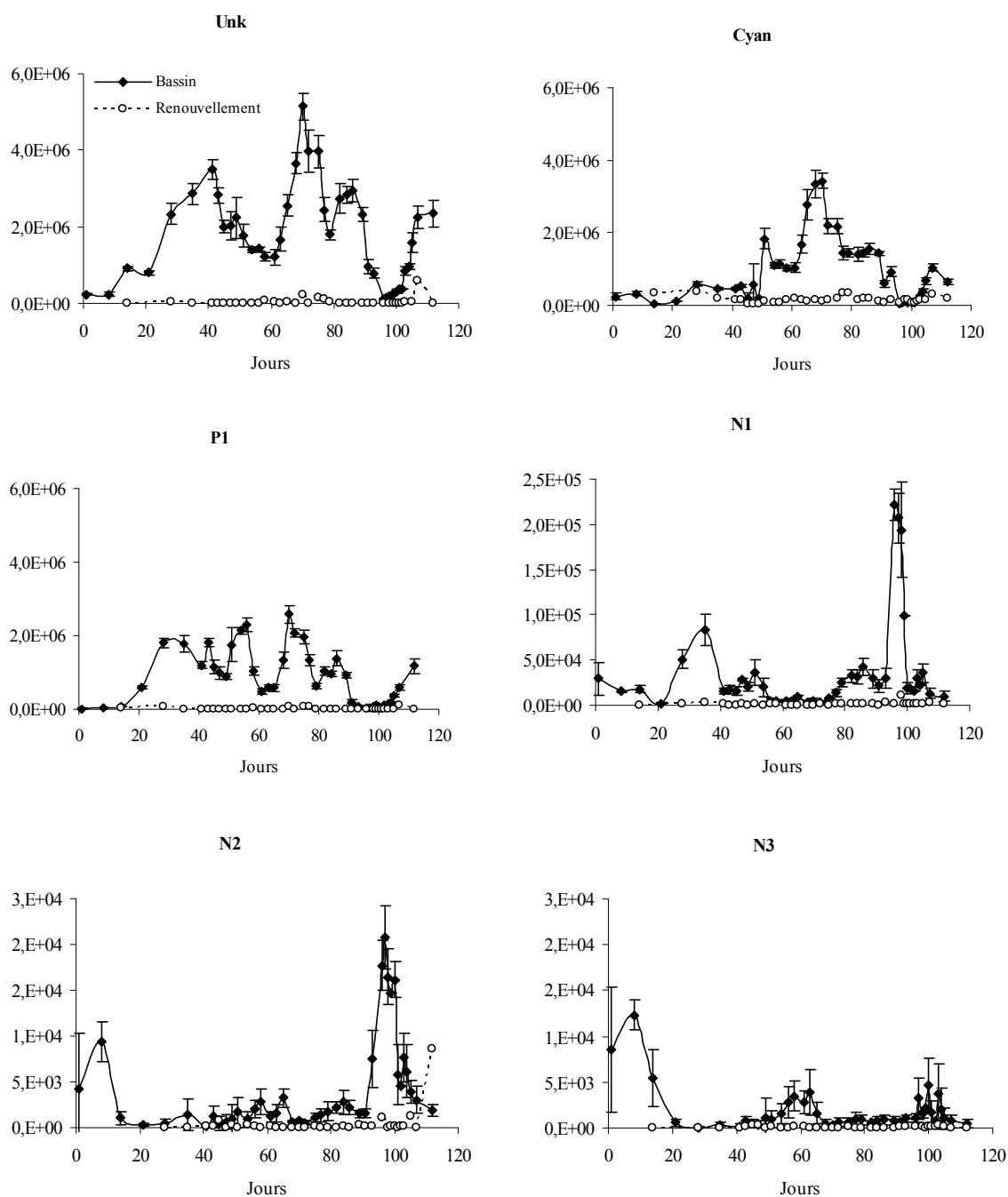


Figure 3.27 : Evolutions temporelles des principaux groupes cellulaires discriminés par cytométrie en flux dans le bassin et dans les eaux de renouvellement.

Les abondances du picoplancton sont très élevées avec des pics atteignant 3 à  $5.10^6 \text{ ml}^{-1}$  (fig. 3.27). Le maximum est de  $1,1.10^7$  à J70. Tout au long de l'élevage, on peut considérer que les abondances pour Unk, Cya et pour les picoeucaryotes (P1) évoluent de façon synchrone.

En dehors d'un retard de croissance qui affecte les cyanobactéries en début d'échantillonnage, les pics et les baisses d'abondance s'effectuent simultanément. La population Unk est majoritaire sur la plus grande partie de l'élevage pour le picoplancton (fig. 3.29). Sur la période J93-J100, les abondances chutent d'un facteur 10 à 100 et atteignent alors celles mesurées dans le canal d'arrivée d'eau. La classe de taille N1 est très bien représentée dans le nanophytoplancton. On observe donc un basculement des populations picoplanctoniques vers les populations nanophytoplanctoniques de manière ponctuelle autour de J96.

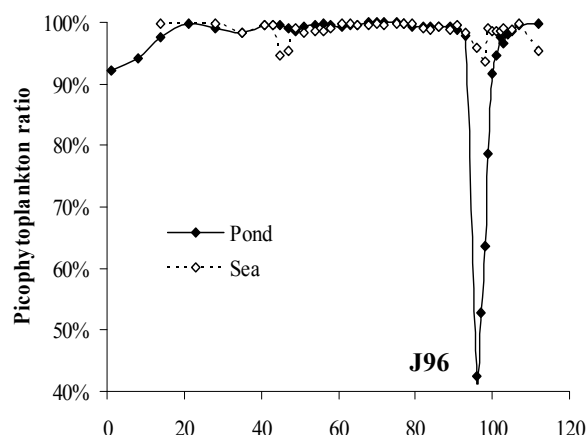


Figure 3.28 : Evolution temporelle du rapport picophytoplancton / nombre total de cellules comptabilisées par cytométrie en flux.

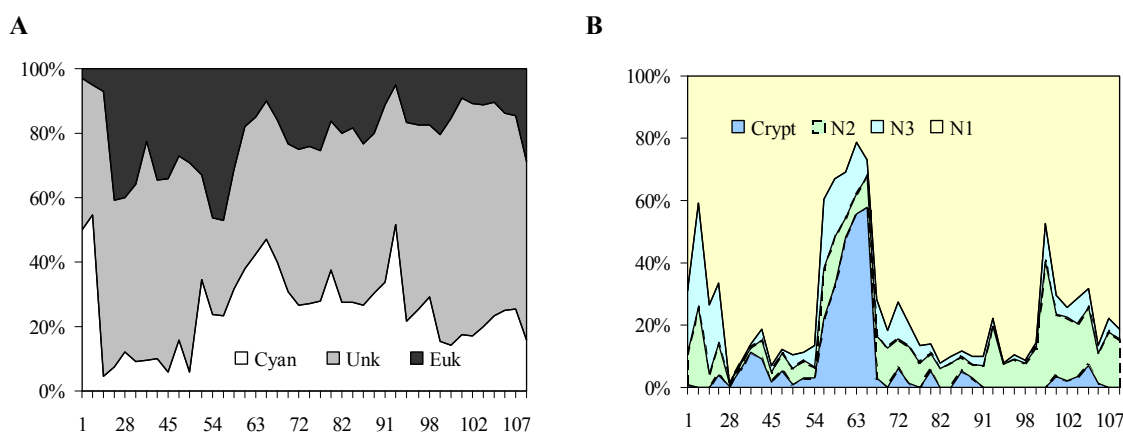


Figure 3.29 : (A) Abondance relative des différents groupes cytométriques constituant le picophytoplancton – (B) Abondance relative des différents groupes cytométriques constituant le nanophytoplancton

### Compartiment bactérien

Les bactéries hétérotrophes ont des abondances de l'ordre de  $5$  à  $6.10^7$   $ml^{-1}$  pour les plus élevées et moins de  $10^7$   $ml^{-1}$  pour les plus faibles. Globalement, ces chiffres diminuent du jour 65 ( $5.10^7$   $ml^{-1}$ ) au jour 96 ( $2.10^7$   $ml^{-1}$ ). A J98, on note un dernier pic important de bactéries qui semble suivre celui du nanoplancton de type N1 qui est maximal à J96. Ces pics de bactéries et de nanophytoplancton N1 précèdent ou sont concomitants au pic important de mortalité qui commence à J97. L'activité

bactérienne présente 3 pics à J54, J70 et J107. A l'image de ce nous observations dans le cadre du syndrome d'été, la BP est très élevée et varie entre 360 et 1300  $\mu\text{M.h}^{-1}$ . Elle présente son niveau le plus bas à J96. L'activité et l'abondance bactérienne sont corrélées à la température (tab. 3.8).

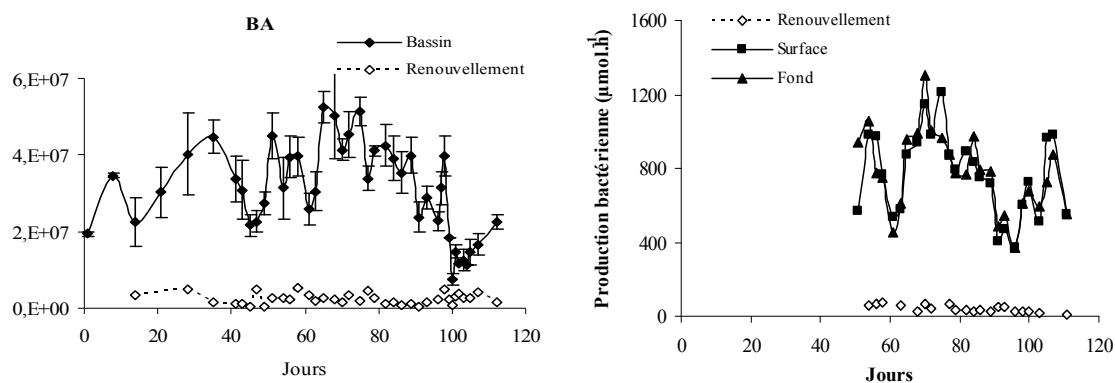


Figure 3.30 : Evolution (A) de l'abondance et (B) de la production bactérienne dans le bassin et dans l'eau de renouvellement.

Tableau 3.8 : Coefficients de corrélation entre la production bactérienne (BP), l'abondance bactérienne (BA) et la température, l'aliment distribué, les concentrations en Chl-a (Chl-a), en carbone organique dissous, en azote organique dissous (NOD) et en azote inorganique dissous (DIN) dans le bassin H (N=26). \*\*:  $P < 0,01$ , \* :  $P < 0,05$ .

	BP	BA
<b>BA</b>	0,40*	-
<b>T</b>	0,41*	0,68**
<b>Aliment</b>	0,01	0,07
<b>Chl-a</b>	-0,21	-0,16
<b>NOD</b>	0,38	0,25
<b>DIN</b>	-0,40	-0,24

## 4. Discussion

### *Des syndromes au rendez-vous*

Dans le cadre du syndrome d'été, le pari de la démarche comparative a été gagné puisque sur la ferme témoin, nous n'avons pas observé de mortalité type syndrome d'été alors que sur la ferme habituellement affectée, le déroulement des mortalités a été similaire à ce qui avait été observé au cours des années précédentes (Brock, 2000; Goxe, 2001 ; Lemonnier et al., 2006). En effet, la première mortalité apparaît généralement à un poids moyen d'environ 5 g pour une biomasse inférieure à 1500 kg.ha<sup>-1</sup> et en moyenne après 58 jours d'élevage. La survie était en moyenne sur les élevages de 1998, 1999, 2000 et 2001 de 33,5% de 37,4, de 25,5% et de 22,4% (Goxe, 2001) et donc comparable à celle obtenue sur le bassin suivi dans la présente étude. Dans le cadre du syndrome 93, où la démarche comparative était difficilement envisageable, les mortalités sont aussi apparues et les conditions environnementales ont ainsi pu être cernées. Mais, on est en droit de se demander si l'émergence du syndrome 93 n'a pas été induite par la mise en route des aérateurs dans le bassin d'élevage. Nous aurions ainsi involontairement créé les conditions nécessaires à son apparition.

### *Une variabilité essentiellement temporelle*

Pour la colonne d'eau, Burford (1997) observe peu d'hétérogénéité spatiale en élevage intensif de crevettes pour la plupart des paramètres analysés et suggère que la colonne d'eau est bien mélangée. Delgado et al. (2001) montrent, eux, deux masses d'eau avec des caractéristiques physico-chimiques différentes dans un bassin d'élevage intensif : une masse d'eau centrale et une périphérique. Dans cette étude, la variabilité spatiale concerne essentiellement les matières minérales et la turbidité. Elle est selon toute vraisemblance le fait d'une remise en suspension des sédiments inégale dans les bassins. Elle peut dépendre du vent (Lemonnier et al., 2001), du positionnement des aérateurs et/ou de la taille des animaux (Ritvo et al., 1997). Une forte stratification pour les matières minérales et la turbidité a aussi été montrée. La remise en suspension est susceptible de fortement influencer les échanges sédiment - colonne d'eau (Blackburn, 1988 ; Hargreaves, 1998).

### *Le syndrome d'été*

Dans le cadre du syndrome d'été, stratification et variabilité spatiale sont plus fortes sur la ferme HC que sur la ferme DF, suggérant un échange sédiment – colonne d'eau potentiellement plus important sur la ferme HC. Les matières minérales montrent une très forte variabilité temporelle et des valeurs généralement plus élevées sur la ferme HC que sur la ferme DF. Les différences entre les bassins sur la première partie de l'élevage sur HC ne peuvent pas s'expliquer ni par l'aération (les bassins

n'étaient pas aérés à cette période de l'élevage), ni par la taille des animaux. La remise en suspension sous l'action du vent pourrait être plus importante à HC qu'à DF en ce début d'élevage (fig. 3.31). La nature des sols permettrait d'expliquer en partie ce phénomène, les sédiments de HC étant moins argileux et peut être moins cohésifs que les sédiments de DF (Voir chapitre 4). La chute des matières minérales particulières sur HC à J41 s'explique par une augmentation des taux de renouvellements effectuée par l'éleveur à la suite d'une colonisation de son milieu par des méduses toxiques pour les animaux (données non publiées), l'objectif étant de les évacuer hors du bassin. L'augmentation des matières minérales à partir de J70 est à relier à une augmentation de la bioturbation par les animaux en élevage (Ritvo et al., 1997 ; Annexe 6).

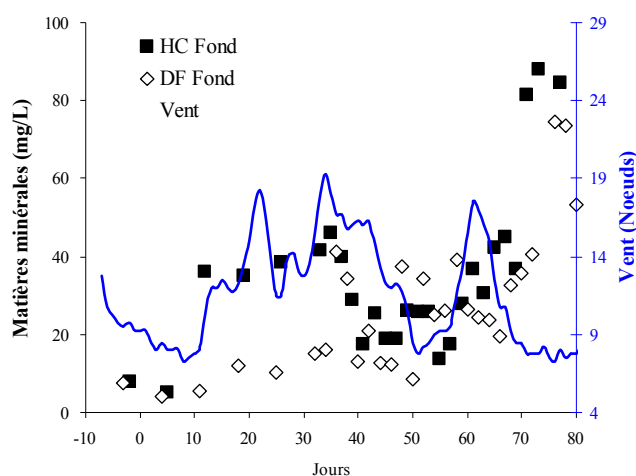


Figure 3.31 : Evolution comparée entre les concentrations en matières minérales particulières et l'intensité du vent à DF et à HC.

S'il existe de fortes similitudes dans l'évolution de beaucoup de variables sestoniques, les amplitudes de variations sont supérieures sur la ferme DF pour la biomasse phytoplanctonique et la concentration en matière organique particulaire. On note un possible doublement journalier de la biomasse phytoplanctonique sur les deux fermes mais avec toutefois un niveau d'augmentation journalier en moyenne plus faible à HC qu'à DF. Les blooms de phytoplancton sont précédés par une augmentation de la concentration en ammoniacque dans la colonne d'eau. L'origine de l'ammoniacque n'est pas connue. Toutefois, on soupçonne le sédiment, fortement producteur d'ammoniacque (Burford et al., 2001) d'être à l'origine de cet enrichissement. Il est à noter que les variations des concentrations en ammoniacque sont extrêmement rapides et de l'ordre de l'heure (Lemonnier et al., 2002). Les variations de la biomasse phytoplanctonique expliquent les plus fortes variations de l'oxygène à DF qu'à HC, la température et le PAR atmosphérique (données non montrées) étant similaires. Les données historiques montrent que la variabilité journalière en oxygène est généralement plus forte sur les élevages réalisés à DF que sur les autres fermes de Nouvelle-Calédonie. La diminution des teneurs en oxygène le matin en fonction du temps sur DF est progressive contrairement à HC. Ce résultat suggère une moins bonne maîtrise de ce paramètre sur DF. On constate sur cette même ferme des variations rapides et importantes de concentrations en éléments comme l'oxygène ou l'ammonium qui pourraient traduire une alternance de dominance entre autotrophes et hétérotrophes de plus en plus

élevée au fur et à mesure que l'élevage progresse. Nous soupçonnons le couplage sédiment – colonne d'eau d'être à l'origine de cette variabilité du milieu plus forte à DF qu'à HC.

### Le syndrome 93

A l'image des résultats obtenus précédemment, la variabilité temporelle est la source la plus importante de variabilité. Toutefois, l'hétérogénéité de la distribution verticale des matières minérales peut provoquer une stratification de l'oxygène et du pH, si aucun mélange ne vient bouleverser cette stratification des variables biologiques.

L'enrichissement organique de la colonne d'eau en fonction de la durée de l'élevage se fait essentiellement sous forme particulaire. En effet, la concentration en matière organique dissoute a tendance à diminuer de J0 à J111. Cette diminution pourrait s'expliquer par une baisse du taux de

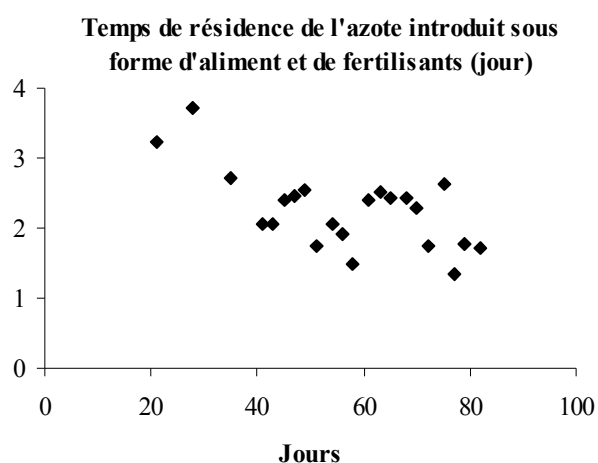


Figure 3.32 : Temps de résidence de l'azote dans le bassin. Pour les calculs, la survie a été estimée à 70% à J80.

résidence de l'azote dans le bassin avec la durée de l'élevage (fig. 3.32). L'enrichissement en azote est plus important que l'enrichissement en carbone. La biomasse phytoplanktonique totale augmente assez régulièrement comparativement aux évolutions en été à DF. Toutefois, l'étude des fractions de taille montre un écroulement des biomasses inférieures à 2µm à partir de J70. A J93, la biomasse de la fraction 2-20µm domine à 90% le compartiment colonne d'eau. La mise en route des aérateurs à J91 a sans doute favorisé les échanges sédiment – colonne d'eau et l'enrichissement ponctuel en nutriments de la

colonne d'eau. L'apparition du pic de mortalités à J97 fait suite à l'enrichissement organique du milieu en phytoplancton d'une taille comprise entre 2 et 20µm.

### ***Un milieu variable susceptible d'être stressant pour les animaux ?***

Des fluctuations excessives pour les facteurs abiotiques comme la salinité, l'oxygène ou la température favorisent le stress des animaux et leur susceptibilité aux pathologies. Les variations seraient le facteur le plus important à l'origine du déclenchement des maladies (Kautsky et al., 2000). Dans le cadre du syndrome d'été et à l'image de ce qui a été observé lors de l'étude des données historiques (Lemonnier et al., 2006), de fortes fluctuations journalières de l'oxygène ainsi que le

passage des valeurs matinales en dessous de  $4 \text{ mg.l}^{-1}$  coïncident généralement avec l'apparition des premières mortes. Pour le suivi du syndrome 93, les valeurs d'oxygène étaient extrêmement faibles à J91 juste avant la mise en route des aérateurs. Elles ont pu induire un affaiblissement des animaux avant l'émergence de la maladie. L'oxygène est un paramètre sensible pour les crevettes en élevage (Le Moullac et al, 1998; Mugnier & Soyez, 2005) et son déficit a pu favoriser l'apparition et l'intensité des maladies, et d'autant plus que les besoins en oxygène pour la souche de crevette produite en Nouvelle-Calédonie sont élevés (Wabete, 2005). Une variabilité journalière élevée en oxygène semble exacerber les pertes dues au White Spot Syndrome. De nombreux fermiers privilégient dans le cadre de cette pathologie des oxygènes le matin à  $4 \text{ mg.l}^{-1}$  comparés à des valeurs à  $3\text{-}3,5 \text{ mg.l}^{-1}$  (Fegan & Clifford, 2001). L'ammoniaque est aussi un facteur de stress. Toutefois et même si les valeurs observées dans la colonne d'eau sont variables sur DF et sur le bassin H, elles sont beaucoup trop faibles pour avoir un effet significatif sur les animaux (Mugnier & Justou, 2004). La température est considérée comme un facteur majeur dans le cadre du syndrome 93 (Mermoud et al., 1998 ; Goarant, 2000 ; Lemaire et al., 2002 ; Wabete et al., 2006). Le pic de mortalité est apparu à  $24^\circ\text{C}$  pendant une baisse de la température. Cette valeur avait déjà été observée au cours de ce même suivi à J62 sans aucune mortalité. Des températures plus froides ont été observées dans le cadre du suivi sur le syndrome d'été sans apparition du syndrome 93. Elle seule ne suffit donc pas à provoquer les mortalités liées au syndrome 93 même si une baisse de la température est favorable à l'expression de la virulence du pathogène (Goarant et al., 2000) et à un stress physiologique (Lemaire et al., 2002) et immunitaire des animaux (Le Moullac & Haffner, 2000). Il n'est cependant pas exclu que l'ensemble de ces facteurs perturbe la crevette par effet cumulatif ou synergique (Mugnier & Soyez, 2005; Mugnier et al., en révision.).

### ***Le phytoplancton, indicateur d'un stress environnemental***

L'augmentation de l'apport organique dans les bassins coïncide avec une diminution du picophytoplancton (nombre de cellules et biomasse) ainsi qu'à une augmentation du nanophytoplancton (fig. 3.33). Ce changement apparaît pour un apport en azote dans les bassins d'environ  $25$  à  $30 \text{ mmol.m}^{-2}$  quel que soit le suivi. Avec l'augmentation des apports, comme ce

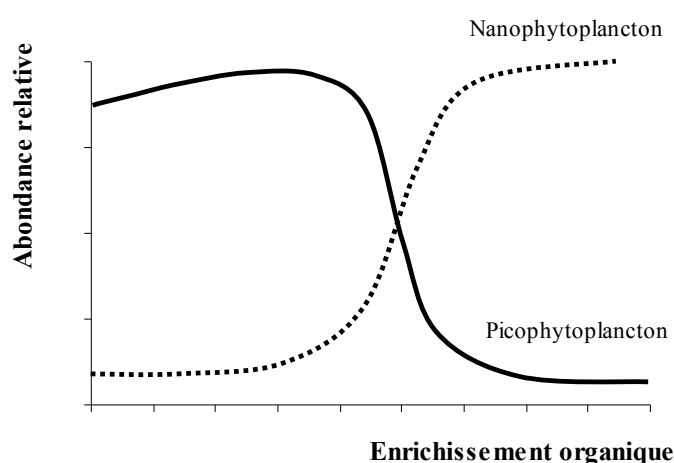


Figure 3.33 : Représentation schématique de l'évolution des assemblages picophytoplanctoniques et nanophytoplanctoniques soumis à un enrichissement organique du milieu.

fut le cas lors du suivi sur le syndrome d'été, le nanophytoplancton semble s'installer. Lorsque les apports diminuent, il disparaît pour laisser la place de nouveau au picophytoplancton (voir les résultats sur le syndrome 93).

Quel que soit le type cellulaire picophytoplanctonique, les concentrations mesurées sont très élevées en comparaison avec des environnements naturels. Au Mexique, des observations conduites dans deux fermes montrent que les cyanobactéries sont dominantes avec un pic d'abondance à  $3,5 \times 10^6$  cellules.ml<sup>-1</sup> (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003). La densité maximale dans nos suivis est du même ordre de grandeur avec respectivement pour les cyanobactéries et le groupe Unk des valeurs de  $5,6 \times 10^6$  cellules.ml<sup>-1</sup> et de  $4,3 \times 10^6$  cellules.ml<sup>-1</sup>.

En règle générale, dans les eaux les moins productives, la biomasse du picophytoplancton est supérieure à celle du nano et du microphytoplancton. A contrario, dans les eaux plus productives, les cellules les plus grosses dominent (Agawin et al., 2000). Dans une expérience, ces auteurs confirment la dominance du picophytoplancton dans des eaux pauvres en nutriments alors que leur proportion est inférieure à 10% de la biomasse autotrophe dans des eaux plus riches. Dans les eaux douces, l'abondance du picoplancton autotrophe diminue avec l'enrichissement en nutriments (Rhew et al., 1999; Drakare et al., 2003). La littérature rapporte ce changement de l'importance relative du picophytoplancton vers des cellules plus grosses en relation avec la productivité des eaux (Rhew *et al.*, 1999; Agawin et al., 2000; Jacquet et al., 2002 ; 2006). La température comme les nutriments contribuent à ce changement (Agawin et al., 2000). Toutefois, la covariance entre ces deux paramètres est élevée et la température est fortement impliquée dans la croissance de ces algues en culture (Moore et al., 1995) et sur le terrain (Agawin et al., 1998). Dans le lagon calédonien, une augmentation de la concentration en DIN induit une augmentation du microphytoplancton au détriment du picophytoplancton (Jacquet et al., 2006). Dans les bassins et quel que soit l'assemblage qui domine, pico ou nanophytoplancton, les concentrations en DIN restent faibles et généralement inférieures à 1  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ .

La dominance du picophytoplancton dans les eaux oligotrophes pourrait dépendre du rapport surface – volume (Raven, 1986). Cet avantage lui permettrait dans les eaux oligotrophes une plus grande capacité pour capter les sels nutritifs nécessaires à sa croissance et à sa maintenance (Raven, 1998). Toutefois, l'évolution des concentrations en sels nutritifs dans les bassins ne permet pas d'expliquer l'augmentation du nanophytoplancton au détriment du picophytoplancton en termes de biomasse et d'abondance. Nous trouvons même une corrélation négative entre le picophytoplancton et les concentrations en DIN. Une concentration faible en nutriments ne signifie cependant pas une croissance du phytoplancton limitée (Andersen et al., 1991). La minéralisation de la matière organique



dans les sédiments peut être une source importante de nutriments pour la croissance du phytoplancton (Burford & Longmore, 2001). Dans les bassins de crevettes, la diffusion de l'ammoniaque des sédiments vers la colonne d'eau peut être très élevée. Après 4 mois d'élevage, les élevages intensifs en Australie montrent des flux d'ammoniaque moyens entre 11,3 et 45,8 mmol.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> (Burford & Longmore, 2001). L'ammoniaque est rapidement assimilé par le phytoplancton dans ces écosystèmes dont 90% par la fraction inférieure à 10 µm. La concentration en Chl-a était comprise entre 60 et 150 µg.l<sup>-1</sup> et le nombre de bactéries était de 3x10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup> (Burford et al., 2003), soit des conditions proches de celles rencontrées dans le cadre de l'étude sur le syndrome d'été. Les résultats suggèrent que les flux de nutriments du sédiment vers la colonne d'eau sont à l'origine des apports. Les sels nutritifs seraient directement consommés par le phytoplancton sans accumulation dans la colonne d'eau. L'intensité de ces apports pourrait être à l'origine du changement de l'assemblage picophytoplanctonique vers l'assemblage nanophytoplanctonique.

Le déclin de l'abondance du picophytoplancton au cours de l'élevage peut aussi être dû à une augmentation du grazing (contrôle top-down) et/ou des lyses virales. Agawin & Agustí (1997) indiquent que *Synechococcus* est fortement soumis au grazing par les protistes qui peuvent consommer entièrement leur production journalière. Les taux de croissance dans les eaux oligotrophes du picophytoplancton et le taux de grazing sont équivalents alors que les cellules plus grosses (diatomées et dinoflagellés) sont moins soumises au grazing par le microzooplancton dans ces eaux (Strom & Welschmeyer, 1991 ; Latasa et al., 1997).

### ***Les facteurs limitants la croissance phytoplanctonique***

Burford et al. (1997) rapportent qu'un changement du rapport N/P et des concentrations en ammoniaque coïncide avec une évolution de la structure phytoplanctonique. Les données de la littérature indiquent des variations comprises pour le rapport N/P entre 1,1 et 61 dans les bassins semi-intensifs et entre 5,5 et 67 dans les bassins intensifs. Il varie le plus fréquemment dans la gamme 1,1 à 6,8 (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003). Dans le cadre du suivi sur le syndrome d'été, la gamme de valeurs est plus large avec des rapports compris entre 1 et 195 avec une moyenne de 31 à HC et de 45 à DF.

Les écarts au rapport de Redfield sont considérés comme un indice pour déterminer l'élément limitant. (Dortch & Whitledge, 1992). Justic et al. (1995) suggèrent que les facteurs limitants peuvent être déterminés avec les critères suivants : (1) P limitant si le rapport Si/PO<sub>4</sub> > 22 et si DIN/PO<sub>4</sub> > 22, (2) N limitant si DIN/PO<sub>4</sub> < 10, si Si/DIN > 1 (3) Si limitant, si Si/PO<sub>4</sub> < 10 et Si/DIN < 1. Le rapport stœchiométrique suggère une possible limitation et d'autant plus si les concentrations en nutriments

sont en dessous d'une valeur seuil. Justic *et al.* (1995) estiment ces valeurs respectivement à 2, 1 et 0,1  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  pour la silice, pour l'azote et le phosphore inorganique dissous. La silice est prise en compte comme facteur limitant des diatomées.

Dans le cadre du suivi du syndrome d'été et en appliquant la méthode de Justic *et al.* (1995) récemment utilisée par Jacquet *et al.* (2006) pour la recherche des éléments limitants dans le lagon calédonien, le phosphore serait limitant dans 61% des cas et l'azote dans 25% des cas à HC (tab. 3.9). Dans 14% des cas, aucun de ces éléments ne serait limitant. L'azote serait le facteur limitant en début d'élevage (de J20 à J50) et le phosphore après J51. A DF, le phosphore et l'azote seraient limitants respectivement dans 53% et 37% des cas. Aucun facteur limitant n'a été trouvé dans 10% des cas. Le phosphore serait le facteur limitant du début de l'élevage jusqu'à J37 et entre J49 et J69. L'azote serait limitant entre J39 et J47 et entre J71 et J79. La silice ne serait dans aucun cas limitante.

Tableau 3.9 : Eléments limitants la croissance phytoplanctonique au cours des élevages. Les facteurs limitants ont été déterminés en considérant les concentrations en nutriments et les rapports DIN/DIP, Si/DIN, Si/DIP suivant la méthode définie par Justic *et al.* (1995). N: DIN est le facteur limitant ; P: DIP est le facteur limitant ; -: N, P et Si ne limitent pas la croissance phytoplanctonique.

HC		DF		Bassin H	
Days	Limiting factor	Days	Limiting factor	Jours	Bassin
-2	-	-3	P	1	-
5	P	4	P	7	-
12	P	11	P	14	-
19	N	18	P	21	-
26	P	25	-	28	-
33	-	32	P	35	N
35	N	34	P	41	-
37	N	36	P	43	N
39	-	38	N	45	-
41	N	40	N	47	N
43	N	42	N	49	N
45	-	44	N	51	-
47	P	46	N	54	-
49	N	48	P	56	N
51	P	50	P	58	N
53	P	52	P	61	-
55	P	54	P	63	-
57	N	56	P	65	-
59	P	58	-	68	-
61	P	60	P	70	-
63	P	62	P	72	-
65	P	64	P	75	N
67	P	66	P	77	-
69	P	68	-	79	-
71	P	70	N	82	P
73	P	72	N	84	nd
77	P	74	N	86	-
79	P	76	N	89	-
		78	N	91	-
		80	N	93	P
				96	-
				98	nd
				100	-
				103	-
				105	-
				107	-
				111	nd

Au cours de la première phase de l'élevage, le picophytoplancton domine le compartiment autotrophe avec des phases successives entre Unk et Cya. Dans le cadre du syndrome d'été, Unk domine sur la période J20-J50. C'est le groupe le mieux représenté sur la quasi-totalité du suivi lors de l'étude sur le syndrome 93. Un déficit en azote caractériserait ces milieux.

Dans le cadre du syndrome d'été, *Synechococcus* était le groupe cytométrique le plus représenté du picophytoplancton dans la première partie de l'élevage à un moment où le

phosphore pourrait être le facteur limitant (fig. 3.34). *Synechococcus* pourrait être favorisé lorsque le phosphore est limitant et Unk lorsque l'azote est limitant. Moutin et al. (2002) suggèrent que *Synechococcus* aurait une haute affinité pour l'orthophosphate et un taux d'assimilation supérieur aux hétérotrophes ou aux algues eucaryotiques. Cet avantage pourrait expliquer l'abondance des *Synechococcus* dans les environnements limités en phosphore.

Dans le cadre du syndrome d'été, les groupes qui constituent le nanophytoplancton sont plus instables sur la ferme DF que sur la ferme HC. Ainsi, le nombre de cellules N1 et N2 augmente progressivement à HC de J50 à J80 alors que l'abondance pour ces mêmes groupes montre des phases successives d'augmentation et de diminution à DF.

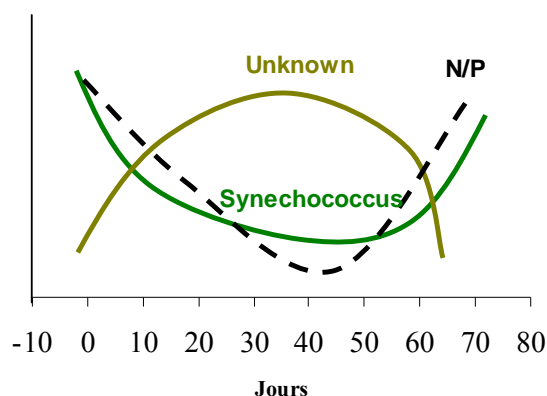


Figure 3.34 : Schéma représentant l'évolution relative des populations au sein du picophytoplancton et du rapport N/P.

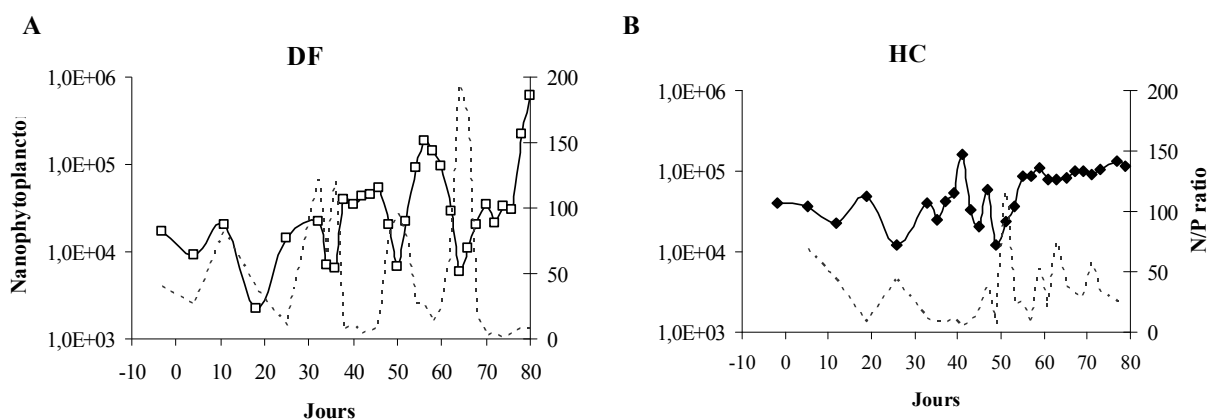


Figure 3.35 : Evolution du nombre de cellules nanophytoplanctoniques et du rapport N/P à DF et à HC dans le cadre du syndrome d'été.

Quel que soit le groupe, ces variations sont synchrones suggérant un facteur commun à l'origine de ces variations. Les fortes variations du rapport N/P pourraient être à l'origine de ces variations (fig. 3.35A). Un faible rapport pourrait favoriser ou ne pas pénaliser la croissance du nanophytoplancton alors qu'une limitation trop forte en phosphore ne permettrait pas à ces groupes de se maintenir. Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna (2003) rapportent que des rapports faibles favorisent la dominance du nanophytoplancton dans les bassins comme dans les eaux littorales et estuariennes.

Le phytoplancton pourrait aussi être limité par la lumière dans les bassins d'élevage (Burford et al., 1997). Tucker & Van der Ploeg (1993) indiquent que la lumière serait même le facteur prépondérant

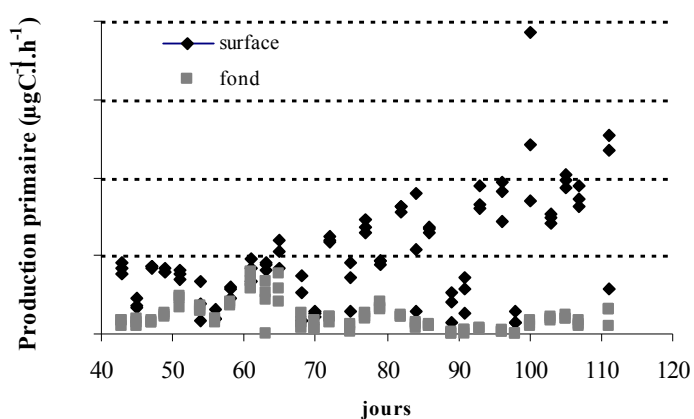


Figure 3.36 : Evolution de la production primaire en surface et au fond de la colonne d'eau du bassin H. Pour des raisons techniques, les valeurs absolues ne sont pas fiables. Seule la comparaison entre surface et fond à un instant t est valide (Herbland, com. pers.).

dans des bassins d'élevage de poissons dans le Mississippi. La colonne d'eau des bassins est soumise à une intensité lumineuse forte mais qui diminue rapidement avec l'augmentation de la turbidité. Dans le cas du bassin H, la stratification le soir pour l'oxygène et le pH à partir de J68 indiquerait une production primaire plus forte en surface qu'au fond. Ce résultat a été confirmé par la mesure de la production primaire au fond et en surface (fig. 3.36). Cette stratification coïncide avec une augmentation de la turbidité et une diminution de la

pénétration de la lumière dans la colonne d'eau (données non montrées). Dans nos suivis, le nanophytoplancton est positivement corrélé à la turbidité et à la concentration en matières minérales. L'effet de la turbidité sur l'évolution des assemblages est rarement pris en compte comme facteur explicatif. En effet, comparé à des cellules plus grosses, le picophytoplancton aurait une croissance spécifique plus forte avec un flux de photons faible (Raven, 1998). Cette spécificité ne va pas dans le sens observé à savoir une diminution de l'abondance en picophytoplancton avec l'augmentation de la turbidité.

### ***Le phytoplancton à l'origine des mortalités ?***

Certaines conditions sont propices au développement de blooms impliquant de fortes mortalités dans les bassins (Alonso-Rodríguez & Páez-Osuna, 2003). Quelle que soit la saison, les bassins sont caractérisés par une intense production de phytoplancton avec sur la première partie de l'élevage le

développement de picophytoplancton et sur la seconde partie le développement de nanophytoplancton. Après environ 50 jours d'élevage dans le cadre du suivi du syndrome d'été et après 90 jours pour le suivi du syndrome 93, les abondances picophytoplanctoniques s'effondrent plus au moins fortement et laissent la place à un peuplement de cellules nanophytoplanctoniques se développant sous forme de blooms. Ce changement coïncide avec l'apparition des épizooties quelle que soit la maladie. Lors du syndrome d'été sur la ferme DF, ces blooms sont brefs (2 à 6 jours) et très intenses. Ils précèdent l'apparition des premières mortes (fig. 3.37A). C'est le cas des classes N1, N2 et N3 dont les pics, situés au jour 56, précèdent les mortalités s'exprimant les jours 58 à 64. Cette observation se renouvelle au jour 74 où le dernier pic de N3 précède les dernières mortalités des jours 76 à 78. Dans le cadre du syndrome 93, l'apparition des mortes est précédée d'une augmentation de deux groupes nanophytoplanctoniques N1 et N2 (fig. 3.37B).

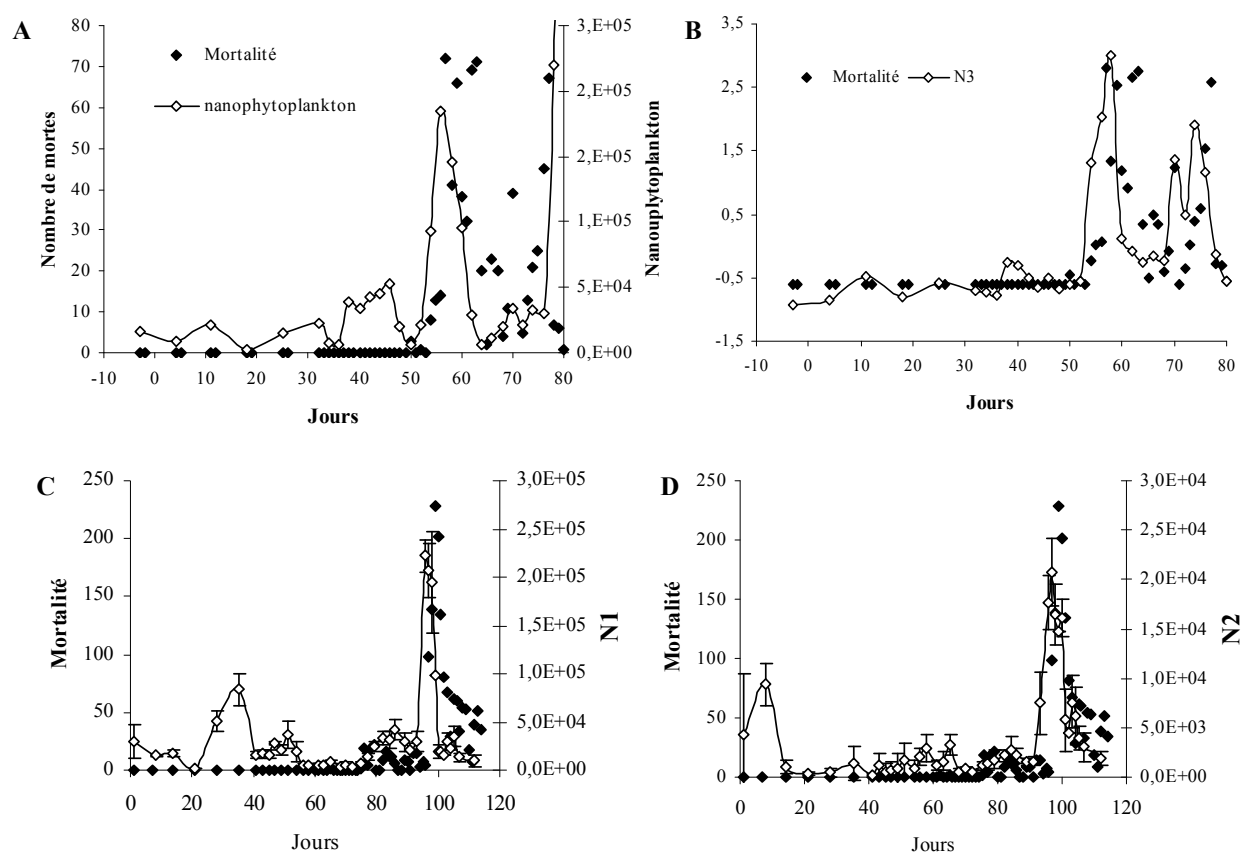


Figure 3.37 : Evolution (A) des abondances en nanophytoplancton et des mortalités à DF (syndrome d'été) – (B) Evolution comparée du groupe cytométrique N3 et des mortalités à DF - (C et D) Evolution comparée des groupes N1 et N2 et des mortalités dans le cadre du suivi du syndrome 93.

Des investigations préliminaires en microscopie électronique et en séquençage des ARNr 18S réalisées sur un échantillon prélevé en 2004 dans le bassin H de St Vincent en période de mortalité montrent que des algues toxiques, ou susceptibles de l'être, sont présentes comme des dinoflagellés indéterminés qui peuvent appartenir aux classes de taille N2 et N3 (Courties et al., 2005). Cette étude

préliminaire de la diversité des espèces procaryotes et eucaryotes montre aussi une microflore très originale, car les pourcentages de similitude avec les séquences répertoriées dans Genbank sont faibles. Seules les séquences affiliées au genre *Synechococcus* correspondent à des bactéries cultivées. Notons que l'algue *Phaeocystis* (*Prymnesiophyceae*), récemment reconnue toxique pour des larves d'oursin, y a été identifiée en microscopie électronique sans que, là encore, on puisse incriminer cette algue dans les phénomènes de mortalité. La relation entre mortalité et bloom nanophytoplanctonique pourrait aussi être indirecte. Des phénomènes d'anoxies sont ainsi régulièrement mis en causes. Les valeurs restent toutefois au dessus de 3 mg.l<sup>-1</sup> en début de mortalité quelle que soit la maladie. Il est donc peu probable qu'un déficit d'oxygène soit la cause directe des mortalités.

### ***Un milieu variable favorable aux bactéries hétérotrophes, aux Vibrio...et aux pathogènes ?***

La production bactérienne est affectée par de nombreux facteurs. L'état trophique du milieu est l'un des plus importants d'entre eux (Ducklow & Carlson, 1992). En règle générale, la production bactérienne est fortement corrélée à la production primaire (Cole et al., 1988) et l'abondance bactérienne avec le nombre de prédateurs (nanoplancton hétérotrophe) dans les eaux eutrophisées (Sander et al., 1992). Dans les bassins, la production bactérienne est considérable si on compare aux valeurs rapportées par Sakami et al. (2003) dans un estuaire soumis à des apports aquacoles ou par Jacquet et al. (2006) pour le lagon calédonien. En été, la production bactérienne est corrélée à la concentration en Chl-a suggérant que la BP est dépendante de la production primaire. Sur la ferme HC, elle est aussi corrélée à la température alors qu'elle ne l'est pas sur la ferme DF. Des valeurs très faibles en début d'élevage et en fin d'élevage expliquent cette absence de corrélation. L'eutrophisation du milieu s'accompagne donc d'une augmentation de l'activité bactérienne en partie régulée par la température. A l'arrivée de la saison froide, la température semble être un facteur clé contrôlant l'abondance comme la production des bactéries hétérotrophes.

Des études récentes ont montré un lien entre l'émergence de pathologies et le changement des conditions environnementales dans l'océan (Harvell et al., 2002). Colwell (1983) ont mis en évidence une corrélation entre la présence de *V. parahaemolyticus* dans la baie de Chesapeake et la température. Ainsi, la distribution du *V. parahaemolyticus* est saisonnière. On le trouve plus particulièrement l'hiver à une température comprise entre 10 et 14°C (Chowdhury et al., 1990). Une forte salinité associée à des concentrations en nutriments relativement élevées seraient la cause de la croissance des *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*) responsables de la pathologie dénommée « Syndrome gaviota » qui toucha de novembre 1989 à mai 1990 les élevages de *L. vannamei* en Equateur (Mohney et al., 1994). Les fluctuations du milieu ont un effet significatif sur la virulence de

*Vibrio harveyi*, avec un effet plus prononcé de la salinité par rapport à la température (Shivappa, 1997). Baron & Liston (1970) ont montré que les *Vibrio* sont favorisés dans les eaux riches en nutriments organiques. Leur disponibilité serait un facteur clé pour comprendre la distribution de ces bactéries. Horowitz & Horowitz (2001) indiquent que les pathogènes et les bactéries opportunistes “prospèrent” dans les milieux eutrophisés comparativement à des milieux oligotrophes. Le niveau d'enrichissement du milieu ainsi

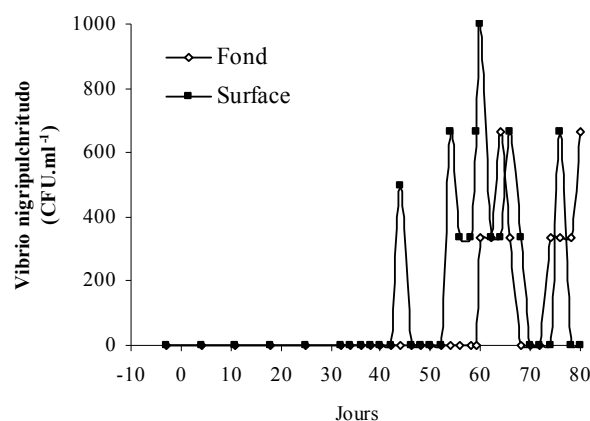


Figure 3.38 : Evolution de *Vibrio nigripulchritudo* dans la colonne d'eau du bassin à DF en surface et au fond.

que ses variations à DF peuvent avoir des conséquences à la fois sur la croissance mais aussi la virulence des pathogènes. Les populations bactériennes présentent des taux de croissance élevés et peuvent répondre rapidement à des enrichissements transitoires et importants de matière organique. Ces alternances pourraient ainsi profiter aux *Vibrio*, et plus particulièrement à *V. nigripulchritudo* dont certaines souches sont fortement pathogènes (Goarant et al., 2006a). Sung et al. (1999) montrent aussi une augmentation de la proportion de *Vibrio* potentiellement pathogènes dans la colonne d'eau en relation avec des mortalités dans un élevage de crevettes. En règle générale, un stress environnemental induit une diminution de la diversité de la communauté microbienne et une augmentation des groupes microbiens avec des fonctions spécifiques (Atlas et al., 1991).

## 5. Conclusions

La plupart des vibrioses sont des pathologies opportunistes qui apparaissent en période de stress pour les animaux et qui au final engendrent de fortes mortalités (Nash et al., 1992; Mohney et al., 1994; Ruangpan et al., 1995). La diminution des sources de stress est considérée comme un facteur clé par de nombreux auteurs pour contrôler l'apparition d'une pathologie (Flegel et al., 1995). Pour minimiser ce stress, il est recommandé de réduire la variabilité du milieu.

Cette variabilité est caractérisée dans le cas du syndrome d'été par une eutrophisation du milieu d'élevage. Toutefois, les niveaux d'eutrophisation atteints à HC en fin de suivi sont du même ordre de grandeur que ceux atteints à DF avant que le syndrome ne se déclare. Ce ne serait pas tant les niveaux atteints que la précocité de l'eutrophisation et ses fluctuations qui les différencient. Quel que soit le

syndrome, les mortalités se déclarent suite à un basculement d'un assemblage picophytoplanctonique à un assemblage nanophytoplanctonique.

Ces observations doivent être poursuivies afin de confirmer, ou d'infirmer le scénario d'un déséquilibre du peuplement phytoplanctonique qui, passant d'une composante principale picoplanctonique en début d'élevage, basculerait sous l'effet de l'eutrophisation du milieu vers une composante nanophytoplanctonique. Cette dernière pourrait être dominée par des algues toxiques qui, en « bloomant », contribueraient à l'affaiblissement des crevettes, et favoriserait *in fine* leur contamination mortelle par les *Vibrio*. Ce basculement pourrait aussi directement favoriser la croissance et la virulence des pathogènes.

La gestion zootechnique peut conduire à réduire cette variabilité du milieu d'élevage et donc à réduire les risques pathologiques. Toutefois, la gestion n'est pas la seule cause de variabilité de l'écosystème. Elle varie aussi en fonction des conditions météorologiques (Tucker & Van der Ploeg, 1993 ; Hargreaves & Tucker, 1996) sur lesquelles le fermier a peu de prise et dépend étroitement de la qualité et des caractéristiques de l'eau de renouvellement et du sédiment, compartiment que nous allons décrire dans le prochain chapitre.



## Chapitre 4 : Caractéristiques des sédiments et vibrioses

### 1. Introduction

Dans un bassin d'élevage, avec l'apport croissant en aliment, le sédiment devient de plus en plus hétérotrophe au fur et à mesure que l'élevage progresse. Ces milieux peu profonds ont un rapport surface – volume élevé. De ce fait, les processus dans le sédiment et à l'interface sont intenses et vont fortement influencer sur la qualité de l'eau sus-jacente. Les sédiments peuvent jouer une fonction importante de régulation de l'écosystème par leur capacité de rétention et d'échange de la matière organique (MO) et des nutriments, et par leur effet tampon (De Witt et al., 2001). Ils jouent un rôle clé en contrôlant l'apport de phosphore vers la colonne d'eau (Caraco et al., 1989 ; Sundby et al., 1992 ; Jensen et al., 1995, Gunnars & Blomqvist, 1997). La concentration en MO résulte de la différence entre les apports et sa respiration (oxydation). L'enrichissement en MO influe sur les flux de nutriments et sur les conditions d'oxygénation du milieu. L'absence d'oxygène dans l'eau interstitielle du sédiment conditionne l'apparition de substances réduites telles que le sulfure d'hydrogène, l'ammonium ou encore la dissolution réductive de métaux (Fe, Mn). Ces substances sont potentiellement dangereuses pour les animaux en élevage.

En effet, les crevettes pénéides élevées en bassin de terre sont exposées au sédiment, sur lequel elles passent une bonne partie de leur vie. La nature du sédiment peut dans certains cas être défavorable au bien-être de l'animal et induire un stress. Dans un bassin intensif, l'abondance en crevettes est significativement plus faible dans la région où s'accumulent les déchets suggérant des conditions moins favorables à la croissance et à la santé des animaux (Delgado et al., 2003). Plus directement, l'effet du sédiment peut être testé *in situ* en plaçant des crevettes dans des cages directement en contact avec le sédiment dans un bassin (Lemonnier et al., 2004 ; Mugnier et al., 2006)<sup>11</sup>. Des expérimentations avec cette méthode ont permis de montrer que certains endroits d'un bassin sont plus perturbants pour les crevettes que d'autres. Dans un cas, l'analyse en parallèle du sédiment a permis de mettre en évidence une corrélation négative entre le pH et le stress de la crevette (Lemonnier et al.,

---

<sup>11</sup> Ce sujet a fait l'objet de trois articles dont un de vulgarisation, de plusieurs posters et d'une communication orale. Les articles sont présentés dans les annexes 3, 4 et 5 :

Mugnier C., **Lemonnier H.**, Legrand A., 2006. Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short-term confinement on a pond bottom. *Aquaculture* 253: 703-711.

**Lemonnier H.**, E. Bernard, E. Boglio, C. Goarant, Cochard, J-C., 2004. Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect. *Aquaculture* 240: 297-312.

**Lemonnier H.**, Bernard, E. Boglio, E., Goarant, C., Cochard J-C., 2004. Sediment quality affects shrimp physiology in New Caledonia research. *Global Aquaculture Advocate*, 7(5), 86-87.

2004). La crevette est sensible à une acidification même faible des sédiments. Dans une autre expérimentation basée sur le même principe, le sédiment accumulé au centre du bassin et bien que ne présentant a priori pas de valeurs stressantes pour la crevette (pH = 7,3 ; Eh = +111mV ;  $\text{NH}_{3,4}^+$  EI = 8,5 mg.l<sup>-1</sup>), a entraîné une réponse des animaux beaucoup plus marquée que partout ailleurs dans le bassin (Mugnier et al., 2006).

L'enrichissement organique des sédiments et ses conséquences sur les caractéristiques de l'environnement benthique induit une augmentation de la concentration en *Vibrio* (La Rosa et al., 2001). La combinaison de conditions anaérobies et des niveaux de nutriments élevés peut favoriser la prolifération de micro-organismes dangereux pour les animaux (Horowitz & Horwitz, 2001). Ce sont des colonisateurs très efficaces de ces sédiments (La Rosa et al., 2004). Buford et al. (1998) montrent que le carbone organique total, l'azote total dans les sédiments sont très corrélés avec le nombre de bactéries hétérotrophes dans les sédiments de bassins aquacoles en Australie suggérant que ce sont les facteurs limitant de la croissance bactérienne. Avec la température, les concentrations en substrats organiques sont les deux principaux facteurs qui contrôlent la croissance bactérienne dans les bassins (Moriarty, 1997).

L'évolution des caractéristiques sédimentaires d'un bassin d'élevage de crevettes en milieu tropical soumis à un apport croissant en aliment n'a pas ou été peu étudiée et encore moins en relation avec une épizootie. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer la qualité des sédiments à l'interface avec la colonne d'eau et de la suivre, en relation avec les mortalités dans le cadre des deux vibrioses que sont le syndrome 93 et le syndrome d'été. Il s'agit d'évaluer le rôle potentiel des sols sur l'émergence des épizooties. Les sédiments ont été caractérisés par des indicateurs proposés par Hussenot et Martin (1995) et par Avnimelech et al. (2001) pour des suivis de terrain. Ces auteurs préconisent de prendre en compte la teneur en eau (fortement corrélée à la MO et la densité des sédiments), le potentiel d'oxydoréduction, le pH et l'azote ammoniacal total dans le premier centimètre de sédiment. Le carbone organique total, le phosphore total et l'azote total ont été analysés parce qu'ils sont très favorables à la croissance de la flore hétérotrophe et en particulier de la flore *Vibrio* et à la mise en place de conditions réduites défavorables pour les animaux en élevage. Plusieurs suivis ont été réalisés. Dans le cadre du syndrome 93, il a été effectué en 2004 dans un grand bassin du laboratoire IFREMER. La maladie s'est déclenchée après 92 jours d'élevage. Dans le cadre du syndrome d'été, le suivi a été conduit en 2002 sur un bassin de la ferme SeaFarm (DF) et sur un bassin d'une ferme proche ne déclarant pas la maladie (HC) (Bassin témoin). La souche hautement virulente de *V. nigripulchritudo* était présente sur les deux fermes (Goarant et al., 2006a ; 2006b). Seul, le bassin DF a développé l'épizootie à partir de 50 jours d'élevage.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Descriptifs des suivis sédimentaires

Voir chapitre 3, paragraphe 2.1.

### 2.2. L'échantillonnage

Juste avant la mise en eau, les 5 premiers centimètres de sol ont été échantillonnés à chaque station puis homogénéisés pour analyser le pH (sol sec), la texture, le carbone organique total (COT), l'azote total (TN), le phosphore total (TP) et les carbonates (Etat 0). Pendant l'élevage, le pH *in situ* et le potentiel d'oxydoréduction (Eh) ont été mesurés *in situ* à chaque station sur le premier centimètre selon la méthode décrite par Hussenot & Martin (1995). Le potentiel d'oxydoréduction a été mesuré avec une électrode adaptée à ce type de mesure (PT5700A, Schott Instruments, Mainz, Allemagne) à l'aide d'un pH-mètre Knick Portamess. Le premier cm de sédiment a été prélevé par carottage en plongée pour minimiser toute perturbation, à l'aide d'un tube en PVC de 40 cm de diamètre. Les échantillons ont été ramenés directement au laboratoire dans de la glace pour préparation et analyse.

### 2.3. Analyses au laboratoire

*Analyse du sédiment prélevé pendant l'assec* : Les échantillons ont été séchés à 60°C et tamisés à 2 mm. La taille des particules a été déterminée par la méthode décrite par Bartoli et al. (1991). Le pH sur ces sols a été mesuré dans une solution sol sec / eau distillée avec un rapport 1/2,5. La concentration en MO a été analysée par perte au feu à 350°C pendant 8 heures (Ayud & Boyd, 1994; Quiroz & Boyd, 1998). Le carbone organique total (COT) a été déterminé en fonction des suivis selon la méthode de Black-Walkey (Boyd, 1995) ou par combustion au CHN Carlo Erba 1500. Le carbone minéral a été éliminé avant analyse par acidification à l'HCl (1N). L'azote total (TN) a été déterminé soit par la méthode de Kjeldhal soit par combustion au CHN Carlo Erba 1500. Le standard utilisé lors de la calibration de l'appareil était l'acétanilide (10,39% d'azote et 71,09% de carbone). Les résultats sont exprimés par rapport au sédiment sec (mg.g<sup>-1</sup> ss). Le phosphore total a été analysé par Technicon (Treguer and Le Corre, 1975) après digestion avec NaOH / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Les Carbonates ont été déterminés par mesure du CO<sub>2</sub> dégagé après digestion avec de l'HCl.

*Analyse des sédiments prélevés pendant l'élevage* : Au laboratoire, chaque échantillon a été homogénéisé et préparé afin de réaliser les analyses chimiques le plus rapidement possible. Une première fraction du sédiment est utilisée dans un premier temps pour déterminer le taux d'hydratation

(teneur en eau) par perte de poids consécutive à un séchage de cinq jours à 60°C, ce dernier étant exprimé par le poids d'eau associé à 100 grammes de sédiment. Dans un second temps, les échantillons secs sont broyés et tamisés. La MO, le carbone organique total, l'azote total et le phosphore total sont déterminés selon les méthodes décrites ci-dessus pour les sédiments prélevés pendant l'assec. Une seconde fraction du sédiment permet la séparation de l'eau interstitielle du sédiment par centrifugation à 2000 g pendant 30 minutes. Le surnageant est récupéré afin de déterminer les concentrations en sels nutritifs. L'analyse des ces sels a été effectuée par dosages colorimétriques, suivant les méthodes de Murphy & Riley (1962) pour les phosphates et de Koroleff (1969) pour l'azote ammoniacal ( $\text{N-NH}_{3,4}^+$  EI).

#### **2.4. Analyse des données**

Les résultats sont généralement présentés avec des graphes sous forme de moyennes  $\pm$  écart-types. Des corrélations de rang de Spearman ont été utilisées pour caractériser les relations entre les paramètres sédimentaires et le temps. Une et deux étoiles correspondent respectivement à des corrélations hautement significatives \*\* ( $p < 0.01$ ) et significatives \* ( $p < 0.05$ ). Dans le cadre du syndrome d'été, les relations entre les paramètres sédimentaires et la concentration en pathogène dans l'eau interstitielle ont été analysées avec des corrélations de Pearson. Les données ont été transformées en  $\log(x+1)$  avant analyse. Une analyse factorielle discriminante normée (AFD) a été réalisée à partir d'une matrice de 25 observations et de 9 variables. L'intensité des mortalités a servi de critère de classification pour séparer les groupes (Legendre & Legendre, 1998). Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels Statview 4.02 ®(Abacus Concepts) et Statgraphics plus 5.1.

### **3. Résultats et discussion**

#### **3.1. Le syndrome 93**

##### **3.1.1. Evolution des paramètres sédimentaires**

Le sol sur toute sa surface était initialement de texture fine et composé d'un mélange d'argile (53%) et de limon (43%). Les concentrations moyennes en TN et en COT étaient respectivement de  $1,6 \pm 0,2$   $\text{mg.g}^{-1}$ /poids sec et de  $11,6 \pm 1,5$   $\text{mg.g}^{-1}$ /poids sec. La concentration en TP variait en fonction des stations de 884 à 1092  $\mu\text{g.g}^{-1}$  pour une moyenne de  $980 \pm 74$   $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Le rapport C/N était en moyenne faible et de  $7,4 \pm 0,3$  suggérant une dégradation non totale de la MO suite à l'assec. Les carbonates étaient très peu présents et même absents aux stations 3, 4, 5, 6.

Table 4.1: Caractéristiques des sédiments en fin d'assec sur le bassin H en 2004.

Paramètre	Nb	Moyenne ± Ecart-type
Argile (<2 $\mu$ ) (%)	8	53.0±4.7
Limon fin (2<FS<20 $\mu$ ) (%)	8	22.3±2.2
Limon grossier (20<FS<50 $\mu$ ) (%)	8	20.6±3.2
Sable fin (50<FS<200 $\mu$ ) (%)	8	4.8±2.8
Sable grossier (200<FS<2000 $\mu$ ) (%)	8	2.4±2.5
COT (mg.g <sup>-1</sup> )	8	11.6±1.5
TN (mg.g <sup>-1</sup> )	8	1.6±0.2
Rapport C/N	8	7.4±0.3
TP ( $\mu$ g.g <sup>-1</sup> g)	8	980±74
Carbonates (%)	8	0.33±0.49

COT = Carbone organique total ; TN = Azote total ; TP = Phosphore total

Au cours de l'élevage, la texture n'a pas présenté d'évolution spatiale importante malgré la mise en route de l'aération à J91 et d'une redistribution des vases (fig. 4.1). Cela s'explique assez bien par la texture initiale composée de particules fines et le caractère homogène du bassin (tab. 4.1). Le pH augmente régulièrement avec la durée de l'élevage sans que nous puissions expliquer les causes de cette évolution (fig. 4.2A). Les écart-types sont importants à J14 et J29 et témoignent d'une forte variabilité pour ce paramètre en début d'élevage.

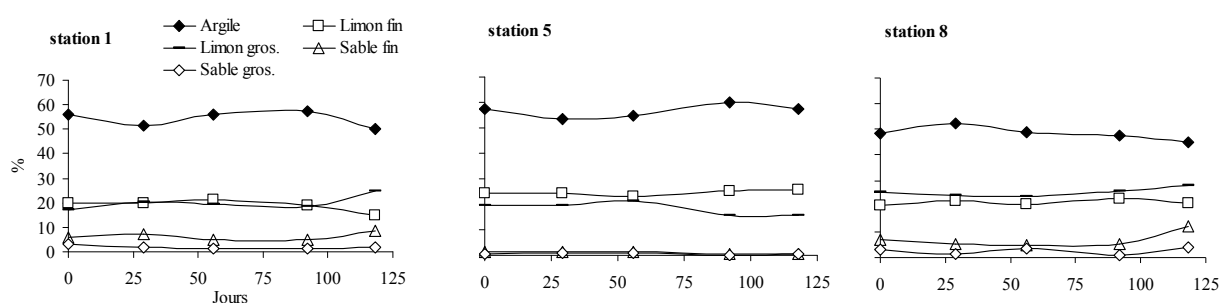


Figure 4.1 : Evolution du taux d'argile, du limon fin et grossier et du sable fin et grossier aux stations 1, 5 et 8 dans le premier centimètre du sédiment du bassin H de J0 à J124 en 2004.

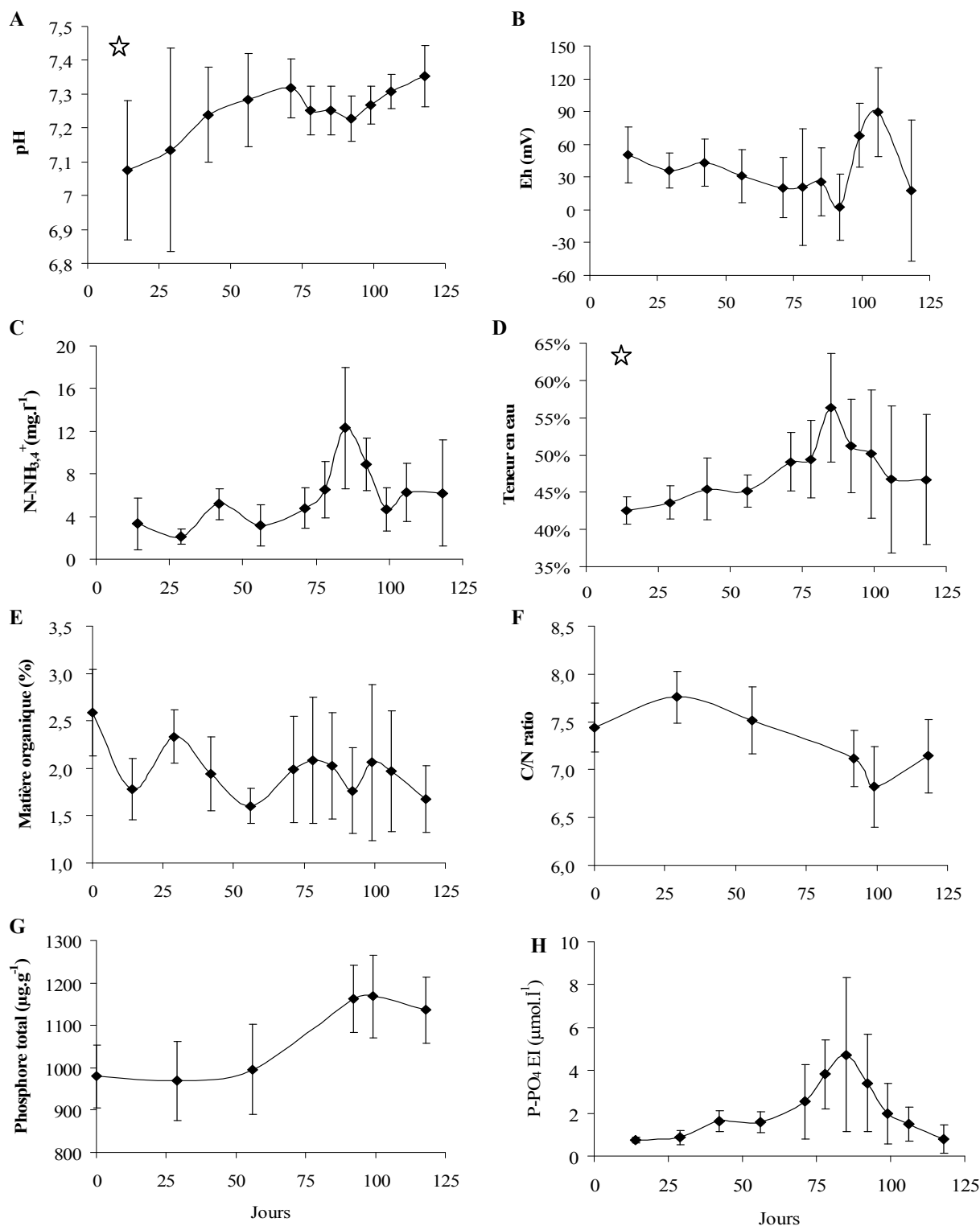


Figure 4.2 : Evolution des moyennes (N =8) et des écart-types du pH *in situ*, du potentiel d'oxydoréduction, de la concentration en N-H<sub>34</sub><sup>+</sup> dans l'eau interstitielle, de la teneur en eau, de la matière organique, du rapport C/N, du phosphore total et des phosphates dans l'eau interstitielle dans le premier centimètre de sédiment du bassin H. Des corrélations de rang de Spearman ont été utilisées pour caractériser les relations entre les paramètres sédimentaires et le temps. Une étoile indique une relation significative avec p<0,05.

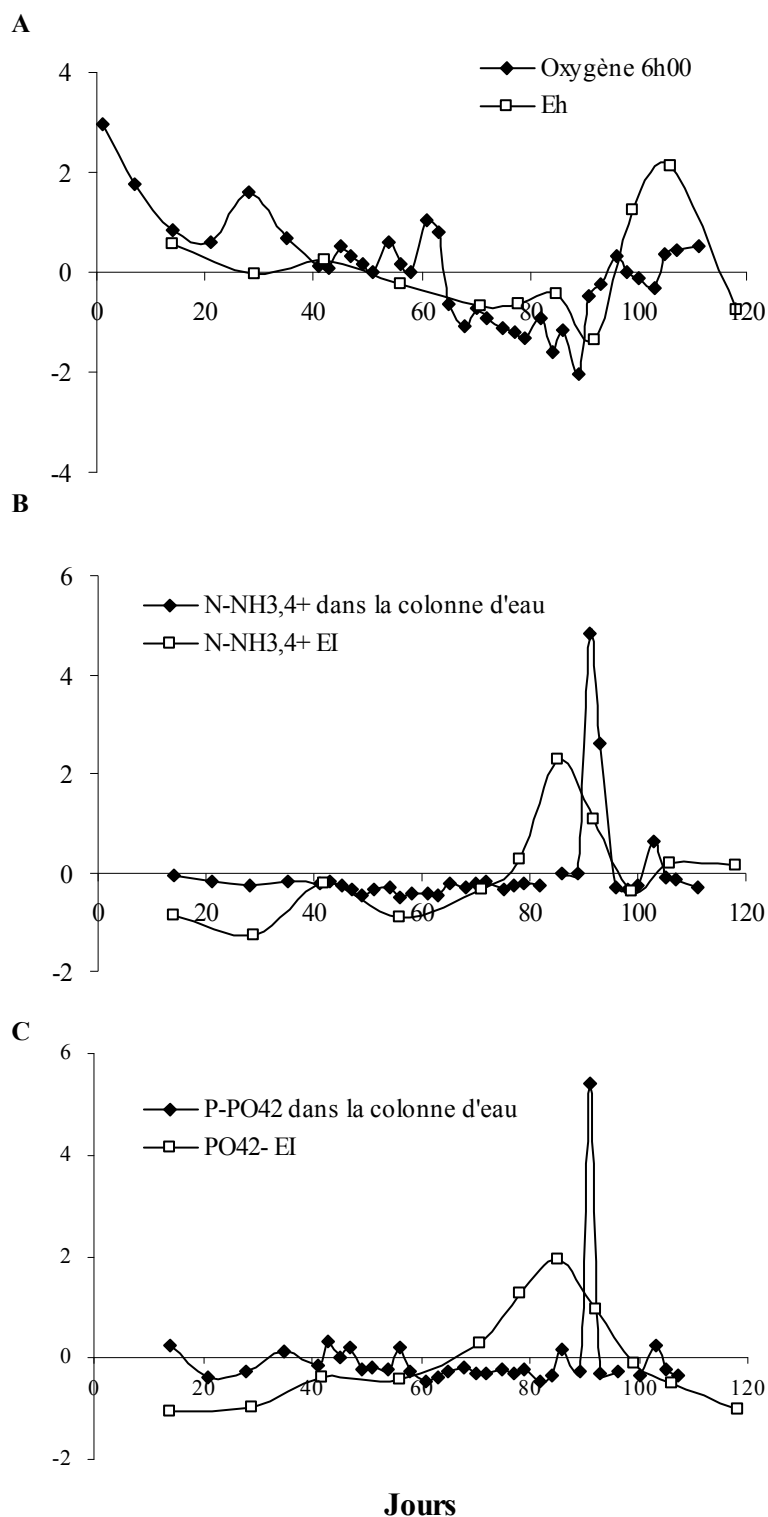


Figure 4.3 : Données centrées réduites de l'évolution (A) de l'oxygène dans la colonne d'eau (N=6) et du potentiel d'oxydoréduction Eh dans le premier cm de sédiment (N=8) ; (B) de l'ammoniaque (N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup>) dans la colonne d'eau (N=6) et dans le premier cm de sédiment (N=8) ; et (C) des phosphates dans la colonne d'eau (N=6) et dans le premier cm de sédiment (N=8).

La diminution du redox du début de l'élevage jusqu'à J92 (fig. 4.2B) est à relier au phénomène d'eutrophisation du milieu (Chap. 3). A partir de J91, la mise en route des aérateurs permet à la fois une remise en suspension des vases, l'oxygénation de l'interface eau - sédiment et a comme conséquence une remontée du potentiel d'oxydoréduction (Eh). Il est à noter que son évolution est similaire à celle des concentrations matinales en oxygène dissous. Ce résultat suggère une interrelation forte entre ces deux paramètres et un rôle prépondérant de la respiration des sédiments au cours de la nuit sur la teneur en oxygène du milieu d'élevage (fig. 4.3A).

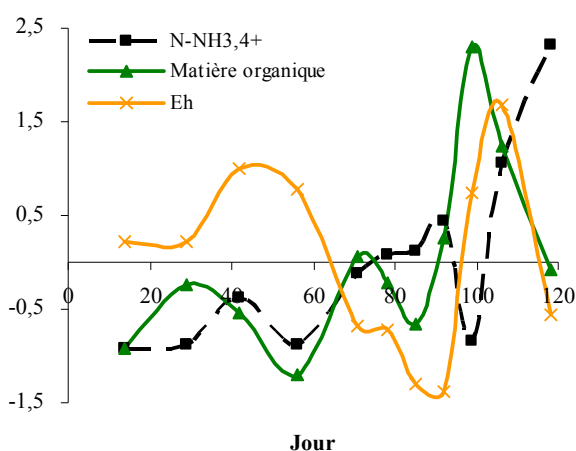


Figure 4.4: Evolution comparée de l'azote ammoniacal (N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup>) dans l'eau interstitielle, de la matière organique et du potentiel d'oxydoréduction (Eh) à la station 5. Les données ont été centrées et réduites.

Jusqu'à J92, on observe une hydratation des sédiments, phénomène classique (fig. 4.2D). Le décapage de l'interface sous l'effet des aérateurs explique la diminution de la teneur en eau aux stations 4, 6, 7 et 8 par la mise à nu d'horizons moins hydratés (résultats non montrés). La station 5 (centrale) devient une zone de dépôts où vont s'accumuler les particules les plus fines très hydratées, d'où une augmentation de la teneur en eau et du taux de MO (fig. 4.4). Les concentrations en COT et en TN pour cette même station à la même date sont respectivement de 3,8 et de 23,6 mg.g<sup>-1</sup> de sédiment sec pour un C/N de 6,2.

Sa dégradation conduit dans un second temps à une augmentation des concentrations en N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> dans l'eau interstitielle à cette station. Les stations 4, 6, 7 et 8 présentent dans un même temps une diminution des valeurs.

L'augmentation des concentrations en N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> et en phosphates dans la colonne d'eau au cours de ce suivi (fig. 4.3B et C) est la conséquence (1) d'une augmentation des échanges à l'interface suite à la remise en suspension des sédiments par les aérateurs et (2) peut être d'une baisse de la production primaire dans la colonne d'eau et donc d'une non consommation des sels nutritifs diffusés par le sédiment. En effet, l'augmentation des concentrations en N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> et en phosphates dans la colonne d'eau est observable pendant une période de diminution de la biomasse chlorophyllienne (Chap. 3 fig. 3.26A).



La mise en place des aérateurs a donc permis de concentrer les déchets sur une petite partie du bassin, la partie centrale et de diminuer ainsi la surface susceptible d'être stressante pour les animaux en élevage. Cette technique est très largement employée à travers le monde dans le cadre des élevages intensifs.

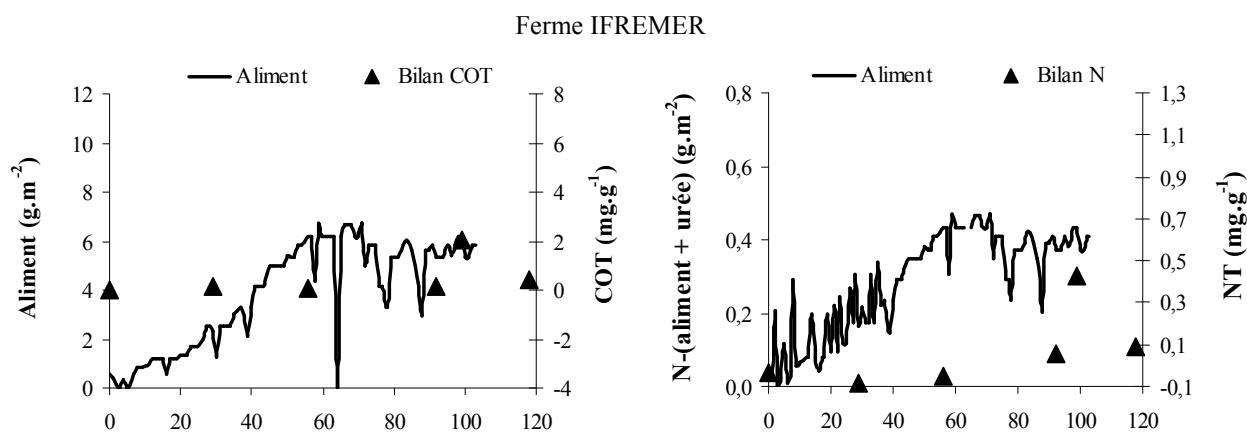


Figure 4.5 : (A) Evolution des quantités d'aliment distribuées et bilan ( $N = 6$ ) pour le carbone organique total (COT) accumulé dans le sédiment (Les valeurs sont soustraites de la valeur initiale - tab. 4.1). (B) Evolution des apports en azote par l'aliment et les fertilisants et bilan de la quantité d'azote accumulée dans le sédiment ( $N = 6$ ) au cours de l'élevage.

La concentration en MO n'augmente pas malgré la quantité d'aliment distribuée dans le bassin (fig. 4.5A), contrairement à ce que nous montrerons pour des élevages intensifs (voir ci-dessous - fig. 4.7). La concentration en MO semble évoluer autour d'une valeur moyenne de 1.9% (fig. 4.2E). La concentration mesurée est la résultante des apports organiques et de la respiration. Les apports ont plusieurs origines possibles : une production endogène au bassin et l'apport en aliment. Si on considère non plus les apports en aliment seul mais les apports par l'aliment et les fertilisants azotés, on note qu'ils évoluent peu tout au long de l'élevage (fig. 4.5B) comparativement à ce que nous observerons pour des élevages intensifs (fig. 4.7). En outre, tout au long de l'élevage, le phytoplancton est composé en très grande majorité de cellules de petites tailles (picophytoplancton) qui sédimentent généralement peu. Il est probable que les apports (sans doute relativement faibles) sont compensés par la respiration d'où des bilans nuls que ce soit pour les mesures de MO, de carbone et d'azote.

### 3.1.2. Evolution des sédiments et mortalités

De nombreuses crevettes faibles et moribondes ont été comptabilisées sur le bord des bassins de J75 jusqu'à J92. On considère toutefois cette période comme atypique (Collectif DAC, 2006). A cette période, les eaux interstitielles du sédiment présentaient des concentrations en azote ammoniacal

élevées. A J85, la valeur minimale était de  $6,6 \text{ mg.l}^{-1}$  et la valeur maximale de  $21,2 \text{ mg.l}^{-1}$  (fig. 4.6A). Les potentiels d'oxydoréduction étaient au plus bas sur certaines stations avant la mise en route des aérateurs (fig. 4.6B). Les caractéristiques des sédiments à toutes les stations étaient proches de celles considérées comme stressantes pour les animaux en élevage (Mugnier et al., 2006). A J97, un pic de mortalité typique du syndrome 93 apparaît. Cette forte mortalité a été observée jusqu'à la fin du suivi (Chap. 3 - fig. 3.16A). Mais de toute évidence, elle fait suite à une remise en suspension des sédiments qui s'est accompagnée d'une libération d'un composé réduit et toxique pour les animaux en élevage dans la colonne d'eau, l'ammoniaque, mais aussi sans doute de composés encore plus nocifs comme l'hydrogène sulfuré. Toutefois, les concentrations en ammoniaque mesurées restent faibles si on les considère uniquement comme acteur de stress pour les crevettes (Mugnier & Justou, 2004).

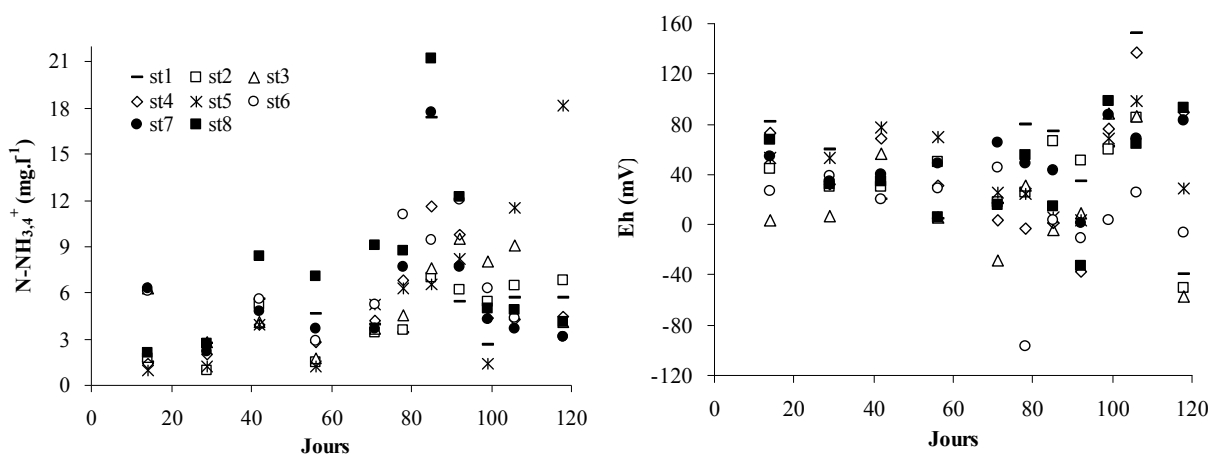


Figure 4.6 : Evolution des concentrations en azote ammoniacal dans l'eau interstitielle des sédiments et des potentiels d'oxydoréduction dans le premier centimètre par station en fonction de la durée de l'élevage.

### 3.2. Le syndrome d'été

#### 3.2.1. Déroulement des mortalités

Les mortes dans le bassin de la ferme DF sont apparues après 50 jours d'élevage. Deux périodes se distinguent, la première entre J54 et J64 et la seconde entre J72 et J80 avec un pic de mortalité à J77 (Chap. 3, fig 3.2A). Aucune mortalité associée au syndrome d'été n'a été observée sur la ferme HC. Les survies finales sur les fermes DF et HC ont été respectivement de 27% et de 62%. Ces résultats sont typiques de ceux obtenus avec et sans syndrome d'été (Lemonnier et al., 2006).

## 3.2.2. Evolution des caractéristiques sédimentaires

Les paramètres des sols qui ont été analysés avant la mise en eau sur les deux fermes HC et DF sont généralement similaires (tab. 4.2). Il n'y a pas de différence significative au seuil de 5% pour la très grande majorité des paramètres. Le sédiment du bassin HC était toutefois plus sableux ( $p < 0,05$ ). Le pH moyen était proche de la neutralité dans les deux bassins. Les valeurs variaient entre 6,1 et 8,1 en fonction de la station et du bassin. Les concentrations en azote total, en carbone organique total et en phosphore total étaient comprises respectivement entre 0,7 et 1,8  $\text{mg.g}^{-1}$ , entre 10 et 19  $\text{mg.g}^{-1}$  et entre 0,78 et 1,55  $\text{mg.g}^{-1}$ .

Table 4.2 : Moyennes  $\pm$  écart-types des paramètres analysés en fin d'assec sur les bassins DF et HC en 2002.

Paramètre	Nb	HC	DF
Argile ( $< 2\mu$ ) (%)	6	40 $\pm$ 15	46 $\pm$ 6
Limon fin ( $2 < \text{FS} < 20\mu$ ) (%)	6	21 $\pm$ 8	26 $\pm$ 7
Limon grossier ( $20 < \text{FS} < 50\mu$ ) (%)	6	7 $\pm$ 3	14 $\pm$ 9
Sable fin ( $50 < \text{FS} < 200\mu$ ) (%)	6	22 $\pm$ 10*	9 $\pm$ 4**
Sable grossier ( $200 < \text{FS} < 2000\mu$ ) (%)	6	9 $\pm$ 7	5 $\pm$ 9
pH sol sec	6	7,3 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,6
COT ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	6	13,3 $\pm$ 2,8	16,3 $\pm$ 2,6
TN ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	6	1,2 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,3
Rapport C/N	6	11,6 $\pm$ 1,7	11,6 $\pm$ 1,1
TP ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )	6	1,2 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1
Carbonates (%)	6	0,8 $\pm$ 1,4	0,5 $\pm$ 0,8

COT = Carbone organique total ; TN = Azote total ; TP = Phosphore total. Une et deux étoiles correspondent à des écarts significatifs.

Au cours de l'élevage, les sédiments se sont enrichis en MO, en azote et en carbone dans les 2 bassins et de manière équivalente (fig. 4.7). Ce résultat concorde avec la littérature sur le sujet qui montre une augmentation de la MO au cours des élevages (Avnimelech & Ritvo, 2003). Schroeder (1987) trouve une accumulation de 0,7  $\text{mg.g}^{-1}$  après 4 mois sur une épaisseur de sédiment échantillonnée de 5 cm. L'accumulation azotée dans cette étude est du même ordre de grandeur. L'accumulation en COT est comprise entre 5,2 et de 6,7  $\text{mg.g}^{-1}$ . Ayud et al. (1993) mesurent une accumulation de 1  $\text{mg.g}^{-1}$  par mois sur les 5 premiers cm dans des élevages de poissons.

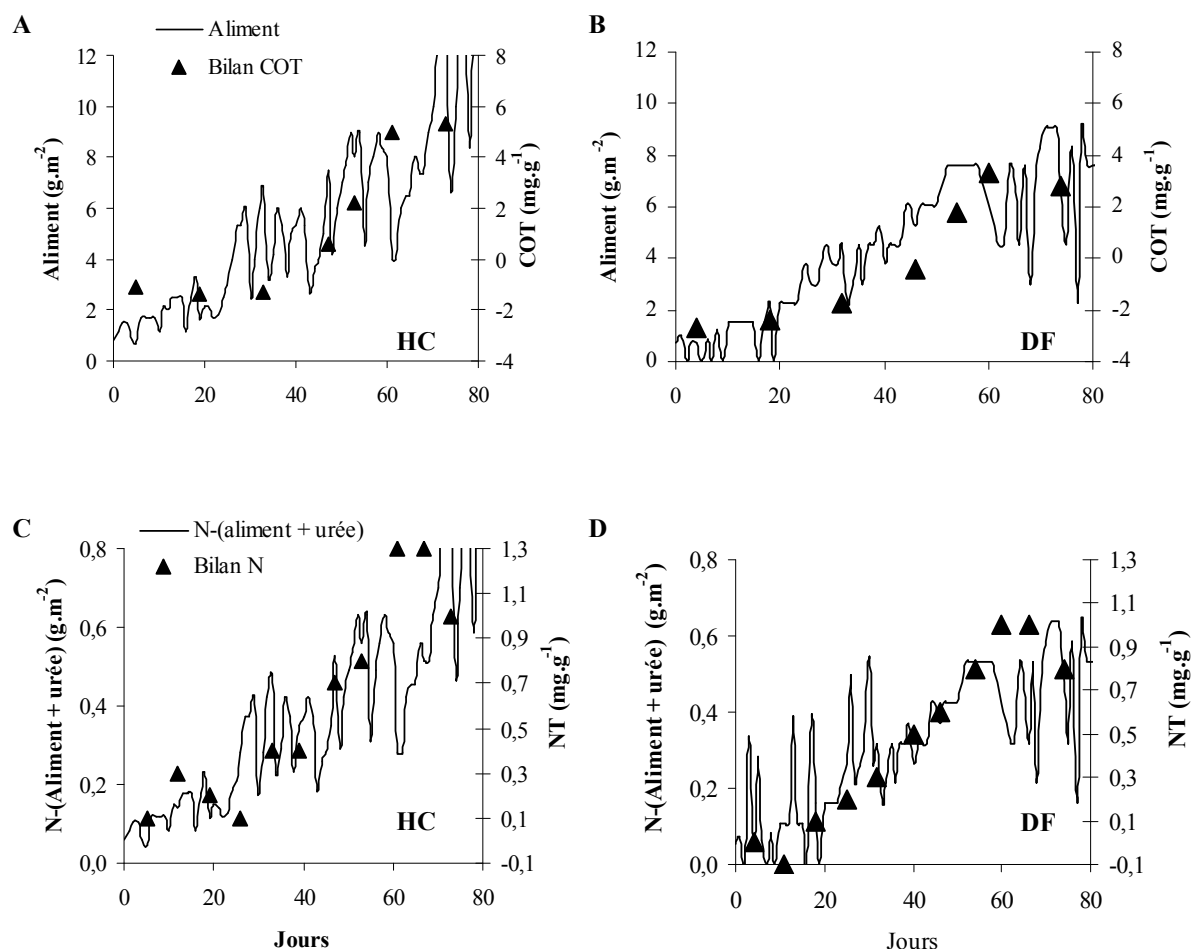


Figure 4.7 : (A) Evolution des quantités d'aliment distribuées et des concentrations moyennes (N = 6) en carbone organique total (COT) dans le sédiment soustraites à la valeur moyenne initiale (tab. 4.1). (B) Evolution des apports en azote par l'aliment et les fertilisants et des valeurs moyennes (N = 6) en azote total dans le sédiment soustraites à la valeur moyenne initiale (tab. 4.1).

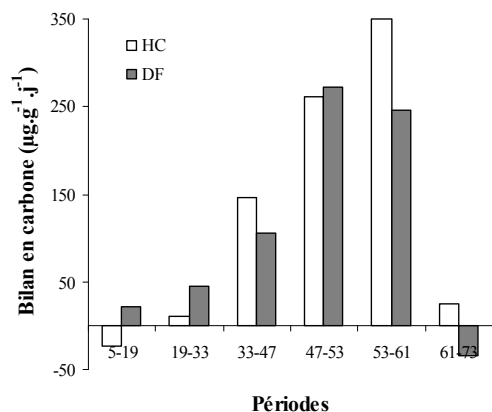


Figure 4.8 : Bilans journaliers en carbone pour différentes périodes de l'élevage.

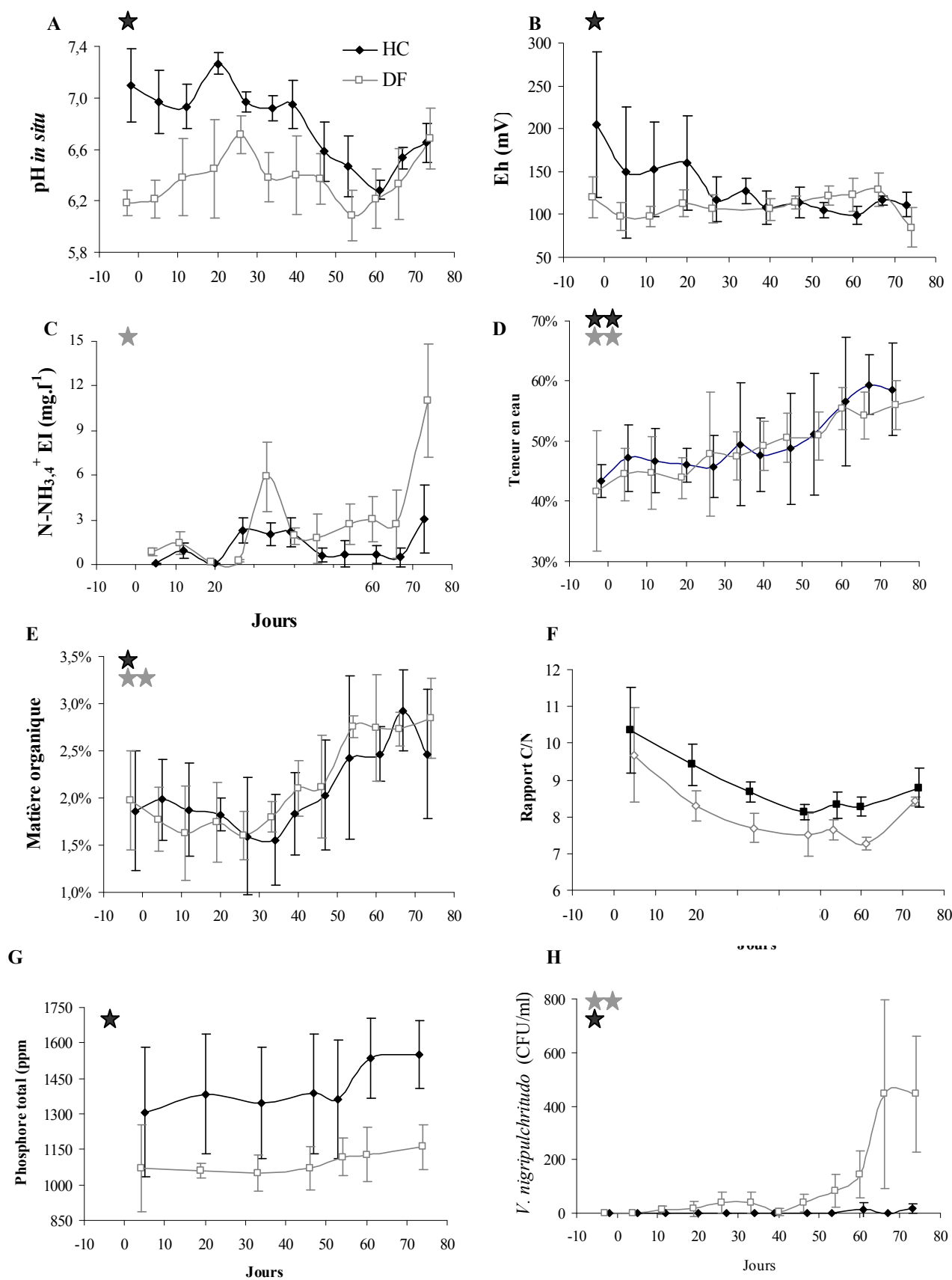


Figure 4.9 : Evolution du pH *in situ*, du potentiel d'oxydoréduction, de la concentration en  $\text{N-NH}_3^+$  dans l'eau interstitielle, de la teneur en eau, de la matière organique estimée par perte au feu, du rapport C/N et du phosphore total dans le premier centimètre de sédiment. Le graphe H présente l'évolution des concentrations de *V. nigripulchritudo* dans l'eau interstitielle de ces échantillons (d'après Goarant et al., 2006a). Une et deux étoiles correspondent respectivement à des corrélations hautement significatives ( $p < 0,01$ ) et significatives ( $p < 0,05$ ).

Les graphes 4.7A et B ne montrent pas ou peu d'enrichissement en COT à l'interface sur les 40 premiers jours d'élevage. Par la suite, il augmente proportionnellement à la quantité d'aliment distribuée. L'enrichissement en azote est bien corrélé à l'aliment quelle que soit la date d'échantillonnage (fig. 4.7C et D). En conséquence des résultats précédents, le rapport C/N diminue de J0 jusqu'à J50 puis se stabilise (fig.4.9F). Les moyennes à cette date sont de 7,3 (HC) et de 8,1 (DF). L'accumulation du carbone entre deux échantillonnages est présentée figure 4.8. Les données sont calculées sur une base journalière. Quel que soit le bassin, on note une augmentation de l'accumulation de carbone jusqu'à J61. De J61 à J73, l'accumulation est proche de 0. Cette baisse s'explique en partie par une baisse des concentrations en chlorophylle-a dans la colonne d'eau et donc des apports organiques de ce compartiment vers le sédiment (Chap. 3 – fig. 3.8A). En effet, environ 50% de la biomasse algale peut sédimenter et s'accumuler sur le fond des bassins chaque jour (Schroeder et al., 1991). Un modèle prédit qu'entre 48 et 66% de l'azote introduit dans un bassin sédimente sur le fond sous forme de phytoplancton (Lorenzen et al., 1997).

L'apport croissant en aliment dans les bassins d'élevage en favorisant l'activité microbienne explique l'augmentation de la concentration en ammoniacque dans l'eau interstitielle (Massuda & Boyd, 1994). Suplee & Cotner (1996) montrent aussi une augmentation de la demande en oxygène du sédiment, du taux de réduction des sulfates et de l'abondance des bactéries sulfato-réductrices au cours de l'élevage. Certains composés comme l'azote ammoniacal s'accumulent continuellement dans les bassins (Avnimelech & Lacher, 1979; Ram et al., 1981). Dans les systèmes intensifs, les sédiments se caractérisent même par des concentrations très élevées en ammoniacque dans l'eau interstitielle et sous forme échangeable, particulièrement dans les zones à forte sédimentation organique (Burford & Longmore, 2001). Au cours de notre suivi, les concentrations en  $\text{N-NH}_{3,4}^+$  à DF ont atteint des valeurs supérieures à  $15 \text{ mg.l}^{-1(12)}$ . Dans des élevages intensifs de crevettes en Australie, Burford & Longmore (2001) mesurent des valeurs très élevées comprises entre  $7,8 \text{ mg.l}^{-1}$  et  $125 \text{ mg.l}^{-1}$  en relation avec la zone étudiée mais sur une épaisseur de sédiment de 5 cm alors que nos mesures ont été effectuées sur le premier centimètre. En général, la concentration en  $\text{N-NH}_{3,4}^+$  augmente avec la profondeur et influence fortement sur les résultats (Blackburn et al., 1988 ; Lemonnier et al., 2004). La profondeur à laquelle l'ammoniacque est maximale dépend à la fois de la concentration en MO labile et du taux de diffusion vers l'interface eau-sédiment (Hargreaves, 1998). En réponse à ce gradient, l'ammoniacque diffuse des couches les plus profondes, réduites, vers la couche de surface oxydée ou il est oxydé en nitrates et/ou exporté vers la colonne d'eau (Hargreaves, 1998). Il est donc probable que les concentrations dans les horizons plus profonds soient plus élevées et que nos mesures ne reflètent qu'une part de

---

<sup>12</sup> Un prélèvement a été réalisé à DF à J96 pour l'étude de quelques paramètres. Il montre une concentration moyenne en TAN de  $14,7 \pm 4,7 \text{ mg.l}^{-1}$  avec un maximum de  $19 \text{ mg.l}^{-1}$ .

l'accumulation en  $\text{N-NH}_{3,4}^+$ . Pourquoi note-t-on des différences de concentration en azote ammoniacal aussi marquées entre les deux bassins alors que l'enrichissement organique des sédiments est similaire entre les deux fermes (i) dans les 5 premiers centimètres à la fin de l'assec et (ii) pendant l'élevage à l'interface (fig. 4.9C), et que la température dans les deux bassins est la même tout au long de l'élevage (Chap. 3 – fig. 3.3) ?

La transformation biochimique de l'ammoniaque en nitrite puis en nitrate dans les sédiments nécessite de l'oxygène. En son absence, l'ammoniaque a tendance à s'accumuler (Hargreaves, 1998). Une différence d'oxygénation des sédiments pourrait expliquer les fortes concentrations observées à DF et non à HC. Le potentiel d'oxydoréduction plus faible à DF qu'à HC sur toute la première partie de l'élevage est un indice qui conforterait cette hypothèse (fig. 4.9B). Dans des sédiments réduits et avec un apport en azote élevé ( $1,05 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ ), Burford & Longmore (2001) montrent que le taux de dénitrification est un processus très faible. Leurs résultats confirment qu'un apport important en azote et en carbone baisse le rendement de la dénitrification (Sloth et al., 1995 ; Heggie et al., 1999). Ce processus augmente linéairement avec un apport en azote compris entre 0 et environ  $0,3 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$  (Seitzinger, 1988 ; Burford & Longmore, 2001) puis diminue avec un apport plus élevé. Il est probable que la dénitrification soit efficace en début d'élevage puis, que ce processus disparaisse progressivement à partir de J40-50 avec l'apport croissant en aliment (fig. 47A et B). Ce processus ne peut se faire qu'en présence de nitrates ou de nitrites. L'absence de ces composés est mise en cause pour expliquer le fait qu'il n'y ait pas de dénitrification dans les sédiments soumis à un apport important en MO (Balckburn et al., 1988 ; Christensen et al., 2000 ; Burford & Longmore, 2001). La nitrification est fortement dépendante de la capacité d'oxygénation des sédiments (Rysgaard et al., 1994). Des concentrations élevées en  $\text{H}_2\text{S}$  et en  $\text{NH}_3$ , conditions fréquemment rencontrées dans des bassins d'élevage affecteraient aussi le taux de dénitrification (Joye & Hollibaugh, 1995 ; Berelson et al., 1998 cités par Burford & Longmore, 2001). Le potentiel d'oxydoréduction mesuré indiquerait une anoxie plus prononcée à DF qu'à HC et suggérerait des taux de nitrification et de dénitrification plus faibles à DF. Il expliquerait ainsi le piégeage plus important de l'ammoniaque dans les sédiments à DF comparativement à HC. La texture des sédiments, plus sableuse à HC pourrait aussi avoir une influence sur les résultats en permettant une meilleure diffusion de l'oxygène mais aussi en diminuant la capacité d'adsorption de l'ammoniaque.

La qualité physico-chimique des sédiments diffère entre les deux bassins dès le début de l'élevage et en particulier pour le pH (fig. 4.9A). Ce paramètre est un facteur clé pour de nombreux processus. Il est essentiel pour évaluer les concentrations des formes ioniques et non ioniques dans l'équilibre  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ , pour évaluer la solubilité et la disponibilité des phosphates, pour évaluer la concentration de la forme non ionique  $\text{H}_2\text{S}$  à partir de la mesure des sulfures totaux (Hussenot & Martin, 1995 ;

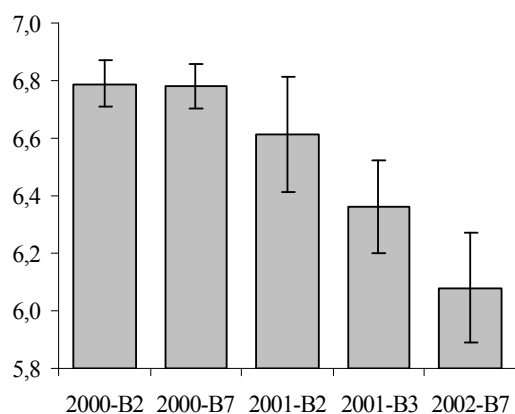


Figure 4.10 : pH *in situ* moyen (N=6) dans des bassins de la ferme DF en 2000, 2001 et 2002 après environ 50 à 60 jours d'élevage.

Ritvo et al., 2003). Un pH acide est favorable à des réactions de réduction générant des composés souvent toxiques pour les animaux :  $\text{NO}_3^-$  se transforme en  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{MnO}_4^-$  en  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  en  $\text{Fe}_2^+$  et  $\text{SO}_4^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{S}$  (Ritvo et al., 2003 ; Avnimelech & Ritvo, 2003). Le pH d'un sédiment qui ne contient pas de pyrite est corrélé au rapport entre l'acidité d'échange et la capacité d'échange cationique (CEC) (Boyd, 1995). La présence potentielle de pyrite dans les bassins devrait être recherchée comme autre cause potentielle de cette acidité. La réduction des sulfates en hydrogène

sulfuré en milieu réduit est suivie de la formation de sulfure de fer ( $\text{FeS}$ ). La formation de pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) est plus lente et peut prendre plusieurs années à une température de 20 à 30°C (FAO, 2007). On ne peut pas exclure la formation de ce composé après plusieurs années d'élevage. L'oxydation de la pyrite en période d'assèchement provoque une acidification importante des sols. Une étude plus poussée des caractéristiques initiales des sédiments (CEC, présence de pyrite, acidité d'échanges) devrait permettre de déterminer la cause de la différence de pH entre DF et HC. La fig. 4.10 présente les valeurs de pH *in situ* pour la ferme DF entre J50 et J60 sur plusieurs bassins de 2000 à 2002 (Lemonnier et al., 2003). Elle suggère une possible augmentation de l'acidité des sédiments avec les années. L'évolution du pH au cours de l'élevage s'expliquerait par l'action de deux paramètres. A HC, une analyse par régression multiple donne l'équation suivante et explique 31% de la variabilité pour le pH :  $\text{pH} = 7,08 - 22,70 \times \text{MO} + 0,00145 \times \text{Eh}$ . La MO est le facteur qui expliquerait la plus grande part de cette variabilité (fig. 4.11A). La minéralisation de la MO conduit à la formation d'acides organiques mais aussi à la production de  $\text{CO}_2$ . Le pH est corrélé au log de la pression partielle en  $\text{CO}_2$  (Ponnamperuma et al., 1966). La pente dépend du type de sol et varie de 1 pour des sols alcalins à 0,4 pour des sols riches en fer et en manganèse. Sur la ferme DF, le pH augmente significativement avec une diminution de Eh ( $p < 0,001$ ) (fig. 4.11B). L'augmentation du pH dans les sols acides est liée à la consommation de  $\text{H}^+$  par les processus de réduction, de  $\text{Mn}^{4+}$  en  $\text{Mn}^{2+}$ , de  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  et par la réduction des sulfates (Ponnamperuma, 1972). Ces processus seraient donc importants pour comprendre l'origine de la variation du pH à DF. Sur la ferme HC, c'est le taux MO qui explique la plus grande part de la variabilité pour le pH. La faible teneur en carbonates dans les sédiments ne permet pas de neutraliser cette acidité que ce soit à DF et à HC.



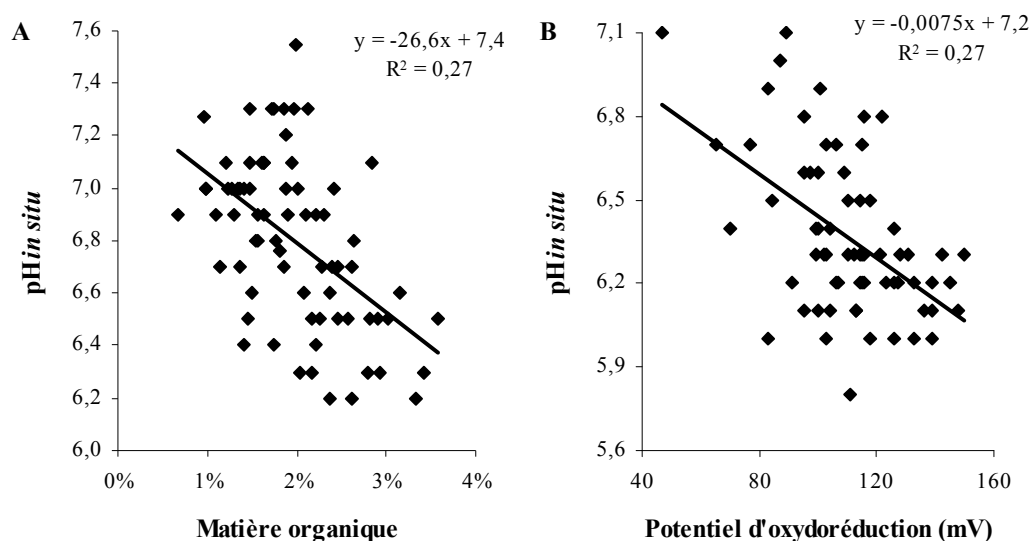


Figure 4.11 : Relations (A) entre le pH *in situ* et la matière organique à HC et (B) entre le pH *in situ* et le potentiel d'oxydoréduction à DF.

### Influence des sédiments sur la maladie

Une analyse factorielle discriminante (AFD) a été réalisée afin d'identifier les paramètres les plus susceptibles d'expliquer les mortalités. Cette analyse est normée. La série de données issue du suivi 2002-2003 a été complétée avec des données issues d'un autre suivi réalisé sur la saison 2001-2002 sur la ferme DF dans deux bassins où s'est déclarée la maladie (Lemonnier et al., 2003)<sup>13</sup>. Trois groupes ont été identifiés en fonction du nombre de mortes observées sur le bord des berges : pas de mortalité (G0), une faible mortalité (G1), et une forte mortalité (G2) (Lemonnier et al., 2006). Les mortalités prises en comptes sont celles relevées la veille et le jour même du prélèvement. Les valeurs propres du premier et du second axe représentent respectivement 92% et 8% de l'inertie de l'analyse (fig. 4.12). Les paramètres qui expliquent le mieux les différents groupes d'individus sont l'ammoniaque, la MO, le COT, l'azote total et la teneur en eau. Le centre de chaque groupe est représenté sur la figure 4.12. Les groupes avec mortalité sont distribués en fonction de la concentration en ammoniaque dans l'eau interstitielle. La mortalité est associée à une augmentation à la fois des

<sup>13</sup> Ce suivi a été réalisé dans deux bassins de 3,3 hectares de la ferme affectée par le syndrome d'été. Les bassins ont étéensemencés le même jour (J0) à une densité de 33 animaux au m<sup>2</sup> avec le même lot de post-larves. Les élevages ont été gérés par l'éleveur selon ses pratiques habituelles. Les mortalités ont été évaluées par comptage des mortes sur le bord des bassins. Six stations ont été identifiées par bassin et échantillonnées le même jour et à 6 reprises entre J54 et J104. Les méthodes de prélèvements et d'analyses étaient identiques à ce qu'elles ont été en 2002-2003 pour le suivi sur DF et HC.

concentrations en MO dans les sédiments et en azote ammoniacal. La mortalité est d'autant plus forte que la concentration en ammoniaque est élevée.

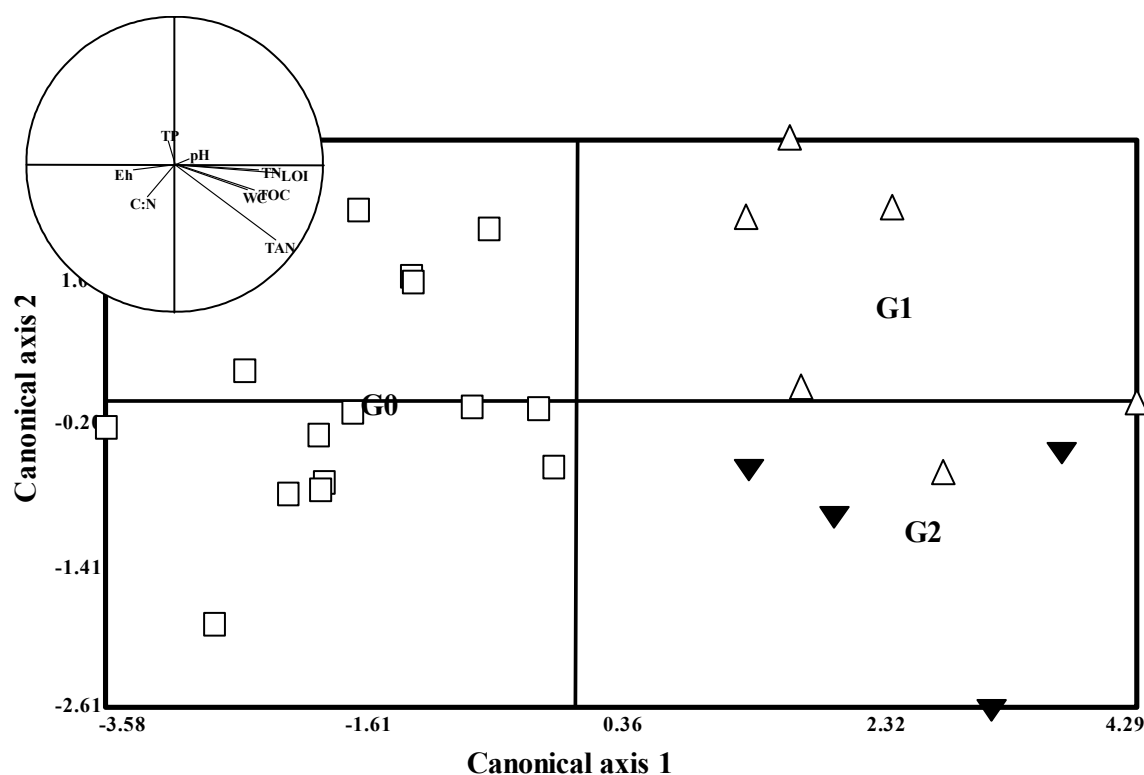


Figure 4.12 : Plan 1-2 de l'analyse factorielle discriminante (AFD) menée sur 9 variables (pH, potentiel d'oxydoréduction (Eh), carbone total C (COT), azote total N (TN), phosphore total (TP), C/N, N-NH<sub>3,4</sub><sup>+</sup> (TAN), matière organique (LOI), Teneur en eau (WC)) et sur 25 observations. Le premier axe représente 92% de la variance entre groupes et le second 8%. (G0 = pas de mortalité; G1 = faible mortalité ; G2 = forte mortalité).

### Effets potentiels des sédiments sur le stress des animaux

Les conditions environnementales du milieu peuvent être à l'origine d'un stress chez les animaux en élevage et avoir pour conséquences une baisse des défenses immunitaires et une augmentation de la susceptibilité aux pathogènes (Le Moullac & Haffner, 2000). L'effet de l'ammoniaque sur la réponse physiologique des crevettes et des décapodes en général est assez bien documenté (Wajsbrodt et al., 1990 ; Young-Lai et al., 1991 ; Chen & Cheng, 1993 ; Schmitt & Uglow, 1997 ; Racotta & Fernandez-Herrera, 2000 ; Harris et al., 2001) incluant l'espèce *Litopenaeus stylirostris* (Mugnier & Justou, 2004). Des concentrations en ammoniaque dans l'eau interstitielle élevées sont généralement mises en avant pour expliquer une baisse de croissance ou de survie chez les espèces aquacoles qui ont un comportement benthique (Hargreaves, 1998). Des crevettes maintenues proches du sédiment dans une zone riche en MO caractérisée par une teneur en eau et des concentrations en ammoniaque

relativement élevées ( $8,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) montrent une réponse physiologique de type stress (Mugnier et al., 2006). Sur la ferme touchée par la maladie, les valeurs moyennes en ammoniacque ont augmenté avec la durée de l'élevage pour atteindre  $11 \text{ mg.l}^{-1}$  après 73 jours d'élevage. Après J50, la concentration moyenne était plus élevée à DF qu'à HC. A J73, En période d'expression de l'épizootie, les minima et maxima étaient de  $6,7$  et de  $16,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . La concentration maximale analysée dans un échantillon à HC au cours de ce suivi était de  $7,7 \text{ mg.l}^{-1}$  (J73). Mais les valeurs ont rarement dépassé les 3 à  $4 \text{ mg.l}^{-1}$  sur ce bassin.

Au cours de ce même suivi, les valeurs de pH *in situ* sont faibles sur toute la première partie de l'élevage et pendant les mortalités sur la ferme déclarant la maladie. Les valeurs mesurées sont potentiellement stressantes pour les animaux en élevage. Une valeur de  $6,5$  en milieu contrôlé entraîne un stress chez les animaux alors qu'une valeur de  $7$  n'a pas d'effet (Lemonnier et al., 2004). Sur l'ensemble des échantillons récoltés dans cette campagne, le pH est inférieur à  $6,6$  dans 68% des cas à DF et seulement dans 15% des cas à HC. 89% des valeurs sont inférieures à  $6,6$  à J54, J60 et J66 sur la ferme malade. Toutes les valeurs sont inférieures à  $6,6$  autour de J50 à DF. Le pH est faible aussi sur HC mais de manière plus ponctuelle. Il est inférieur à  $6,5$  respectivement dans 50% et 100% des cas à J53 et J61.

Un milieu réduit peut affecter la production en rendant les fonds de bassin défavorables et en influant sur la diffusion des composés réduits du sédiment vers la colonne d'eau (Avnimelech & Ritvo, 2003). Ces composés sont pour la plupart toxiques pour les animaux.  $\text{Mn}^{2+}$  est par exemple toxique pour les poissons.  $\text{H}_2\text{S}$  est extrêmement toxique pour les poissons et les crevettes. Sa toxicité est inversement corrélée à la concentration en oxygène dissous. En conséquence, il augmente la sensibilité à une hypoxie (Adelman & Smith, 1970). L'hypoxie est un facteur de stress important pour la crevette *Litopenaeus stylirostris* (Mugnier & Soyez, 2005) d'autant plus si ce stress est combiné avec un autre ou s'il est répété (Mugnier & Soyez, 2005 ; Mugnier et al., en révision). La fermentation de substrats organiques conduit à la production de composés organiques réduits comme des acides organiques, des aldéhydes, des amines...et sont toxiques pour certains d'entre eux (Solbe, 1979 cité par Avnimelech & Ritvo, 2003).

En conclusion, les différents indicateurs que sont le pH, le potentiel d'oxydoréduction et la concentration en ammoniacque montrent des conditions potentiellement beaucoup plus stressantes pour les animaux sur la ferme DF que sur la ferme HC.

### Effet potentiel des sédiments sur la croissance du *Vibrio*

Depuis l'année 2000, des souches de *V. nigripulchritudo* ont été isolées sans observation de mortalités (Herlin, 2004). Ce *Vibrio* a été identifié dans la colonne d'eau, dans les sédiments et dans l'eau de pompage. Les études sur sa virulence montrent des souches hautement pathogènes, moyennement pathogènes et saprophytes (Goarant et al., 2006a ; 2006b). Ces souches cohabitent que ce soit dans les sédiments et dans la colonne d'eau des fermes. Ces résultats suggèrent que *V. nigripulchritudo* est une espèce ubiquiste comme les *Vibrio* en général. Les résultats sur le *Vibrio* concernant le suivi DF et HC ont été publiés par Goarant et al. (2006a). Le *Vibrio* a été détecté dans les sédiments de la ferme HC à faible concentration ( $< 20 \text{ CFU.ml}^{-1}$ ) et tardivement. La souche testée était non virulente. Dans la ferme DF, il a été détecté dès J11 mais à faible concentration ( $33 \text{ CFU.ml}^{-1}$ ).

La concentration de *V. nigripulchritudo* augmente avec la durée de l'élevage pour atteindre en moyenne plus de  $400 \text{ CFU.ml}^{-1}$ . Le nombre de colonies de *V. nigripulchritudo* est hautement corrélé avec le taux de MO, la concentration en COT et en TN suggérant que le taux de MO est un facteur limitant pour la croissance de cette souche (Burford et al., 1998). Certaines bactéries à l'origine de maladies jouent un rôle dans la décomposition de la MO (Moriarty, 1997) ce qui pourrait être le cas de ce *Vibrio*. Toutefois, l'augmentation de la MO est similaire dans les deux fermes suggérant que la MO à elle seule ne peut expliquer la multiplication de cette souche à l'interface.

La corrélation avec l'ammoniaque explique 49% de la variabilité des comptages de ce *Vibrio*. Ces résultats pourraient suggérer une forte compétitivité de cette espèce dans des sédiments riches en MO et dégradés. Un milieu moins concentré en ammoniaque pourrait limiter l'émergence de *V. nigripulchritudo*. A HC, il a été identifié tardivement, à faible concentration dans les sédiments mais dans les échantillons présentant les concentrations en ammoniaque les plus élevées.

Tableau 4.3 : Coefficients de Corrélation entre les variables sédimentaires et *V. nigripulchritudo*.

	<i>V. nigripulchritudo</i>
pH	-0,30**
Eh (mV)	-0,13
WC (%)	0,31**
N-NH <sub>3,4</sub> <sup>+</sup> (mg.l <sup>-1</sup> )	0,49**
MO (%)	0,36**
COT (mg.g <sup>-1</sup> )	0,45**
TN (mg.g <sup>-1</sup> )	0,36**
TP (μg.g <sup>-1</sup> )	-0,24*

## 4. Conclusions et perspectives

Cette étude ne recherchait que quelques indicateurs à l'interface eau - sédiment susceptibles de stresser les animaux et/ou d'expliquer l'émergence du pathogène. D'autres paramètres comme l'hydrogène sulfuré, la teneur en oxygène dissous sont susceptibles aussi d'être impliqués dans la réponse des animaux, du pathogène mais aussi dans le fonctionnement géochimique des sédiments.

### *Evolution et fonctionnement des sédiments*

Les activités bactériennes diffèrent en fonction de la concentration en MO et de l'état de réduction des sédiments. Les zones soumises à une activité aquacole montrent un enrichissement organique et un état de réduction des sédiments supérieurs à une zone hors impact. Les processus de réduction prédominent dans les sédiments aquacoles alors que ce sont les processus oxydatifs (nitrification) qui prédominent hors zone d'impact (Gilbert et al., 1997). Dans un bassin de crevettes, il est probable que les activités bactériennes évoluent dans le temps en relation avec l'enrichissement organique et de l'état de réduction des sédiments. Cet état permet de discriminer les sédiments de DF de ceux de HC. Des activités bactériennes différentes expliqueraient le piégeage de l'ammoniaque à DF et pas à HC. L'étude du pH suggère que les activités bactériennes qui prédominent à HC et à DF sont respectivement plutôt aérobies et plutôt de réduction (tab. 4.4).

Tableau 4.4 : Processus qui domineraient dans le premier centimètre du sédiment dans les différents suivis en 2002 et 2004.

Accepteurs d'électrons	Processus	Processus principaux dans les bassins
$O_2 \rightarrow CO_2$	Respiration en aérobie	<p>HC</p> <p>DF – bassin H</p>
$NO_3^- \rightarrow N_2$	Dénitrification	
Composés organiques	Fermentation	
$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$	Réduction	
$Mn^{4+} \rightarrow Mn^{2+}$		
$SO_4 \rightarrow S^{2-}$	Réduction des sulfates	
$CO_2 \rightarrow CH_4$	Méthanogenèse	

Quelle que soit la maladie, l'apparition des mortalités ne dépendrait pas tant de la quantité de MO accumulée à l'interface que des conditions physico-chimiques qui y règnent. La capacité de transport de l'oxygène à l'interface eau - sédiment pourrait être un paramètre clé qui expliquerait ou non l'accumulation de l'ammoniaque. Pour avancer dans l'explication des syndromes, il convient à l'avenir d'acquies de nouvelles séries de données en prenant en compte toute la colonne sédimentaire (mesures de profils), et d'approfondir le volet géochimie pour mieux comprendre le fonctionnement

des sédiments soumis à des apports importants en MO. Les mécanismes conduisant à l'accumulation d'ammoniaque et aux variations de pH devront être particulièrement étudiés en fonction des caractéristiques initiales des sédiments. A terme, les résultats devraient permettre d'optimiser la gestion des fonds de bassin par les éleveurs et rendre cette forme d'aquaculture en bassin de terre plus durable.

#### ***Conditions favorisant le stress des animaux : difficultés d'une approche pertinente***

La méthode décrite par Cochard et al. (1997), Lemonnier et al. (2004) et Mugnier et al. (2006) permet en gardant des animaux au contact du sédiment sur 24 heures d'identifier les zones perturbantes.

Toutefois, l'origine du stress est particulièrement difficile à montrer pour plusieurs raisons :

- Les paramètres à l'origine des perturbations physiologiques sont généralement fortement corrélés entre eux (covariance des paramètres, c'est souvent un effet multifactoriel). Cette complexité du phénomène nécessite une approche multifactorielle plus difficile à mettre en œuvre qu'une approche monofactorielle,
- Une forte variabilité des paramètres à la fois spatiale et temporelle. On passe d'un système « oligotrophe » à un système eutrophe voir hypereutrophe en 200 jours ;
- L'impossibilité de retrouver les mêmes conditions d'une expérimentation à l'autre,
- Les prélèvements pour l'analyse de certains paramètres comme les composés réduits peuvent être complexes à réaliser pour des expérimentations de terrain,
- Elle nécessite l'implication à la fois de physiologistes, de zootechniciens et de géochimistes et donc d'une équipe conséquente.

Toutefois, cette méthode répétée dans plusieurs bassins à différentes périodes de l'élevage permettrait de fixer des seuils de stress et d'établir des guides pour la gestion des sédiments.

#### ***Conditions environnementales favorisant la croissance des pathogènes***

Même s'il existe encore trop peu d'informations sur lesquelles réellement s'appuyer pour comprendre la multiplication de *V. nigripulchritudo* dans les sédiments, ces premières données suggèrent un développement de ce *Vibrio* dans des sédiments particulièrement réduits. Il conviendrait de poursuivre ce type d'approche multifactorielle pour multiplier l'information. Dans le cadre du syndrome 93, il n'existait jusqu'à très récemment aucune donnée qualitative et quantitative concernant *V. penaeicida*. La mise au point d'un outil diagnostique devrait permettre de palier dans les années qui viennent à cette absence d'information sur le sujet. Les premières analyses montrent la présence de ce pathogène dans les sédiments (Goarant & Mérien, 2006). Des recherches pourraient aussi être envisagées sur l'évolution des populations bactériennes en relation avec l'enrichissement organique et l'état de réduction du sédiment. Une manipulation de ces populations permettrait peut être de mieux contrôler les pathogènes dans l'environnement bassin (Moriarty, 1997).

## Conclusion générale

Les trois éléments clés du processus d'eutrophisation sont (i) l'augmentation des nutriments à (ii) l'origine de la production de matière organique particulaire et dissoute et (iii) la dégradation de cette matière organique impliquant une baisse des concentrations en oxygène (Gray et al., 2002) (fig. C1). L'épuisement extrême de l'oxygène du milieu conduit à la mort des organismes - ce qui augmente encore le taux de matière organique décomposable. La production biologique s'interrompt (Frontier, 1999). En aquaculture, on pallie aux conséquences d'une eutrophisation excessive en diluant le milieu et en rejetant une partie de la matière organique vers la mer. Dans les élevages plus intensifs, on favorise la mise en mouvement de l'eau et l'aération, ce qui a pour effet de réunir les éléments de l'écosystème destinés à interagir, de les faire coïncider dans l'espace et le temps (énergie de covariance) et d'améliorer ainsi son fonctionnement. La permanence de ce système « artificiel » est un effet de l'action de l'activité humaine et l'intervention de l'homme est donc prédominante pour son maintien (Frontier & Pichot-Viale, 1998). Dans les bassins de crevettes, avec l'apport en matière organique, le compartiment autotrophe montre une succession de deux assemblages (fig. C2). Cette phase de transition peut être considérée comme un changement d'état (Scheffer et al., 2001)<sup>14</sup> et caractérise un stress environnemental (fig. C1B). On entend par stress de l'environnement la réaction

<sup>14</sup> Ces auteurs le définissent ainsi : “Although the specific details of the reviewed state shifts differ widely, an overview shows some consistent patterns. First, the contrast among states in ecosystems is usually due to a shift in dominance among organisms with different life forms. Second, state shifts are usually triggered by obvious stochastic events such as pathogen outbreaks, fires or climatic extremes. Third, feedbacks that stabilize different states involve both biological and physical and chemical mechanisms.”

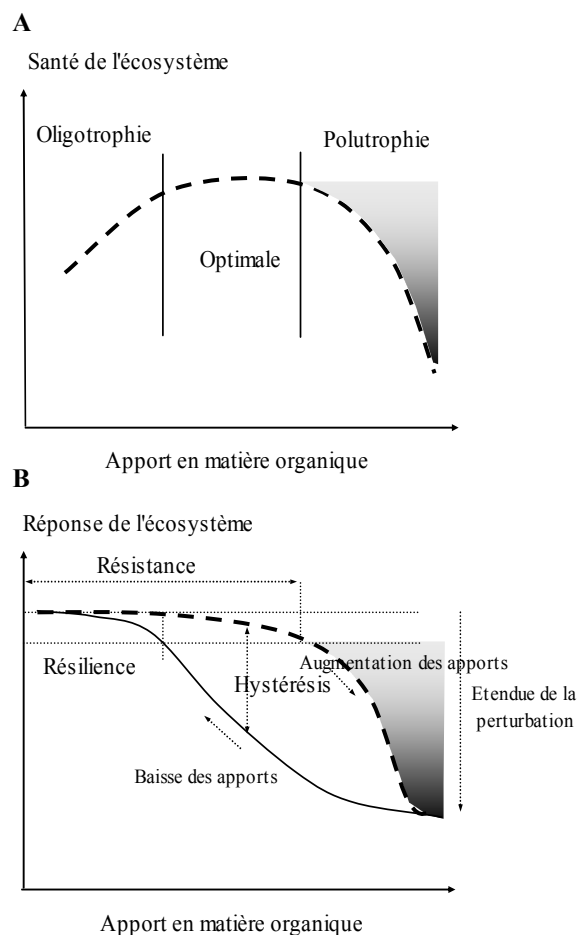


Figure C1 : (A) schéma conceptuel relatant la santé (vigueur et structure) de l'écosystème face à un enrichissement organique. (B) Réponse de la structure de l'écosystème à un apport important en matière organique (D'après Tett et al., 2007).

de l'écosystème à une perturbation extérieure (ici l'apport organique par l'éleveur) remettant en question l'organisation de l'écosystème, c'est à dire dépassant ses capacités de résistance et de régulation (Frontier & Pichod-Viale, 1998). En théorie, si un écosystème subit un stress, il en résulte la disparition d'un grand nombre d'espèces ainsi qu'un grand nombre de liaisons interactives. Un stress revient toujours à la mise à disposition brutale d'un espace ou d'une ressource nutritive soit à la destruction d'une biomasse préexistante, ce que nous observons dans nos bassins. La résistance de l'écosystème à l'apport croissant en aliment (ou à la quantité de matière présente dans le système à un instant « t ») se caractériserait par le maintien de l'assemblage picophytoplanctonique (fig. C1B). Par la suite, cet assemblage s'écroule au profit d'un assemblage nanophytoplanctonique beaucoup plus sensible aux perturbations extérieures (fig. C2). En effet, on note de fortes variations de ce compartiment en relation avec les variations du rapport N/P<sup>15</sup>.

Nous faisons l'hypothèse que l'étendue de la perturbation est à l'origine de l'émergence du syndrome d'été sur la ferme DF et non sur la ferme HC, la souche hautement pathogène étant présente sur les deux sites. Le changement d'assemblage, plus rapide, plus intense, mais aussi beaucoup plus variable distingue DF de HC. Les caractéristiques initiales des sédiments pourraient favoriser cette émergence en modifiant (i) les conditions de minéralisation et (ii) l'intensité des échanges entre le sédiment et la colonne d'eau (fig. C3). La qualité du sédiment influencerait sur le niveau de

résistance de l'écosystème et sur l'étendue de la perturbation (fig. C1B). Plus les flux sédiment - colonne d'eau seraient massifs dans un temps donné, plus l'intensité de la perturbation risque d'être importante. Ce ne serait pas tant la quantité de l'apport que le fonctionnement du couple hétérotrophe

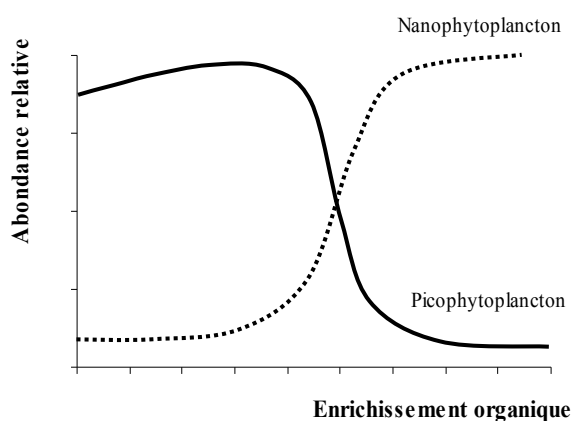


Figure C2 : Représentation schématique de l'évolution des assemblages picophytoplanctoniques et nanophytoplanctoniques soumis à un enrichissement organique du milieu (adapté d'un exemple donné par de Wit et al. (2001)).

<sup>15</sup> Dans ce milieu très productif, la capacité de contrôle des producteurs par les brouteurs en fonction du type d'assemblage n'est sans doute pas la même. Le taux de croissance des brouteurs du nanophytoplancton pourrait être insuffisant dans ce milieu à turn-over rapide. L'absence ou le peu de prédation expliquerait les fortes croissances du nanophytoplancton.



(sédiment) - autotrophe (colonne d'eau) qui engendrerait les problèmes associés à l'eutrophisation (de Wit et al., 2001).

Comparativement à HC, le bassin DF présente des caractéristiques extrêmes avec d'un côté une forte hétérotrophie et d'un autre côté une forte autotrophie. Ces fluctuations pourraient favoriser la croissance et/ou la virulence du pathogène. Elles pourraient avoir un impact direct sur les crevettes auxquels pourraient s'ajouter d'autres facteurs comme le pH, l'ammoniaque des sédiments et des facteurs de sensibilité propre à la crevette comme la mue (DAC, 2006).

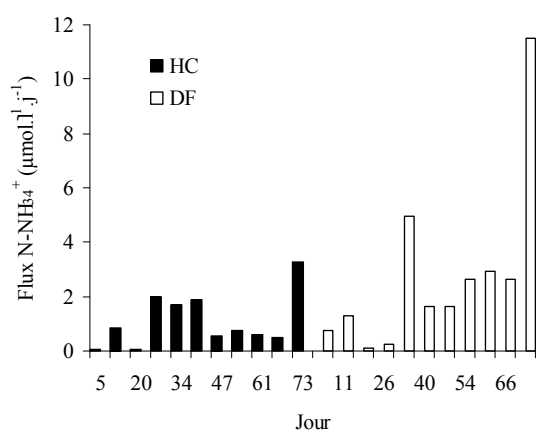


Figure C3 : Flux diffusifs calculés en prenant en compte la porosité des sédiments, la température, et les concentrations dans l'eau à 5 cm du sédiment et dans les eaux interstitielles du premier centimètre de sédiment dans le cadre du suivi DF/HC (Feuillet-Girard et al., 1997 ; Lefebvre et al., 2001). Ce calcul laisse supposer des flux diffusifs plus élevés à DF qu'à HC en 2<sup>ème</sup> partie d'élevage.

Dans le cas du syndrome 93, la résistance de l'écosystème dépendrait des conditions climatiques ou de gestion (comme nous l'avons vu dans le suivi après la mise en route de l'aération). En dessous de 24-25°C, la maladie se déclencherait parallèlement à un changement d'assemblage. L'intensité de ce changement dépendrait de l'intensité des échanges colonne d'eau-sédiment le plus souvent sous l'influence du vent. Il est probable que le déclenchement de cette pathologie soit la résultante de l'interaction de différents facteurs. La baisse de température agit directement sur la crevette et permet l'expression de la virulence de *V. penaeicida*. Les fluctuations du milieu pourraient agir sur la croissance du pathogène et fragiliser les crevettes. La mue pourrait jouer un rôle aggravant dans l'expression de la maladie (DAC, 2006). La présence d'un phytoplancton toxique n'est pas à exclure. Toutefois, à l'état actuel de nos connaissances, la densité en animaux reste le facteur de risque principal de cette maladie.

L'intensification de ces dernières années (augmentation des densités, diminution de la durée des élevages, amélioration des croissances, concentration des élevages sur la saison chaude) ne s'est pas forcément accompagnée d'un meilleur contrôle de cette « écosystème artificiel » qu'est le bassin d'élevage. Ces changements ont diminué les propriétés de stabilité et de résilience (fig. C1B) de l'écosystème bassin et sans doute favorisé l'apparition des pathologies.

La diminution des stress environnementaux est considérée comme un facteur clé par de nombreux auteurs aussi bien pour contrôler l'émergence du pathogène que pour éviter un stress chez l'animal (Flegel et al., 1995). Il s'agirait d'essayer de :

- 1- Minimiser l'étendue de la perturbation liée au changement d'assemblage planctonique par un apport organique dans l'écosystème moins agressif,
- 3- Gérer au mieux les sédiments pendant l'assec et en début d'élevage. La phase de remédiation des sédiments observée sur les 50 premiers jours d'élevage (amélioration du potentiel d'oxydoréduction, baisse des concentrations en ammoniacque - voir chapitre 1) a disparu lors des suivis sur les syndromes d'été ou d'hiver. Il est probable que ce changement ait favorisé le caractère précoce de l'eutrophisation,
- 2- Stabiliser et limiter les blooms de nanophytoplancton sur la seconde partie de l'élevage. Chaque variation importante de l'assemblage nanophytoplanctonique est potentiellement un moment critique pour l'élevage. Ces fortes variations s'accompagnent parfois de vibrioses opportunistes,
- 4- Gérer au mieux le renouvellement en eau. Il permet de moduler l'intensité des processus que ce soit dans la colonne d'eau ou dans les sédiments.

## Perspectives

### **Le couplage des données environnement - physiologie – pathologie**

Les données issues des suivis n'ont sans doute pas encore livré toutes leurs informations. Le couplage des données environnement – physiologie devrait en particulier être riche d'enseignements. La base de données « physiologie » issue des suivis compile les données biologiques (poids, aspects extérieurs), physiologiques et immunitaires des animaux, incluant le stade de mue de J0 à environ J100 (Mugnier et al., 2004). Ce couplage devrait aider à émettre des hypothèses sur l'influence du milieu sur le confort physiologique des animaux. Ce travail devrait nécessiter une réflexion sur la transformation et le codage des données.

### **Recherche sur les mécanismes de l'eutrophisation**

Les aspects théoriques présentés ci-dessus devront être validés ou invalidés par de nouveaux suivis et des approches expérimentales. Contrairement aux milieux naturels, l'apport organique dans les bassins d'élevage peut être facilement contrôlé. L'étude des mécanismes fondamentaux sur l'eutrophisation en milieu tropical pourrait s'en trouver facilitée. C'est un sujet d'actualité pour la Nouvelle-Calédonie (Jacquet, 2005) comme pour la communauté scientifique internationale (Tett et al., 2007).

#### ***Dynamique des populations phytoplanctoniques***

- Le contrôle du phytoplancton pourrait être un facteur clé pour améliorer les conditions d'élevage. Une thèse est actuellement en cours (Direction A. Herbland) sur le rôle de l'azote et du phosphore sur les communautés planctoniques des bassins aquacoles. Elle devrait ou non valider les observations réalisées dans le cadre des suivis *in situ* sur l'évolution et sur les facteurs limitants les populations phytoplanctoniques.
- Les résultats obtenus au cours des suivis suggèrent la présence potentielle d'espèces phytoplanctoniques toxiques. Elles pourraient être recherchées avec des outils appropriés.

#### ***Dynamique des populations bactériennes***

Les observations sur l'évolution des populations microbiennes dans la colonne d'eau et à l'interface devraient être poursuivies avec un effort particulier sur les populations bactériennes à l'interface eau-sédiment, dont le niveau d'hétérotrophie augmente avec le temps à l'échelle de

l'élevage. En effet, quelles sont les conséquences du changement picophytoplancton – nanophytoplancton sur le compartiment hétérotrophe ? Sung et al (2001) montrent une baisse de la diversité de la communauté vibrionacée après 60 jours d'élevage suggérant un stress environnemental. Existe-t-il un lien entre le stress environnemental associé au changement picophytoplancton – nanophytoplancton et une évolution de la communauté vibrionacée ? La structure des communautés bactériennes a fait l'objet de très peu de travaux en milieu tropical (Jacquet, 2005) et en aquaculture sur lesquels s'appuyer. Le contrôle top-down de la boucle microbienne par les protistes n'a pu être étudié dans nos suivis<sup>16</sup>. L'abondance bactérienne est en effet généralement associée aux prédateurs dans les écosystèmes eutrophisés. Cet aspect devra être abordé pour comprendre le fonctionnement du système.

### ***Caractérisation du couplage biogéochimique entre sédiments et colonne d'eau en milieu dystrophe***

(Sujet de thèse proposé par J. Knoery (IFREMER) en 2007)

Cette étude relève de deux objectifs généraux dont le premier est de contribuer à la connaissance des interactions biogéochimiques entre le sédiment et la colonne d'eau en milieu dystrophe, et en particulier le rôle de l'interface eau-sédiment bioturbée. La reminéralisation de la matière organique (MO) est le moteur de ces interactions qui englobent la dynamique sédimentaire de l'oxygène et des autres espèces chimiques sensibles aux changements redox (S, N, P, Fe, Mn, ...). Le second objectif est d'utiliser les connaissances acquises expérimentalement pour rationaliser les « bonnes pratiques » d'élevage, pour ce qui est de l'influence du sédiment des bassins sur la qualité du milieu de vie des crevettes, la colonne d'eau.

### ***La matière organique dans l'écosystème bassin***

La colonne d'eau des bassins d'élevage est riche en matière organique dissoute et d'autant plus que le milieu est peu renouvelé (Lemonnier et al., 2006). Dans le cadre du syndrome d'été, les valeurs étaient plus élevées sur la ferme développant l'épizootie. La présence de TEP (transparent exopolymeric particles) en concentration élevée comparativement à l'eau du lagon a été révélée récemment lors d'un suivi sur 4 bassins d'élevage dans le cadre du programme Zonéco (Mari, 2005). Ces particules sont constituées de polysaccharides acides excrétés par le phytoplancton et les bactéries sous forme de colloïdes dissous. Les TEP représentent une voie importante de la transformation de la MOD en COP (colle biologique à l'origine de la neige marine surtout pendant les blooms phytoplanctoniques) (Beauvais et al., 2006). La composition

---

<sup>16</sup> Les échantillons ont été prélevés mais se sont évaporés pendant le voyage Nouméa - métropole.

de la matière organique qu'elle soit dissoute et particulaire, son rôle éventuel dans l'écosystème bassin restent une énigme. Une recherche exploratoire pourrait être menée pour mieux caractériser cette matière et son rôle dans le fonctionnement du bassin d'autant plus qu'elle pourrait avoir une influence sur la viscosité de l'eau et sur la capacité respiratoire des animaux.

## **Recherche d'un indicateur d'eutrophisation**

Le bassin d'élevage est soumis à une eutrophisation croissante. Dans un double but de surveillance et d'accompagnement de la gestion de ces élevages, il est indispensable de mettre en œuvre un outil opérationnel pour suivre cette évolution. Pour diagnostiquer l'état d'eutrophisation de leurs eaux côtières, plusieurs pays européens prennent en compte les concentrations en oxygène dissous et proposent des seuils très souvent en relation avec l'effet d'hypoxie sur la faune. Au dessus du premier niveau (5 mg.l<sup>-1</sup>) il n'y a pas ou peu d'effets négatifs constatés, entre 2 et 5 on observe généralement des réactions d'évitement de la faune et en dessous de 2 mg.l<sup>-1</sup> des mortalités plus ou moins massives sont rapportées. L'étude des données d'oxygène a permis dans le cadre du syndrome d'été de comparer le niveau d'eutrophisation des bassins. Toutefois, si les données d'oxygène restent intéressantes pour comparer des milieux très différents, elles sont relativement peu précises pour comparer différents niveaux d'eutrophisation. Il est par exemple très difficile pour des bilans d'oxygène supérieures à 8 mg.l<sup>-1</sup> (valeurs du soir soustraites aux valeurs du matin) de définir le niveau d'eutrophisation des bassins. La construction d'un outil opérationnel « eutrophisation » pourrait s'appuyer sur la méthodologie développée pour la recherche d'indicateurs des milieux lagunaires méditerranéens (IFREMER, CREOCEAN, Université de Montpellier II, 2000).

## **Vers un modèle déterministe**

Dans le cadre du programme Zonéco<sup>17</sup>, une étude a été conduite afin d'établir l'influence des pratiques culturales sur la dynamique des nutriments azotés et phosphorés dans et en sortie d'un bassin d'élevage de crevettes (Thomas, 2005). Un modèle mathématique a été construit (fig. P1) et calibré sur la base de données historiques. Le modèle se subdivise en différents compartiments entre lesquels existent des flux entrant et sortant. Les différentes équations du modèle sont programmées sur le logiciel STELLA® et les simulations sont faites avec un pas de temps journalier. Une campagne d'échantillonnage réalisée en 2004-2005 devrait permettre de valider le caractère prédictif du modèle.

---

<sup>17</sup> [http://www.zoneco.nc/fra/index\\_fra.htm](http://www.zoneco.nc/fra/index_fra.htm)

Le premier test de validation du modèle sur des données anciennes a mis en évidence la difficulté de simuler l'ensemble du cycle d'élevage. La comparaison entre les simulations et les mesures pour la croissance phytoplanctonique est correcte au début des élevages. La simulation sous estime par la suite les valeurs. Il apparaît que le mauvais ajustement des simulations intervient au moment d'une inversion, lorsque la limitation par le phosphore devient prédominante dans le milieu d'élevage. Le changement des communautés picophytoplanctonique à nanophytoplanctonique pourrait expliquer ces difficultés de simulation. Un ajustement du modèle de croissance phytoplanctonique semble nécessaire pour améliorer cet outil. Il devrait à terme permettre de prédire, en fonction de la gestion, l'évolution de l'écosystème bassin.

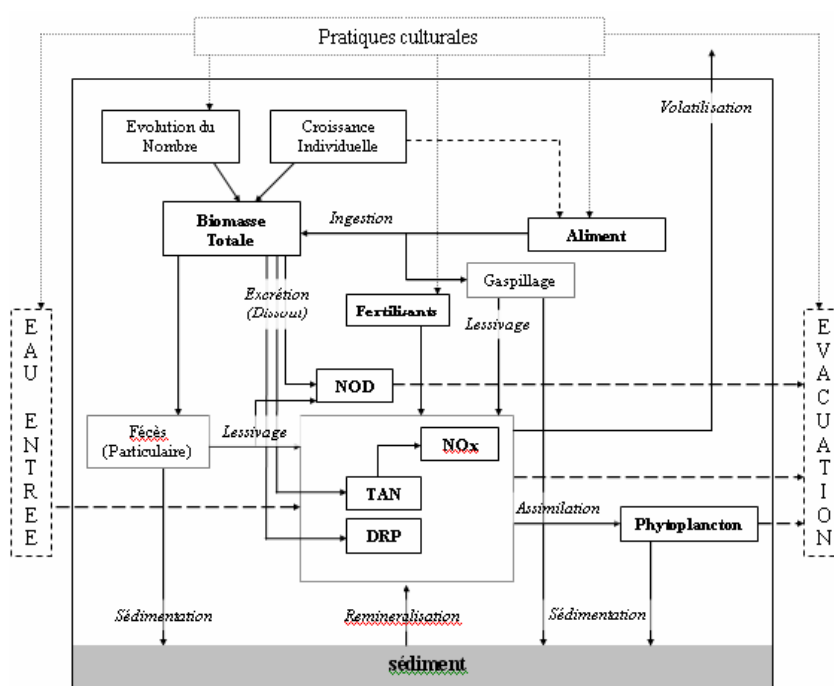


Fig. P1 : Modèle conceptuel des flux de nutriments dans un bassin d'élevage de crevettes. TAN : Azote ammoniacal total, NOx : nitrite/nitrate, NOD : azote organique dissous, DRP : Phosphore réactif dissous (d'après Thomas, 2005).

## Références bibliographiques

- A -

- Abraham T.J., Manley. (1995) Luminous and non-luminous *Vibrio harveyi* associated with shell disease in cultured *Penaeus indicus*. *Journal of aquaculture in Tropics* 10 : 273-276
- Acosta-Nassar M.V., Morell J.M., Corredor J.E. (1994) The nitrogen budget of a tropical semi-intensive freshwater fish culture pond. *Journal of the World Aquaculture Society* 25 : 261-269
- Adelman I.R., Smith Jr. L.L. (1970) Effect of hydrogen sulfide on northern pike eggs and sac fry. *Trans. Am. Fish. Soc.* 99 : 501-509
- Agawin N.S.R., Agustí S. (1997) Abundance, frequency of dividing cells and growth rates *Synechococcus sp.* (Cyanobacteria) in the stratified Northwest Mediterranean Sea. *Journal of Plankton Research* 19 : 1599-1615
- Agawin N.S.R., Duarte C.M., Agustí S. (1998) Growth and abundance of *Synechococcus sp.* in a Mediterranean bay: seasonality and relationship with temperature. *Marine Ecology Progress Series* 170 : 45-53
- Agawin N.S.R., Duarte C.M., Agustí S. (2000) Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnology and Oceanography*, 45(3) : 591-600
- Alapide-Tendencia E.V., Dureza L.A. (1997) Isolation of *Vibrio* spp. from *Penaeus monodon*-Fabricius with red disease syndrome. *Aquaculture* 154 : 107-114
- Allan G.L., Maguire G.B. (1991) Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 94 : 27-37
- Allan G.L., Maguire G.B. (1993) The effect of water exchange on production of *Metapenaeus macleayi* and water quality in experimental pools. *Journal of the World Aquaculture Society* 24(3) : 321-328
- Alonso-Rodríguez R., Páez-osuna F. (2003) Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219 : 317-336
- Aminot A., Kérouel R. (2004) Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ifremer, Ed. : 336 p.
- Andersen T., Schartau A.K.L., Paasche E. (1991) Quantifying external and internal nitrogen and phosphorus pools, as well as nitrogen and phosphorus supplied through remineralization, in coastal marine plankton by means of a dilution technique. *Marine Ecology Progress Series* 69 : 67-80
- Anderson I.G., Shamsudin M.N., Shariff M., Nash G. (1988) Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultured in Malaysian brackishwater ponds. *Asian Fisheries Sciences* 2(1) : 93-108
- Anonyme (1994) Nouvelle-Calédonie Audit Technique du 20/10/1994 : 45 p.
- Aquacop (1985) A new approach in intensive nursery rearing of penaeids. *In: Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimp Iloilo City, Philippines, 4-7 December, Taki Y., Primavera J.H., Llobrera J.A., ed., 1984. SEAFDEC, Iloilo, Philippines : 169 p.*
- Avnimelech Y., Lacher M. (1979) A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. *Bamigdeh* 31(1) : 3-8
- Avnimelech Y., Zohar G. (1986) The effect of local anaerobic conditions on growth retardation in aquaculture systems. *Aquaculture* 58 : 167-174
- Avnimelech Y., Ritvo G., Meijer L.E., Kochba M. (2001) Water content, organic carbon and dry bulk density in flooded sediments. *Aquacultural Engineering* 25 : 25-33
- Avnimelech Y., Ritvo G. (2003) Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture* 220 : 549-567
- Ayud M., Boyd C.E., Teichert-Coddington D.R. (1993) Effects of urea application, aeration, and drying on total carbon concentrations in pond bottom soils. *The Progressive Fish-Culturist* 55 : 210-213
- Ayud M., Boyd C. E. (1994) Comparison of different methods for measuring organic carbon concentrations in pond bottom soils. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(2) : 322-325

- B -

- Balebona M.C., Andreu M.J., Bordas M.A., Zorrilla I., Morínigo M.A., Borrego J.J. (1998) Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* for cultured gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.). Applied and environmental Microbiology 64 : 4269-4275
- Baret R. (2005) Réalisation et test d'un système d'acquisition des facteurs environnementaux. Application à l'expérimentation en crevetticulture. Rapport de 2<sup>de</sup> Année de l'IUT Mesures physiques de l'Université de Bordeaux I : 41p.
- Barnouin J., Fayet J.C., Levieux D., Chacornac J.P., Paccard P. (1988) Ecopathologie et utilisation des marqueurs biochimiques en épidémiologie globale ; application aux facteurs de risque de l'agression hépatique chez la vache. XXXII<sup>e</sup> International Symposium on Animal Husbandry, Milan
- Baron J., Liston J. (1970) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and related haemolytic *Vibrio* in marine environments of Washington State. Applied Microbiology 20 : 179-186
- Bartoli F., Burtin G., Herbillon A.J. (1991) Disaggregation and clay dispersion of Oxisols: Na resin, a recommended methodology. Geoderma 49 : 301-317
- Beauvais S., Pedrotti M.L., Iversen K., Marrasé C. (2006) Effects of turbulence on TEP dynamics under contrasting nutrient conditions: implications for aggregation and sedimentation processes. Marine Ecology Progress Series 323 : 47-57
- Bell T.A., Lightner D.V. (1987) An outline of penaeid shrimp culture methods including infectious disease problems and priority drug treatments. Veterinary and Human Toxicology 29(1) : 37-43
- Benschneider K., Robinson R.J. (1952) A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. Journal of Marine Research 11 : 86-87
- Berelson W.M., Heggie D., Longmore A., Kilgore T., Nicholson G., Skyring G. (1998) Benthic nutrient recycling in Port Phillip Bay, Australia. Estuarine, Coastal and Shelf Science 46 : 917-934
- Berthe F. (1995) Rapport sur les pathologies des pénéides en Nouvelle-Calédonie – Etat et perspectives du programme d'assistance à la filière crevette de Nouvelle-calédonie par la recherche en pathologie. Rapport d'activité du 01-09-1994 au 31-03-1995 par Franck Berthe du GIE-RA, Nouvelle-Calédonie
- Beveridge M.C.M., Phillips M.J., Clarke R.M. (1991) A quantitative and qualitative assessment of wastes from aquatic animal production. In: Advances in World Aquaculture, volume 3. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA : 506-533
- Billen G., Servais P. (1989) Modélisation des processus de dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique. In: Microorganismes dans les écosystèmes océaniques, Bianchi M., Marty D., Bertrand J.-C., Caumette P., Gauthier M. *et al.*, ed., Masson, Paris : 219-245
- Binh C.T., Phillips M.J., Demaine H. (1997) Integrated shrimp-mangrove farming systems in the Mekong delta of Vietnam. Aquaculture Research 28 : 599-610
- Björkman K., Thomson-Bulldis A.L., Karl D.M. (2000) Bioavailability of inorganic and organic phosphorus compounds to natural assemblages of microorganisms in Hawaiian coastal waters. Marine Ecology Progress Series 111 : 265-273
- Blackburn T.H., Henriksen R.J. (1983) Nitrogen cycling in different types of sediment from Danish waters. Limnology and Oceanography, 28 : 477-493
- Blackburn T.H., Lund B.A., Krom M.D. (1988) C- and N-mineralization in the sediments of earthen marine fishponds. Marine Ecology Progress Series 44 : 221-227
- Blackburn T.H., Blackburn N.D. (1993) Coupling of cycles and global significance of sediment diagenesis. Marine Geology 113 : 101-110
- Bonnet S. (1995) Manuel d'analyses chimiques dans l'eau de mer. Notes Techniques Sciences de la Mer – Océanographie N°2, Orstom ed., Nouméa : 45 p.
- Boyd C.E., Romaine R.P., Johnston E. (1978) Predicting early morning dissolved oxygen concentrations in channel catfish ponds. Transactions of American Fisheries Society 107: 484-492



- Boyd C.E. (1990) Water quality in ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University ed., Alabama, USA : 482 p.
- Boyd C.E. (1992) Shrimp pond bottom soil and sediment management. *In: Proceedings special session on shrimp farming*, J. Wyban ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge : 166-181
- Boyd C.E., Munsiri P., Hajek B. F. (1994) Composition of sediment from intensive shrimp ponds in Thailand. *World Aquaculture* 25(3) : 53-55
- Boyd C.E. (1995a) Bottom soils, sediment and pond aquaculture. Chapman and Hall ed., New York, USA : 348 p.
- Boyd C.E. (1995b) Chemistry and efficacy of amendments used to treat water and soil quality imbalances in shrimp ponds. *In: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*, Wyban, ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge : 183-198
- Boyd C.E., Tucker C.S. (1995) Sustainability of channel catfish farming. *World Aquaculture* 26(3) : 45-53.
- Boyd C.E., Tucker C.S. (1998) Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts, USA : 720 p.
- Boyd C.E., Clay J. (2002) "Evaluation of Belize aquaculture LTD: A superintensive shrimp aquaculture system" Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium : 17 p.
- Boyd C.E., Corpron K., Bernard E., Pengsang P. (2006) Estimates of Bottom Soil and Effluent Load of Phosphorus at a Semi-intensive Marine Shrimp Farm. *Journal of the World Aquaculture Society* 37 : 41-47
- Briggs M.R.P., Funge-Smith S.J., 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp pond in Thailand. *Aquaculture and Fisheries Management* 25 : 789-811
- Brock J.A., Gose R., Lightner D.V., Hasson K.W. (1995) An overview on Taura syndrome, an important disease of farmed *Penaeus vannamei*. *In: Swimming Through Troubled Water*, Browdy C.L., Hopkins J.S., ed., Proceedings of the special session on shrimp farming, Aquaculture '95. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA : 84-94
- Brock, J.A. (2000) A report of the activities, observations, findings and recommendations for a site visit (April 17-21, 2000) to evaluate the mortality problem at Sea Farm, New Caledonia". Expert report financed by the Groupement des Fermes Aquacoles, ed., New Caledonia : 16 p.
- Browdy C.L., Bratvold D., Stokes A.D., McIntosh R.P. (2001) Perspectives on the application of closed culture systems. *In : The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*, Browdy C.L., Jory D.E., ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA : 20-34
- Bujan S., Grenz C., Fischez R., Douillet P. (2000) Evolution saisonnière du cycle biogéochimique dans le lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie. Application d'un modèle compartimental. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, 323 : 225-233
- Burford M.A. (1997) Phytoplankton dynamics in shrimp ponds. *Aquaculture Research* 28 : 351-360
- Burford M.A., Peterson E.L., Baiano J.C.F., Preston N.P. (1998) Bacteria in shrimp pond sediments: their role in mineralizing nutrients and some suggested sampling strategies. *Aquaculture Research* 29 : 843-849
- Burford M.A., Glibert P.M. (1999) Short-term nitrogen uptake and regeneration in early and late growth phase shrimp ponds. *Aquaculture research* 30 : 215-227
- Burford M.A. (2000) Fate and transformation of dietary N in penaeid prawn aquaculture ponds. PhD thesis. The University of Queensland, Brisbane, Australia
- Burford M.A., Longmore A.R. (2001) High ammonium production from sediments in hypereutrophic shrimp ponds. *Marine Ecology Progress Series* 224 : 187-195
- Burford M.A., Jackson C.J., Preston N.P. (2001) Reducing nitrogen waste from shrimp farming: an integrated approach. *In: The new wave. Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*, Browdy C.L., Jory D.E., ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA : 35-43

- Burford M.A., Williams K.C. (2001) The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture* 198 : 79-93
- Burford M.A., Costanzo S.D., Dennison W.C., Jackson C.J., Jones A.B., McKinnon A.D., Preston N.P., Trott L.A. (2003) A synthesis of dominant ecological processes in intensive shrimp ponds and adjacent coastal environments in NE Australia. *Marine Pollution Bulletin* 46 : 1456-1469
- Burford M.A., Thompson P.J., McIntosh R.P., Bauman R.H., Pearson D.C. (2004) The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232 : 525-537

- C -

- Calavas D., Ducrot C., Sabatier P., Faye B. (1996) Interaction entre observateur et observé en écopathologie. Réflexions méthodologiques et épistémologiques. *Nature Sciences Sociétés* 4 : 341-350
- Caldéron J., Bayot B., Sonnenholzner S., Cornejo M.H., Melana J., Panchana F. (2000) El mundo Acuícola 6, Fundacion CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador : 13-17
- Caraco N.F., Cole J.J., Likens G.E. (1989) Evidence for sulfate-controlled phosphorus release from sediments of aquatic systems. *Nature* 341 : 316-318
- Caumette P. (1992) Bacterial communities in coastal lagoons - An overview. *Vie et milieu* 42 : 11-24
- Chamberlain G.W. (1988) Rethinking shrimp pond management. *Coastal Aquaculture* 5(2) : 1-20
- Charpentier C. (2001) La pénéculture en Nouvelle-Calédonie : Techniques d'élevage et expérimentations en cours dans le cadre d'une étude sur l'évolution des sols de bassins de grossissement d'une exploitation de type familiale. Rapport de stage du Diplôme Universitaire de Technicien Spécialisé en Aquaculture : CREUFOP-Université de Montpellier II : 51 p.
- Chen J.-C., Cheng S.-Y. (1993). Hemolymph PCO<sub>2</sub>, hemocyanin, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquatic Toxicology* 27 : 281-292
- Chim L., Bouveret R., Lemaire P., Martin J.L.M. (2003) Tolerance of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*, Stimpson 1894, to environmental stress: interindividual variability and selection potential for stress-resistant individuals. *Aquaculture Research* 34 : 629-632
- Chim L., Galois R., Martin J.L.M., Lemaire P., Wabete N., Massabuau J.C., Cuzon G. (2004) Influence de la température sur quelques aspects de la nutrition de *Litopenaeus stylirostris*. Conséquences sur la formulation et la distribution des aliments en fonction des saisons d'élevage. In : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques, vol. 38 : 99-105
- Chowdhury M.A.R., Yamaha H., Miyoshi S.I., Shinoda S. (1990) Ecology and seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic environments of a temperate region. *FEMS Microbiology Ecology* 74(1): 1-10
- Christensen P.B., Rysgaard S., Sloth N.P., Dalsgaard T., Schwærter S. (2000) Sediment mineralization, nutrient fluxes, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in an estuarine fjord with sea cage trout farms. *Aquatic Microbial Ecology* 21 : 73-84
- Cifuentes L.A., Sharp J.H., Fogel M.L. (1988) Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnology and Oceanography* 33 : 1102-1115
- Cloern J.E. (2001) Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210 : 223-253
- Cochard J.-C., Lemonnier H., Bernard E., Boglio E., Goarant C. (1997) Expériences 97 sur l'influence des sédiments du bassin d'élevage sur la physiologie de *Penaeus stylirostris*. Rapport des travaux menés du 22 février au 7 mars 1997 à la Station Saint-Vincent et du 7 au 20 juin au Centre Océanologique du Pacifique. Rapport de mission DRV/AQ/TAH 97, Tahiti : 42 p.
- Cole J.J., Findlay S., Pace M.L. (1988) Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: across-system overview. *Marine Ecology Progress Series* 43 : 1-10

- Collectif DAC (2005) Etat des connaissances sur le « syndrome d'été » affectant les élevages de *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Travail de synthèse du DAC réalisé à la demande de la Province Sud et remis aux Provinces Nord et Sud et ainsi qu'au gouvernement de la Nouvelle-Calédonie et au Groupement des Fermes Aquacoles. IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie : 29 p.
- Collectif DAC (2006) Défi Santé Stylirostris 2002-2006. Rapport Final DESANS. Coordination Scientifique par A. Herbland, IFREMER/Département Aquaculture en Calédonie ed., Nouvelle-Calédonie : 199 p.
- Collwell R.R. (1983) *Vibrios in the environment*. John Wiley and sons Ed., New York
- Costa R., Mermoud I., Koblavi S., Morlet B., Haffner P., Berthe F., Legroumellec M., Grimont P. (1998) Isolation and characterization of bacteria associated with *Penaeus stylirostris* disease (Syndrome 93) in New Caledonia. *Aquaculture* 164 : 297-309
- Courties C., Boeuf G. (2004) Mesure en cytométrie en flux du picoplancton autotrophe et hétérotrophe : un outil de contrôle de la qualité des eaux de fermes d'élevage de crevettes. *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. IFREMER Ed., Actes Colloques, 38 : 147-150
- Courties C. (2005) Suivi du phytoplancton et des bactéries hétérotrophes analysés en cytométrie en flux lors des syndromes d'été et d'hiver en Nouvelle-Calédonie. Rapport de contrat Universitaire IFREMER/CNRS N°753448/00 - 2004 7 7523600 : 14 p.
- Courties C., Bourrain M., Chrétiennot-Dinet M-J., Escande M-L. (2005) Diversité du peuplement planctonique d'un bassin d'élevage de la ferme de St Vincent, résultats préliminaires obtenus par l'analyse des ARNr 16S et 18S et par observation en microscopie électronique. Résumé du séminaire Ecosystèmes et crevetticulture en Nouvelle-Calédonie, Nouméa 22-24 juin 2005, IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie
- Daniels H.V., Boyd C.E. (1989) Chemical budgets for polyethylene-lined, brackishwater ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 20(2) : 53-60
- de la Peña L.D., Tamaki T., Momoyama K., Nakai T., Muroga K. (1993) Characteristics of the causative bacterium of vibriosis in the kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 115 : 1-12

**- D -**

- de Wit R., Stal L.J., Lomstein B.aa., Van Gemerden H., Viaroli P., Ceccherelli V.U., Rodriguez-Valera F., Bartoli M., Giordani G., Azzoni R., Schaub B., Welsh D.T., Donnelly A., Cifuentes A., Anton J., Finster K., Nielsen L.B., Underlien Pedersen A-E., Turi Neubauer A., Colangelo M., Heijs S.K. (2001) ROBUST: The ROLE of BUffering capacities in STabilising coastal lagoon ecosystems. *Continental Shelf Research* 21 : 2021-2041
- Delgado P.C., Avnimelech Y., McNeil R., Bratvold D., Browdy C.L., Sandifer P. (2003) Physical, chemical and biological characteristics of distinctive regions in paddlewheel aerated ponds. *Aquaculture* 217 : 235-248
- Della Patrona L. (2006) Analyse des résultats d'une ferme de crevettes sur 20 années : Sodacal 1984-2004. « Elasticité » de la capacité de production d'un écosystème bassin crevetticole. IFREMER/DAC/RST 2005-02, Nouvelle-Calédonie : 50 p.
- Diab S., Shilo M. (1986) Transformation of nitrogen in sediments of fish ponds in Israël. *Bamidgheh* 38(3) : 67-88
- Diana J.S., Szyper J.P., Batterson T.R., Boyd C.E., Piedrahita R.H. (1997). Water quality in ponds. *In* : Dynamics of pond aquaculture, Egna H.S., Boyd C.E., Ed., New York : 53-69
- Dixon H., Dorado J. (1997) Managing Taura syndrome in Belize: a case study. *Aquaculture Magazine* : 30-42
- Dortch Q., Whitlege T.E. (1992) Does nitrogen or silicon limit phytoplankton production in the Mississippi River plums and nearby regions. *Continental Self Research* 22 : 1293-1309
- Drakare S., Blomqvist P., Bergström A-K., Jansson M. (2003) Relationships between picophytoplankton and environmental variables in lakes along a gradient of water colour and nutrient content. *Freshwater Biology* 48 : 729-740

Ducklow H.W., Carlson C.A. (1992) Oceanic bacterial production. *In: Advances in Microbial Ecology*, Marshall K.C., Ed., New York: Plenum Press : 113–181

- F -

FAO (2003) Service des ressources des eaux intérieures et de l'aquaculture. Etat de l'aquaculture dans le monde. Circulaire sur les pêches. N°. 886, Rev.2, FAO, ed., Rome : 114 p.

FAO (2005) Programme des Statistiques relatives aux pêches. Disponible sur : <http://www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=16000>

FAO (2007) Problems for aquaculture development in acid sulphate soils. Disponible sur : <http://www.fao.org/DOCREP/005/R5676E/R5676E03.htm>

Faye B. (1986) Facteurs de l'environnement et pathologie non-parasitaire de la vache laitière. Bulletin technique - Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Theix, INRA, ed., 64 : 9-20

Faye B., Lefevre P.C., Lancelot R., Quirin R. (1994) Ecopathologie animale, méthodologie, applications en milieu tropical. INRA, CIRAD-EMVT. INRA ed. : 115 p.

Faye B., Barnouin J. (1996) L'écopathologie ou comment aborder la pathologie multifactorielle. Disponible sur : <http://www.inra.fr/productions-animales/hs1996/bf96h.htm>

Fegan D.F., Clifford III H.C. (2001) Health management for viral diseases in shrimp farms. *In: Browdy C.L., Jory D.E., ed., The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States : 168-192*

Feuillet-Girard M., Gouleau D., Blanchard G., Joassard L. (1997) Nutrients fluxes on intertidal mudflat in Marennes-Oléron Bay, and influence of the immersion period. *Aquatic Living Resources* 10 : 49-58

Flegel T.W., Fagan D.F., Sriurairatana S. (1995) Environmental control of infectious diseases in Thailand. *In: diseases in Asian Aquaculture II, Shariff M., Arthur J.R., Subasinghe R.P. (ed), Fish health section, Asian Fisheries Society, Manila : 65-79*

Frontier S., Pichot-Viale D. (1998) Ecosystèmes : structure - Fonctionnement - Evolution. DUNOD ed. (2ème), Paris : 447 p.

Frontier S. (1999) Les écosystèmes. Que Sais-je ? Presse Universitaire de France ed., Paris : 127 p.

Funge-Smith S.J., Briggs M.R.P. (1998) Nutrients budgets in intensive shrimp ponds: implication for sustainability. *Aquaculture* 164 : 117-133

- G -

Garza J.R., Hasson K.W., Poulos B.T., Redman R.M., White B.L., Lightner D.V. (1997) Demonstration of infectious taura syndrome virus in the feces of sea gulls collected during an epizootic in Texas. *Journal of Aquatic Animal Health* 9 : 156-159

Gilbert F., Souchu P., Bianchi M., Bonin P. (1997) Influence of shellfish farming activities on nitrification, nitrate reduction to ammonium and denitrification at the water-sediment interface of the Thau lagoon, France. *Marine Ecology Progress Series* 151 : 143-153

Global Aquaculture Alliance (GAA) (1999a) Shrimp white spot virus confirmed in Central America. *GAA Newsletter, Vol. 2, Issue 2*

Global Aquaculture Alliance (GAA) (1999b) Shrimp white spot disease in Latin America - an update. *GAA Newsletter, Vol. 2, Issue 3*

Goarant C., Mermoud I., Costa R., Haffner P., Boglio E. (1996) Study of episodes of mortality observed in reared *Penaeus stylirostris* since 1993 in New Caledonia: I – Biotechnical impact and gross signs in diseased prawns. Poster présenté au congrès annuel de la World Aquaculture Society, 29 janvier au 2 février 1996, Bangkok. *Book of abstracts : 139-140*

- Goarant C., Merien F., Berthe F., Mermoud I., Perolat P. (1999) Arbitrarily Primed PCR to type *Vibrio spp* pathogenic for shrimp. *Applied and environmental microbiology* 65(3) : 1145-1151
- Goarant C. (2000) Epidémiologie et facteurs de virulence des bactéries du genre *Vibrio* responsables des mortalités de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Perspectives de lutte. Thèse de troisième cycle de l'Université de Polynésie Française, Papeete : 174 p.
- Goarant, C., Herlin J., Brizard R., Marteau A-L., Martin C., Martin, B. (2000) Toxic factors of *Vibrio* strains pathogenic to shrimp. *Diseases of Aquatic organisms* 40 : 101-107
- Goarant C., Herlin J., Ansquer D., Domalain D., Imbert F., Marteau A-L. (2003) Bases des connaissances sur l'épidémiologie de *Vibrio nigripulchritudo*, agent étiologique du « syndrome d'été » chez les crevettes d'élevage de Nouvelle-Calédonie. Rapport IFREMER DRV/RST/RA/LAC 2002-03, Nouméa : 23 p.
- Goarant C., Herlin J., Ansquer D., Brizard R., Marteau A.L. (2004) *Vibrio penaeicida* and Syndrome 93 in New Caledonian prawn farming: review and perspectives. *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer Éd., Actes de Colloques 38 : 203-209
- Goarant C., Ansquer D., Herlin J., Domalain D., Imbert F., De Decker S. (2006a) "Summer Syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. *Aquaculture* 253 : 105-113
- Goarant C., Reynaud Y., Ansquer D., de Decker S., Saulnier D. le Roux F. (2006b) Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Systematic and Applied Microbiology* 29 : 570-580
- Goarant C., Merien F. (2006) Quantification of *Vibrio penaeicida*, the etiological agent of Syndrome 93 in New Caledonian shrimp, by real-time PCR using SYBR Green I chemistry. *Journal of Microbiological Methods* 67 : 27-35
- Goxe D. (2001) Compte rendu des expérimentations menées à Sea Farm pour la période allant du 1 juillet 2000 au 30 juin 2001. Groupement des Fermes Aquacoles, ed., Nouméa : 12 p.
- Goyard E., Arnaud S., Vonau V., Bishoff V., Mouchel O., Pham D., Wyban J., Boudry P., AQUACOP (2003) Residual genetic variability in domesticated populations of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) of New Caledonia, French Polynesia and Hawaii and some management recommendations. *Aquatic Living Resources* 16 : 501-508
- Gräslund S. Bengtsson B.E. (2001) Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment - a review. *The Science of the Total Environment* 280 : 93-131
- Gray J.S., Shiu-sun Wu R., Ying Or Y. (2002) Effects of hypoxia and organic enrichment on the coastal marine environment. *Marine Ecology Progress Series* 238 : 249-279.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2001) Rapport d'activité 2000. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa : 19 p.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2002) Rapport d'activité 2001. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa : 26 p.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2003) Rapport d'activité 2002. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa: 19 p.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2004) Rapport d'activité 2003. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa : 24 p.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2005) Rapport d'activité 2004. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa : 24 p.
- Groupement des Fermes Aquacoles (2006) Rapport d'activité 2005. Groupement des fermes aquacoles, ed., Nouvelle-Calédonie, Nouméa : 29 p.
- Gunnars A., Blomqvist S. (1997) Phosphate exchange across the sediment-water interface when shifting from anoxic to oxic conditions – an experimental comparison of freshwater and brackish-marine systems. *Biochemochemistry* 37 : 203-226

- H -

- Harache Y., Herbland A. (2004) Le programme DESANS (Défi Santé *Stylirostris*) : une démarche comparable au Défi MOREST appliquée à la filière crevette Calédonienne. *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer ed., Actes de Colloques 38 : 31-38
- Hargreaves J.A., Tucker C.S. (1996) Evidence for control of water quality in channel catfish *Ictalurus punctatus* ponds by phytoplankton biomass and sediment oxygenation. *Journal of the World Aquaculture Society* 27(1) : 21-29
- Hargreaves J.A. (1998) Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166: 181-212
- Harris R.R., Coley S., Collins S., McCabe R. (2001) Ammonia uptake and its effects on ionoregulation in the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana). *Journal of Comparative Physiology B* 171 : 681-693
- Harvell C.D., Mitchell C.E., Ward J.R., Altizer S., Dobson A.P., Ostfeld R.S., Samuel M.D. (2002) Climate warming and disease risk for terrestrial and marine biota. *Science* 296: 2158-2162
- Hasson K.W., Lightner D.V., Mohney L.L., Redman R.M., Poulos B.T., Mari J., Bonami J.R. (1999) The geographic distribution of Taura Syndrome Virus (TSV) in the Americas: determination by histology and *in situ* hybridization using TSV-specific cDNA probes. *Aquaculture* 171 : 13-26
- Hedges J.I., Stern J.H. (1984) Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology and Oceanography* 29 : 657-663
- Heggie D.T., Skyring G.W., Orchardo J., Longmore A.R., Nicholson G.J., Berelson W.M. (1999) Denitrification and denitrifying efficiencies in sediments of Port Phillip Bay: direct determinations of biogenic N<sub>2</sub> and N-metabolite fluxes with implications for water quality. *Marine Freshwater Resources* 50 : 589-596
- Herbland A. (2007) La « culture » du phytoplancton dans les bassins aquacoles à fond de terre. Aspects théoriques et applications pratiques. IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie : 20 p.
- Herlin J. (1999) Prawn farming in New Caledonia. *In*: Rosenberry B., ed., *World shrimp farming 1999*. Shrimp news international 13
- Herlin J. (2004) Répartition Géographique de *Vibrio nigripulchritudo* dans les fermes de crevettes de Nouvelle-Calédonie. Résultats des enquêtes estivales 2003 et 2004. F. BIO. DRV/RA/LAC/04-01 : 6 p.
- Herlin J. (2005) Compte-rendu de la mortalité enregistrée sur le bassin Kensemencé le 15/11/2004 à 24/m<sup>2</sup>. IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie : 2 p.
- Herlin J. (2006) Compte-rendu des analyses réalisées à l'occasion de la mortalité enregistrée sur le bassin Kensemencé le 17/10/2005 à 21,9/m<sup>2</sup>. IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie : 2 p.
- Holm-Hansen O., Lorenzen C.J., Holmes P.E., Strickland J.D.H. (1965) Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du conseil international pour l'exploitation de la mer* 30 : 3-15
- Holmström K., Gräslund S., Wahström A., Pongshompoo S., Bengtsson B.E., Kautsky N. (2003) Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science and Technology* 38 : 255-266
- Hopkins J.S., Sandifer P.A., Browdy C.L. (1995) A review of water management regimes which abate the environmental impacts of shrimp farming. *In*: *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*, Browdy C.L., Hopkins J.S ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA : 157-166
- Hopkins J.S., Hamilton II R.D., Sandifer P.A., Browdy C.L., Stokes A.D., 1993. Effects of water exchange rate on production water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 24(3) : 304-320
- Hopkins J.S., Sandifer P.A., Browdy C.L. (1994) Sludge management in intensive pond culture of shrimp: effect of management regime on water quality, sludge characteristic, nitrogen extinction, and shrimp production. *Aquacultural Engineering* 13 : 11-30
- Horowitz A., Horowitz S. (2001) Disease control in shrimp aquaculture from a microbial ecology perspective. *In*: *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*, Aquaculture 2001.

- Browdy C.L., Jory D.E., ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Baton Rouge, Louisiana, United States : 1999-218
- Howarth R., Anderson D., Cloern J., Elfring C., Hopkinson C.S., Lapointe B., Malone T., Marcus N., McGlathery K., Sharpley A., Walker D. (2000) Nutrient pollution of coastal rivers, bays and seas. *Issues in Ecology* 7 : 17 p.
- Huei-Meei S., I-Chiu L., Young-Men C. (1993) Mass mortality of prawn caused by *Alexandrium tamarense* blooming in a culture pond in southern Taiwan. *In: Toxic phytoplankton blooms in the sea*, Smayda T.J., Shimizu Y., ed., Elsevier, New York : 329-333
- Hussenot J., Feuillet-Girard M. (1988) Crevettes et sédiment. Recherche de paramètres indicateurs de la qualité des fonds. *Aquarevue* 17 : 25-28
- Hussenot J., Martin J.L.M. (1995) Assessment of the quality of pond sediment in aquaculture using simple rapid techniques. *Aquaculture International* 3 : 123-133
- I - J - k -**
- IFREMER, CREOCEAN, Université de Montpellier II (2000) Mise à jour d'indicateurs de qualité des milieux lagunaires. Marché public n°989051. Rapport final, IFREMER/DEL ed., Sète : 423 p.
- Inouye K., Miwa S., Oseko N., Nakano H., Kimura T., Momoyama K., Hiraoka M. (1994) Mass mortality of cultured kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993: Electron microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathology* 29 : 149-158
- Islam M.d.S., Sarker M.d.J., Yamamoto T., Wahab M.d.A., Tanaka M. (2004) Water and sediment quality, partial mass budget and effluent N loading in coastal brackishwater shrimp farms in Bangladesh. *Marine Pollution Bulletin* 48 : 471-485
- Jackson C.J., Preston N., Thompson P.J., Burford M.A. (2003) Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* 218 : 397-411
- Jacquet S., Havskum H., Frede Thingstad T., Vulot D. (2002) Effects of inorganic and organic nutrient addition on a coastal microbial community (Isefjord, Denmark). *Marine Ecology Progress Series* 228 : 3-14
- Jacquet S. (2005) Impact des apports en nutriments sur le réseau trophique planctonique du lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Paris VI : 229 p.
- Jacquet S., Delesalle B., Torrétton J-P., Blanchot J. (2006) Responses of the phytoplankton communities to increased anthropogenic influences (Southwestern Lagoon, New Caledonia). *Marine Ecology Progress Series* 320 : 65-78
- Jayasree L., Janakiram P., Madhavi R. (2000) Characteristics, pathogenicity and antibiotic sensitivity of bacterial isolates from white spot diseased shrimps. *Asian Fisheries Science* 13 : 327-334
- Jayasree L., Janakiram P., Madhavi R. (2006) Characterization of *Vibrio spp.* Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of the World Aquaculture Society* 37 : 523-532
- Jénicek M., Cléroux R. (1982) *Epidémiologie : principe, techniques, applications*. Edisem et Maloine, St Hyacinthe, ed., Paris, 400 p.
- Jensen H.S., Mortensen P.B., Andersen F.Ø, Rasmussen E., Jensen A. (1995) Phosphorus cycling in a coastal marine sediment, Aarhus bay, Denmark. *Limnology and Oceanography*, 40(5) : 908-917
- Jorgensen B.B. (1977) The sulphur cycle of coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark), *Limnology and Oceanography*, 22 : 814-832
- Jørgensen S.E. (1997) *Integration of ecosystem theories: a pattern*, second edition. Kluwer, Dordrecht : 388 p.
- Joye S.B., Hollibaugh J.T. (1995) Influence of sulphide inhibition on nitrification on nitrogen regeneration in sediments. *Science* 270 : 623-625
- Justic D., Rabalais N.N., Turner R.E. (1995) Stoichiometric nutrient balance and origin of coastal eutrophication. *Marine Pollution Bulletin* 30 : 41-46

- Karunasagar I., Pai R., Malathi G.R., Karunasagar I. (1994) Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture* 128 : 203-209
- Kautsky N., Rönnbäck P., Tedengren M., Troell M. (2000) Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191 : 145-161
- Koroleff F. (1976) Determination of ammonia. *In* methods in seawater analysis, Grasshof K., ed., Verlag chemie, Weinheim, RFA : 126-133
- Kotaki Y., Koike K., Yoshida M., Thuoc .V., Thi N., Huyen M.T., Hoi C., Fukuyo Y., Kodama M. (2000) Domoic acid production in *Nitzschia sp. (Baciliariophyceae)* isolated from a shrimp-culture pond in Do Son, Vietnam. *Journal of Phycology* 36 : 1057-1060
- Krichman D., Mitchell R. (1982) Contribution of particle-bound bacteria to microheterotrophic activity in five coastal ponds and two marshes. *Applied and Environmental Microbiology* 43: 200-209

- L -

- La Rosa T., Mirto S., Mazzola A., Danovaro R. (2001). Differential responses of benthic microbes and meiofauna to fish-farm disturbance in coastal sediments. *Environmental Pollution* 112 : 427-434
- La Rosa T., Mirto S., Mazzola A., Luciana Maugeri T. (2004) Benthic microbial indicators of fish farm impact in a coastal area of the Tyrrhenian Sea. *Aquaculture* 230 : 153-167
- Laboratoire d'Aquaculture de Nouvelle-Calédonie (2000) Rapport d'activité 1999. IFREMER/LAC, ed., Nouvelle-Calédonie : 53 p.
- Lamoureux J., Tiersch T.R., Hall S.G. (2006) Pond heat and temperature regulation (PHATR): Modeling temperature and energy balances in earthen outdoor aquaculture ponds. *Aquacultural Engineering* 34 : 103-116
- Lamoureux J., Tiersch T.R., Hall S.G. (2006) Sensitivity analysis of the pond heating and temperature regulation (PHATR) model. *Aquacultural Engineering* 34 : 117-130
- Latasa M., Landry M.R., Schlüter L., Bidigare R.R. (1997) Pigment-specific growth and grazing rates of phytoplankton in the central equatorial Pacific. *Limnology and Oceanography* 42(2) : 289-298
- Lavilla-Pitogo C.R., de la Peña, L.D. (1998) Bacterial disease in shrimp (*Penaeus monodon*) culture in Philippines. *Fish Pathology* 33 : 405-411
- Lavilla-Pitogo C.R., Leaño E.M., Paner M.G. (1998) Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. *Aquaculture* 164 : 337-349
- Le Moullac G., Le Groumellec M., Ansquer D., Froissard S., Levy P., Aquacop (1997) Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology* 7 : 227-234
- Le Moullac G., Soyez C., Saulnier D., Ansquer D., Avarre J.C., Levy P. (1998) Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish and Shellfish Immunology* 8 : 621-629
- Le Moullac G., Haffner P. (2000) Environmental factors affecting immune responses in crustacea. *Aquaculture* 191 : 121-131
- Le T.X., Munekage Y. (2004) Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam. *Marine Pollution Bulletin* 49 : 922-929
- Lebaron P., Parthuisot N., Catala P. (1998) Comparison of blue nucleic acid dyes for flow cytometric enumeration of bacteria in aquatic systems. *Applied environmental microbiology* 64 : 1725-1730
- Lee K.K., Yu S.R., Chen F.R., Yang T.I., Liu P.C. (1996) Virulence of *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Current Microbiology* 32 : 229-231
- Lefebvre S., Bacher C., Meuret A., Hussenot J. (2001) Modeling approach of nitrogen and phosphorus exchanges at the sediment-water interface of an intensive fishpond system. *Aquaculture* 195 : 279-297



- Lefevre J., Lemonnier H., Goarant C., Blanchot J. (2004) Evolution des paramètres physico-chimiques et biologiques de bassins d'élevage de crevettes soumis à deux régimes de renouvellement en eau avant et pendant des mortalités de type « syndrome 93 ». *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. IFREMER, ed., Actes de Colloques 38 : 158-166
- Legendre P., Legendre L. (1998) Numerical Ecology. Second English edition. Elsevier Science B.V., Amsterdam : 616-632
- Legendre L., Courties C., Trousselier M. (2001) Flow cytometry in Oceanography 1989-1999, Environmental challenges and research trends. *Cytometry* 44 : 164-172
- Lemaire P., Bernard E., Martinez-Paz J.A., Chim L. (2002) Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209 : 307-317
- Lemonnier H. (1997) Effet de l'intensification des élevages de crevettes *Penaeus stylirostris* sur la production de déchets en période estivale. Rapport Scientifique et Technique 97.03 de la Station d'Aquaculture de Saint-Vincent. IFREMER/SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 52 p.
- Lemonnier H., Brizard R., Herlin J., Mugnier C. (2001) Sediment accumulation in earthen shrimp ponds: Research in New Caledonia shows effects of wind, aeration, stocking density. *Advocate* 4 : 78-79
- Lemonnier H., Brizard R., Mugnier C., Herlin J. (2002) Evolution of shrimp production and pond bottom in a semi-intensive system. *World Aquaculture* 33(2) : 30-33
- Lemonnier H., Charpentier C., Domalain D., Herlin J., Lambert C., Marteau A-L., Maillez J-R., Mugnier C., Patrois J., Pita E., Saléry L. (2002) Suivis de la qualité du milieu d'élevage dans le cadre du syndrome d'été. DRV/RST/RA/LAC 2002-04, IFREMER/LAC, ed., Nouvelle-Calédonie : 28 p.
- Lemonnier H., Domalain, D., Goarant, C., Herlin, J., Marteau A.L., Mugnier, C., Soulard B. (2003) Suivis de la qualité du milieu d'élevage dans le cadre du syndrome d'été. DRV/RST/RA/LAC 2003-01, IFREMER/LAC, ed., Nouvelle-Calédonie : 28 p.
- Lemonnier H., Martin J.L.M., Brizard R., Herlin J. (2003) Effect of water exchange rate on waste production in semi intensive shrimp ponds during the cold season in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society* 34(1) : 40-49
- Lemonnier H., personnel du LAC (2004) Environnement bassin et vibriose dans des élevages de crevettes de saison chaude en Nouvelle-Calédonie : résultats préliminaires du programme Désans. *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. IFREMER, ed., Actes de Colloques 38 : 180-186
- Lemonnier H., Brizard R., Legrand A. (2004) Influence des pratiques zootechniques de la crevette (*Litopenaeus stylirostris*) et de l'âge des bassins sur la qualité des sédiments. *In* : styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques 38 : 180-186
- Lemonnier H., Bernard E., Boglio E., Goarant C., Cochard J-C. (2004) Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect. *Aquaculture* 240 : 297-312
- Lemonnier H., Faninoz S. (2006) Effects of water exchange rate on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia. *Aquaculture Research*, 37(9) : 938-948
- Lemonnier H., Herbland A., Salery L., Soulard B. (2006) "Summer syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* grow out ponds in New Caledonia: zootechnical and environmental factors. *Aquaculture* 261 : 1039-1047
- Lightner D.V. (1993) Diseases of cultured shrimp. *In*: Mc Vey, J.P., ed., Handbook of mariculture: Crustacean Aquaculture, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL 1: 393-486
- Lightner D.V., Redman R.M. (1998) Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164 : 201-220
- Lightner D.V. (2003) Exclusion of specific pathogens for disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program. *In*: biosecurity in aquaculture production systems: Exclusion of pathogens and other undesirables. Lee C-S. , O'Bryen P.J., ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana : 81-116

- Lignot J.H., Spanings-Pierrot C., Charmantier G. (2000) Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191 : 209-245
- Lorenzen K., Struve J., Cowan V.J. (1997) Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. *Aquaculture Research* 28 : 493-507
- Lowther A. (2005) Highlights from the FAO database on aquaculture production statistics. *FAO Aquaculture Newsletter* 3 : 23-24
- Lyle-Fritch L.P., Romero-Beltrán E., Páez-Osuna F. (2006) A survey on use of the chemical and biological products for shrimp farming in Sinaloa (NW Mexico). *Aquacultural Engineering* 35 : 135-146

- M -

- Mackin J.E., Aller R.C. (1984) Ammonium adsorption in marine sediment. *Limnology and Oceanography*, 29(2) : 250-257
- Madec F., Tillon J.P. (1988) Ecopathologie et facteurs de risque en médecine vétérinaire. Analyse rétrospective (1977-1987) de l'expérience acquise en élevage porcin intensif. *Recueil de médecine Vétérinaire* 164 (8-9) : 607-616
- Mari X. (2005) Dynamique des Particules Exopolymériques Transparentes (TEP) dans des élevages de crevettes. Résumé du séminaire Ecosystème et Crevetticulture qui s'est tenu à Nouméa le 24 juin 2005, IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Calédonie
- Marie D., Brussaard C., Partensky F., Vaultot D (1999) Flow cytometric analysis of phytoplankton, bacteria and viruses. *In: Current Protocols in Cytometry*. John Wiley & Sons, Inc. 11.11.1-11.11.15
- Marie D., Partensky F. (2006) Analyse de micro-organismes marins. *In: La cytométrie en flux*, Ronot X., Grunwald D., Mayol J.-F., Boutonnat J., ed., Lavoisier, Paris : 211-233
- Martin A.G., Masson J.C., Soulard B. (2004) Les bases de données en aquaculture : exemples, intérêts et contraintes, système proposé pour la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. *In: Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie*. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques, 38 : 246-254
- Martin J.L.M., Veran Y., Pham D. (1992) La crevette *Penaeus stylirostris* : relation entre l'intensification de l'élevage et la production de déchets (aspects quantitatifs et qualitatifs). Rapport IFREMER/RA, CREMA L'Houmeau ed., La Rochelle : 70 p.
- Martin J.L.M., Veran, Y. Guelorget O., Pham D. (1998) Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output; their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture* 164 : 135-149
- Marty D., Bertrand J.-C., Caumette P. (1989) Les métabolismes bactériens dans les systèmes sédimentaires marins. *In : Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques*, Bianchi, D. Marty, J.-C. Bertrand, P. Caumette, M. Gauthier et al., ed., Masson, Paris : 101-151
- Marty D., Esnault G., Caumette P., Ranaivoson-Rambeloarisoa E., Bertrand J.-C. (1990) Dénitrification, sulfato-réduction et méthanogénèse dans les sédiments superficiels d'un étang saumâtre méditerranéen. *Oceanologica Acta* 13 : 199-210
- Massuda K., Boyd C.E. (1994a) Phosphorus fractions in soil and water of aquaculture ponds built on clayey ultisols at Auburn, Alabama. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(3) : 379-395
- Massuda K., Boyd C.E. (1994b) Chemistry of sediment pore water in aquaculture ponds built on clayey ultisols at Auburn, Alabama. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(3) : 397-404
- Mazé A., Cerf M., Le Bail M., Papy F. (2004) Entre mémoire et preuve : le rôle de l'écrit dans les exploitations agricoles. *Nature Sciences Sociétés* 12 : 18-29
- McCarty M.D., Hedges J.I., Benner R. (1998) Major bacterial contribution to marine dissolve organic nitrogen. *Science* 281 : 231-234

- Ménesguen A., Aminot, A., Belin, C., Chapelle, A., Guillaud, J-F., Joanny, M., Lefebvre, A., Merceron, A., Piriou, J-Y., Souchu, P. (2001) L'eutrophisation des eaux marines et saumâtres en Europe, en particulier en France. Rapport IFREMER DEL/EC/01-02. IFREMER/DEL, ed., Brest : 64 p.
- Mermoud I., Costa R., Goarant C., Haffner P. (1996) Study of mortalities observed in reared *Penaeus stylirostris* since 1993 in New Caledonia: first general description. *In*: Book of Abstracts, Second International Conference on the Culture of Penaeid Prawns and shrimps, 14-17 may 1996. Aquaculture department SEAFDEC, ed., Iloilo, Philippines : 45
- Mermoud I., Costa R., Ferré O., Goarant C., Haffner P. (1998) "Syndrome 93" in New Caledonian outdoor rearing ponds of *Penaeus stylirostris*: history and description of three major outbreaks. *Aquaculture* 164 : 323-335
- Meyer-reil L.A., Dawson R., Liebezeit G., Tiedge H. (1978) Fluctuations and interactions of bacterial activity in sandy beach sediments and overlying waters. *Marine Biology* 48 : 161-171
- Mohney L.L., Lightner D.V., Bell T.A. (1994) An epizootic of vibriosis in Ecuadorian Pond-Reared *Penaeus vannamei* Boone (Crustacea: Decapoda). *Journal of the World Aquaculture Society* 25 : 116-125
- Moore L.R., Goericke R., Chisholm S.W. (1995) Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties. *Marine Ecology Progress Series* 116 : 259-275
- Morales J., Rodriguez J.M., Gertrudix L.J., Berrocal D. (1991) Evolution of some chemical characteristics of bottom soils from commercial shrimp ponds. I. Metals. *In* : *Aquaculture and the Environment*, Pauw N. de, Joyce J., ed., European Aquaculture Society Special publication N° 14, Bredene, Belgium : 221-222
- Moriarty D.J.W. (1997) The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 151 : 333-349
- Moriarty D.J.W. (1998) Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164 : 351-358
- Moutin T., Thingstad T.F., Van Wambeke F., Marie D., Slawyk G., Raimbault P., Claustre H. (2002) Does competition for nanomolar phosphate supply explain the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnology and Oceanography* 47(5) : 1562-1567
- Mugnier C., Justou C. (2004) Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 309: 35-46
- Mugnier C., Justou C., Personnel du LAC (2004) La crevette et le syndrome d'été en Nouvelle-Calédonie : quelles réponses physiologiques et immunitaires ? Résultats préliminaires du programme Désans. *In* : *Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie*. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. IFREMER, ed. , Actes de Colloques, 38 : 85-82
- Mugnier C., Soyez C. (2005) Response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to temperature decrease and hypoxia in relation to molt stage. *Aquaculture* 244 : 315-322
- Mugnier C., Lemonnier H., Legrand A. (2006) Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short term confinement on a pond bottom. *Aquaculture*: 253 : 703-711
- Mugnier C., Zipper E., Goarant C., Lemonnier H. (2007) Combined effect of exposure to ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage. *Aquaculture* : en révision
- Mullin J.B., Riley J.P. (1955) The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Analytica chimica acta* 12: 162-170
- Munsiri P., Boyd C.E., Hajek B.F. (1995) Physical and chemical characteristics of bottom soil profiles in ponds at Auburn, Alabama, USA and a proposed system for describing pond soil horizons. *Journal of the World Aquaculture Society* 26(4) : 346-376
- Murphy J., Riley J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural seawater. *Analytica chimica acta* 27 : 31-36

- N - O - P - Q -

- Nash G., Nithimathachoke C., Tungmandi C., Arkarjamorn A., Prathanpipat P., Ruamthaveesub P. (1992) Vibriosis and its control in pond reared *Penaeus monodon* in Thailand. *In* : Diseases in Asian Aquaculture I, Fish health section, Shariff M., Subasinghe R.P., Arthur J.R., ed., Asian Fisheries Society, Manila, Philippines : 143-155
- Naylor R.L., Goldburg R.J., Mooney H., Beveridge M.C.M., Clay J.W., Folke C., Kautsky N., Primavera J., Williams M. (1998) Nature's subsidies to shrimp and salmon farming. *Science* 282 : 883-884
- Naylor R.L., Goldburg R.J., Primavera J.H., Kautsky N., Beveridge M.C.M., Clay J., Folke C., Lubchenco J., Mooney H., Troell M. (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405 : 1017-1024
- Nelson D.W., Sommers L.E. (1982) Total carbon, organic carbon, and organic matter. *In* : Methods of soil analysis. Chemical and microbial Properties, Part 2. Page A.L., Miller R.H., Keeney D.R., ed., American Society of Agronomy, Madison, USA : 539-579
- Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (2006) Regional review on aquaculture development. 3. Asia and the Pacific – 2005. FAO Fisheries Circular. No. 1017/3. Rome, FAO : 97 p.
- Ogura N. (1975) Further studies on decomposition of dissolved organic matter in coastal sea water. *Marine Biology* 31 : 101-111
- Oliveira Cesar de J.R., Zhao B., Malecha S., Ako H., Yang J. (2007) Morphological and biochemical changes in the muscle of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* during the molt cycle. *Aquaculture* 261(2) : 688-694
- Olivier G. (2002) Disease interactions between wild and cultured fish-perspectives from the American Northeast (Atlantic Provinces). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 22 : 103-109
- Páez-Osuna F., Guerrero-Galvan S.R., Ruiz-Fernandez A.C., Espinaza-Angulo R. (1997) Fluxes and mass balances of nutrients in a semi-intensive shrimp farm in North-Western Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 34 : 290-297
- Páez-Osuna F. (2001) The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental management* 28 : 131-140.
- Pagès J., Torrèton J.P., Sempéré R. (1997) Dissolved organic carbon in coral reef lagoons, by high temperature catalytic oxidation and UV spectrometry. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences de Paris* 324 : 915-922
- Patrick W.H., Mahapatra I.C. (1968) Transformation and availability to rice of nitrogen and phosphorus in waterlogged soils. *Advances in agronomy* 20 : 223-359
- Pétard J. (1993). Les méthodes d'analyse. Tome 1 : analyses des sols. Notes techniques : Laboratoire commun d'analyses N°5. ORSTOM, ed., Nouméa, Nouvelle-Calédonie.
- Peterson J., Daniels H. (1992) Shrimp industry perspectives on soil and sediment management. *In*: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Wyban J., ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA : 182-186
- Ponnamperuma F.N., Martinez E., Loy T. (1966) Influence of redox potential and partial pressure of carbon dioxide on pH values and the suspension effect of flooded soils. *Soil Science* 101 : 421-431
- Ponnamperuma F.N. (1972). The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy* 24 : 29-96
- Porter C. B., Krom M. D., Robbins M. G., Brickell L., Davidson A., Petit J. (1987) Ammonia excretion and total N budget for gilthead seabream (*Sparus aurata*) and its effect on water quality conditions. *Aquaculture* 66 : 287-297
- Primavera J.H., Lavilla-Pitogo C.R., Ladjá J.M., de la Peña M.R. (1993) A survey of chemical and biological products used in intensive prawn farms in the Philippines. *Marine Pollution Bulletin* 26 : 35-40
- Primavera J.H. (1997) Socio-economic impacts of shrimp culture. *Aquaculture Research* 28 : 815-827
- Primavera J.H. (1998) Tropical shrimp farming and its sustainability. *In*: tropical Mariculture, de Silva, S., ed., Academic Press, London : 257-289

Primot P., Herlin J., Ferré O., Sadonès H., Domalain D., Goarant C. (2004) Stratégies d'épidémiosurveillance et d'épidémiogigéance pour la filière crevette de Nouvelle-Calédonie : présentation des résultats de la campagne 2002. *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques 38 : 229-235

Queiroz J.F., Boyd C.E. (1998) Evaluation of a kit for estimating organic matter concentrations in bottom soils of aquaculture ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 29 : 230-233

**- R -**

Racotta I.S., Hernandez-Herrera R. (2000) Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 125 : 437-443

Raimbault P., Pouvesle W., Diaz F., Garcia N., Sempéré R. (1999) Wet-oxidation and automated colorimetry for simultaneous determination of organic carbon, nitrogen and phosphorus dissolved in seawater. *Marine Chemistry* 66 : 161-169

Ram N.M., Zu O., Avnimelech Y. (1982) Microbial changes occurring at the sediment-water interface in an intensively stocked and fed fish pond. *Aquaculture* 27 : 63-72

Raven J.A. (1986) Physiological consequences of extremely small size for autotrophic organisms in the sea. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Science* 241 : 1-70

Raven J.A. (1998) The twelfth Tansley lecture. Small is beautiful: the picoplankton. *Functional Ecology* 12 : 53-513

Rhew K., Baca R.M., Ochs C.A., Threlkeld S.T. (1999) Interaction effects of fish, nutrients, mixing and sediments on autotrophic picoplankton and algal composition. *Freshwater Biology* 42 : 99-109

Ritvo G., Neill W.H., Lawrence A.L., Samocha T.M. (1997) Turbidity related to shrimp size in tanks with soil substrate. *Aquacultural Engineering* 16 : 221-225

Ritvo G., Avnimelech Y., Kochba M. (2003) Empirical relationship between conventionally determined pH and *in situ* values in waterlogged soils. *Aquacultural Engineering* 27 : 1-8

Roden E.E., Tuttle J.H. (1992) Sulfide release from estuarine sediment underlying anoxic bottom water. *Limnology and Oceanography* 37 : 725-738

Rosenberry B. (2003) World shrimp farming 2003. *Shrimp News International*. Rosenberry B., ed., San Diego, California : 271 p.

Rosenberry B. (2005) World shrimp farming 2005. *Shrimp News International*, Rosenberry B., eds, San Diego, California : 268 p.

Ruangpan L., Tablaew R., Sangrungruang K. (1995) Bacteria flora of ponds with different stocking densities of black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *In*: Diseases in Asian Aquaculture II, Fish health section, Shariff M., Arthur J.R., Subasinghe R.P., ed., Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 141-149

Rysgaard S., Risgaard-Petersen N., Slo N.P., Jens K., Nielsen L.P. (1994) Oxygen regulation of nitrification and denitrification in sediments. *Limnology and Oceanography* 39 : 1643-1652

**- S -**

Sakami T., Abo K., Takayanagi K., Toda S. (2003) Effects of water mass exchange on bacterial communities in an aquaculture area during summer. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56 : 111-118

Samain J-F., Boudry P., Dégremont L., Soletchnik P., Ropert M., Bédier E., Moal J., Mathieu M., Lambert C., Escoubas J.M., Nicolas J.L., Le Roux F., Renault T., Burgeot T., Bacher C. (2004) Le soutien d'une filière aquacole par la recherche : l'exemple de la conchyliculture française et du programme Morest (Mortalités estivales de l'huître *Crassostrea gigas*). *In* : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques 38 : 23-30

- Sanders R.W., Caron D.A., Berninger U.G. (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. *Marine Ecology Progress Series* 86 : 1–14
- Sandifer P.A., Hopkins J.S. (1996) Conceptual Design of a Sustainable Pond-based Shrimp Culture System. *Aquacultural Engineering* 15 : 41-42
- SASV (1985). Rapport d'activité 1984, IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1986) Rapport d'activité 1985. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1987) Rapport d'activité 1986. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie.
- SASV (1988) Rapport d'activité 1987. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1989) Rapport d'activité 1988. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1990) Rapport d'activité 1989. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1991) Compte rendu des essais 212-213-214-215-216-217 « effet densité – taux de nutrition sur la croissance de *P. Stylirostris*. FB91.07, IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 7 p.
- SASV (1991) Rapport d'activité 1990 IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1991) Uniformisation du vocabulaire « aquaculture crevette » en Nouvelle-Calédonie. FB91.05, IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 5 p.
- SASV (1992) Rapport d'activité 1991. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1993) Rapport d'activité 1992. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1994) Rapport d'activité 1993. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1995) Rapport d'activité 1994. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1996) Rapport d'activité 1995. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie
- SASV (1997) Rapport d'activité 1996. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 38 p.
- SASV (1998) Rapport d'activité 1997. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 39 p.
- SASV (1999) Rapport d'activité 1998. IFREMER-SASV, ed., Nouvelle-Calédonie : 74 p.
- Saulnier D., Goarant C., Le Moullac G., Avarre J.-C., Levy P., Ansquer D. (1999) Pathogenicity of *Vibrio penaeicida* strain AM 101 isolated from New Caledonia. *In: Book of abstracts World Aquaculture Society annual conference (1999). 26 April – 2 May 1999, Sydney, Australia. World Aquaculture Society. Ed., Baton Rouge, USA : 678*
- Saulnier D., Avarre J.-C., Le Moullac G., Ansquer D., Levy P., Vonau V. (2000a) Rapid and sensitive PCR detection of *Vibrio penaeicida*, the putative etiological agent of syndrome 93 in New Caledonia. *Disease of Aquatic Organisms* 40 : 109-115
- Saulnier D., Haffner P., Goarant C., Levy P., Ansquer D. (2000b) Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture* 191: 133-144
- Sautter G., collaborateurs (1981) Atlas de la Nouvelle-Calédonie et dépendances. Editions de l'office de la recherche scientifique et technique outre-mer – Paris.
- Scheffer M., Carpenter S., Foley J.A., Folke C., Walker B. (2001) Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature* 413 : 591-596
- Schmitt A.S.C., Uglow R.F. (1997) Effects of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and heart and scaphognathite rates of *Nephrops norvegicus*. *Marine Biology* 127 : 411-418
- Schroeder G.L. (1987) Carbon and nitrogen budgets in manured fish ponds on Israël's coastal plain. *Aquaculture* 62 : 259-279
- Schroeder G.L., Alkon A., Laher A. (1991) Nutrient flow in aquaculture systems. *In: Aquaculture and Water Quality, Brune D.E., Tomasso J.R., ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA : 489-505*

- Seidman E.R., Lawrence A. (1985) Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. *Journal of the World Mariculture Society* 16 : 333-346
- Seitzinger S.P. (1988) Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: ecological and geochemical significance. *Limnology and Oceanography* 33 : 702-724
- Senez J. (1968) *Microbiologie générale*. Doin, ed., Deren et Cie, Paris, 592 p.
- Shivappa R.B. (1997) Efficacy of probiotics and disinfectants in controlling luminescent bacteria in shrimp post larvae under normal and stressed conditions. MSc Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok
- Shrestha M.K., Lin C.K. (1999) Determination of phosphorus saturation level in relation to clay content in formulated pond muds. *Aquacultural Engineering* 15 :441-459
- Sloth N.P., Blackburn T.H., Hansen L.S., Risgaard-Peterson N., Lomstein B.A. (1995) Nitrogen cycling in sediments with different organic loading. *Marine Ecology Progress Series* 116 : 163-170
- Snieszko S.F. (1974) The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *Journal of Fisheries Biology* 6 : 197-208.
- Solbe J.F. (1979) Studies on the effects of pollution on freshwater fish. *In: Biological Aspects of Freshwater Pollution*. Ravera O. ed., Pergamon, Oxford, England : 1-17
- Song Y.L., Cheng W., Wang C.H. (1993) Isolation and characterization of *Vibrio damsela* infectious for cultured shrimp in Taiwan. *Journal of invertebrate pathology* 61 : 24-31
- Sonnenholzner S., Boyd C. E. (2000) Chemical and physical properties of shrimp pond bottom soils in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society* 31(3) : 358-375
- Souchu P., Gasc A., Collos Y., Vaquer A., Tournier H., Bibent B., Deslou-Paoli J-M. (1998) Biogeochemical aspects of bottom anoxia in a Mediterranean lagoon (Thau, France). *Marine Ecology Progress Series* 164 : 135-146
- Soulard B. (2006) Logiciel Stylog - Base de données sur l'aquaculture crevettes, « Module Fermes » Vers. 1.0.
- Spaargaren D.R. (1998) Cultivation of tiger prawns, *Penaeus monodon*, Fabricius, 1798 (Decapoda, Natantia) in Hainan, PR China. *Crustaceana* 71(2) : 144-157
- Sposito G. (1989) *The chemistry of soils*. Oxford Univ. Press, Inc., New York : 277 p.
- Stevenson N.J. (1997) Disused shrimp pond: option for development of mangroves. *Coastal management* 25 : 425-435
- Stickney R.R. (1991) Effects of salinity on aquaculture production. *In : Aquaculture and water quality*, Brune D.E., Tomasso J.R., ed., World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA : 105-132
- Strom S.L., Welschmeyer N.A. (1991) Pigment-specific rates of phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the open subarctic Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 36 : 50-63
- Sundry B., Gobeil C., Silverberg N., Mucci A. (1992) The phosphorus cycle in coastal marine sediments. *Limnology and Oceanography* 37(6) : 1129-1145
- Sung H-H., Li H.C., Tsai F.M., Ting Y.Y., Chao W.L. (1999) Changes in the composition of *Vibrio* communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation and the hepatopancreas of healthy and disease shrimp. *Journal of experimental marine biology and ecology* 236 : 261-271
- Sung H-H., Hsu S-F., Chen C-K., Ting Y-Y., Chao W-L. (2001) Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Aquaculture* 192 : 101-110
- Sung H-H., Lin S.G., Chen W.L., Ting Y.Y., Chao W.L. (2003) Influence of Timsenk on *Vibrio* populations of culture pond water and hepatopancreas and on the hemocytic activity of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 219 : 123-133
- Suplee M.W., Cotner J.B. (1996) Temporal changes in oxygen demand and bacterial sulfate reduction in inland shrimp ponds. *Aquaculture* 145 : 141-158

- T -

- Teichert-Coddington D.R., Green B.W., Phelps R.P. (1992) Influence of site on season and water quality and tilapia production in Panama and Honduras. *Aquaculture* 105 : 297-314
- Teichert-Coddington D.R., Green B.W. (1993) Comparison of two techniques for determining community respiration in tropical fish ponds. *Aquaculture* 114 : 41-50
- Teichert-Coddington D.R., Martinez D., Ramirez E. (2000) Partial nutrient budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* 190 : 139-154
- Tendencia E.A., de la Peña L.D. (2001) Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture* 195 : 193-204
- Tenório M.M.B., Le Borgne R., Rodier M., Neveux J. (2005) The impact of terrigenous inputs on the Bay of Ouinné (New Caledonia) phytoplankton communities: A spectrofluorometric and microscopic approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64 : 531-545
- Tett P., Gowen R., Mills D., Fernandes T., Gilpin L., Huxham M., Kennington K., Read P., Service M., Wilkinson M., Malcolm S. (2006) Defining and detecting undesirable disturbance in the context of marine eutrophication. *Marine Pollution Bulletin* 55 : 282-297
- Thakur D.P., Lin C.K. (2003) Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* 27 : 159-176
- Thomas Y. (2006) Partie I : Modélisation des flux de nutriments azotés et phosphorés en sortie des bassins d'élevage de crevettes *L. stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Partie II : Recherche d'indicateurs des effluents d'élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie. Rapport d'activité d'un CDD réalisé du 18 octobre 2004 au 31 août 2005 dans le cadre du programme Zonéco. IFREMER/DAC, ed., Nouvelle-Calédonie : 59 p.
- Treguer P., Le Corre P. (1975) Manuel d'analyses des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'autoanalyseur II, Technicon R. Rapport U.B.O., IFREMER, ed., Brest : 110 p.
- Tucker C.S., Van der Ploeg M. (1993) Seasonal changes in water quality in commercial channel catfish ponds in Mississippi. *Journal of the World Aquaculture Society* 24 : 473-481
- Tuffery G. (1977) Introduction à l'écopathologie des systèmes piscicoles. Thèse IIIe cycle. Biologie animale et écologie. Univ. Paris VII : 137 p.

- W - Y - Z -

- Wabete N., Chim L., Lemaire P., Massabuau J.C. (2004) Caractérisation de problèmes de physiologie respiratoire et d'échanges ioniques associés à la manipulation chez la crevette pénéide *Litopenaeus stylirostris* à 20°C. In : Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ifremer, ed., Actes de Colloques 38 : 75-84
- Wabete N. (2005) Etude écophysiological du métabolisme respiratoire et nutritionnel chez la crevette pénéide *Litopenaeus stylirostris*. Application à la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie. Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle de l'Université de Bordeaux I. Ecole doctorale Sciences du vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement. 173 p.
- Wabete N., Chim L., Pham D., Lemaire P., Massabuau J.-C. (2006) A soft technology to improve survival and reproductive performance of *Litopenaeus stylirostris* by counterbalancing physiological disturbances associated with handling stress. *Aquaculture* 260 : 181-193
- Wahab M.A., Bergheim A., Braaten B. (2003) Water quality and partial mass budget in extensive shrimp ponds in Bangladesh. *Aquaculture* 218 : 413-423
- Wajsbrodt N., Gasith A., Krom M.D., Samocha T.M. (1990) Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile green tiger prawn *Penaeus semisulcatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9 : 497-504
- Wood E.D., Armonstrong F.A., Richards F.A. (1967) Determination of nitrate in seawater by cadmium copper reduction to nitrite. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 47 : 23-31



- Wyban J.A., Sweeney J.N. (1990). A system approach to developing intensive shrimp growout technology. *In: Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum*, Hiranu R., Hanyu I., ed., Tokyo, Japan, 17-22 April 1989. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines : 91-94
- Young-Lai W.W., Charmantier-Daures M., Charmantier G. (1991) Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the lobster *Homarus americanus*. *Marine Biology* 110 : 293-300
- Yu C.I., Song Y.L. (2000) Outbreaks of Taura syndrome in pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. *Fish Pathology* 35(1) : 21-24
- Zarin-Herzberg M., Ascencio-Valle F. (2001) Taura syndrome in Mexico: follow-up study in shrimp farms of Sinaloa. *Aquaculture* 193 : 1-9



## **Annexe 1**

Hugues Lemonnier, Sébastien Faninoz

Effect of water exchange on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia



# Effect of water exchange on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia

Hugues Lemonnier & Sébastien Faninoz

Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Département Aquaculture en Calédonie, Nouméa, New Caledonia

**Correspondence:** H Lemonnier, IFREMER, Place du séminaire, BP7, 17139 L'Houmeau, France. E-mail: hugues.lemonnier@ifremer.fr

## Abstract

An experiment was conducted in six earthen ponds with 20 shrimps  $m^{-2}$  *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) during the warm season in New Caledonia to study the dynamics of wastes in relation with water exchange rate (WER). The nitrogen budget was established, taking into account the different forms of nitrogen in the water, sediment, feed and shrimp. Data from a wide range of treatments applied in unreplicated ponds were treated using regression analysis to establish the relationship between WER and partial nitrogen budget, sediment characteristics and shrimp performance. To compare effluent quality between treatments during the season, data were analysed using the non-parametric sign test. The water outflow was characterized by a decrease in the concentrations of N-mineral forms (TAN,  $NO_2^-$ – $NO_3^-$ ), an increase in the concentration of organic soluble and sestonic organic forms (expressed in terms of particulate nitrogen, particulate organic carbon, chlorophyll *a*) compared with the water inflow. Increasing WER increased the amount of exported wastes and mainly in the organic forms and TAN can be considered as negligible. The nitrogen budget showed that 19–46% of nitrogen input (feed+water) was exported into the coastal environment. The results showed that the quality of the sediment decreased as WER decreased. The potential negative impact of the developing industry in New Caledonia on the coastal environment could be partially reduced in a first step by decreasing WER. However, if applied in the farms, this practice should be linked to a close survey of the evolution of sediment quality.

**Keywords:** effluent, sediment quality, shrimp, water exchange, nitrogen, New Caledonia

## Introduction

Shrimp farming (*Litopenaeus stylirostris* Stimpson) in New Caledonia is a developing industry conducted in flow-through semi-intensive system, at 20–35 animals  $m^{-2}$  with an extrapolated yield ranging from 2.0 to 5.5 t ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. Seventeen operating farms covering 650 ha produced about 2000 t in the 2003/2004 harvest season (Fonfreyde, Capo & Guillaume 2004). As consequence of a seasonal pathology named 'syndrome 93' which appears during the cold season, the industry produces essentially during the warm season (Harache & Herbland 2004). With 400 km coastline and the availability of coastal land that is not adequate for traditional agriculture activities, New Caledonia has a great potential to develop the shrimp industry. In 2007, it is envisaged to increase the production to about 5000 t by increasing the number of ponds to reach in final an area of about 1300 ha (Fonfreyde *et al.* 2004).

Shrimp farms are built on the intertidal zone between mangroves and agricultural land with ponds integrated as much as possible to the natural landscape, inducing no mangrove wetlands destruction. The species cultured in New Caledonia is a non-indigenous species. The mexican blue shrimp *L. stylirostris* was imported from the United States in 1980 from which almost 30 generations have been reared in captivity. The escapement of this species from farms could represent a significant concern. However, this shrimp has never been caught in the surrounding

environment. The impact of shrimp farming on the coastal environment is mainly limited to aquaculture effluents (Lemonnier & Herlin 1999). However, the multiplication of farms, the increase in production and the risk of intensification of the system may increase the pressure on the environment and could result in the long term to significant or insidious modifications in the lagoon, and possibly irreversible. The emergence of a new pathology in the last years named 'summer syndrome', which has been localized until now in a single bay is another good reason to manage the environment, as the whole industry could be affected if the pathogen was spread via seawater (Harache & Herbland 2004; Goarant, Ansquer, Herlin, Domalain, Imbert & De Decker 2006). Thus, effluents should be monitored and managed to avoid or reduce any negative environmental impacts, to limit spreading of pathogenic microorganisms from seawater and to improve sustainability.

The decrease of water exchange rate (WER) has been studied throughout the world to limit the export of waste and to reduce the impact on coastal environment (Hopkins, Sandifer & Browdy 1995; Sandifer & Hopkins 1996; Martinez-Cordova, Porchas-Cornejo, Villarreal-Colmenares & Calderon-Perez 1998). Water exchange (WE) is used to flush nutrients and phytoplankton from ponds to prevent excessive phytoplankton blooms. It removes toxic metabolic wastes such as ammonia, and dilutes pond water so that salinity does not become excessive. The major problem associated with the decrease of WER in semi-intensive system in earthen ponds is a rapid eutrophication of the system, resulting in increasing concentrations of nutrients and organic matter over the culture period. Nitrogen waste produced and oxygen drop could be ultimately making the environment toxic to shrimp.

Budgets are calculated including all nutrients gains and losses to quantify environmental impacts and to provide recommendations for farmers. The calculation of those budgets was established for experimental intensive shrimp ponds (Hopkins, Hamilton, Sandifer, Browdy & Stokes 1993), experimental semi-intensive shrimp ponds (Martin, Veran, Guelorget & Pham 1998; Lemonnier, Martin, Brizard & Herlin 2003), commercial intensive shrimp ponds in Thailand (Briggs & Funge-Smith 1994; Thakur & Lin 2003), Australia (Jackson, Preston, Thompson & Burford 2003), extensive shrimp ponds in Bangladesh (Wahab, Bergheim & Braaten 2003), semi-intensive shrimp farms in Mexico (Paez-Osuna, Guerrero-Gal-

van, Ruiz-Fernandez & Espinaza-Angulo 1997), Honduras (Teichert-Coddington, Martinez & Ramirez 2000) and Bangladesh (Islam, Sarker, Yamamoto, Wahab & Tanaka 2004). However, the relationship between WER and the dynamics of wastes in marine shrimps needs to be fully investigated at semi-intensive level.

The aim of the present study was double. First, it was to determine the effects of different WER on the nitrogen budget in semi-intensive shrimp rearing during the warm season. Second, it was to establish the relationship between WER, production parameters (survival, growth and yield) and the characteristics (nature and amount) of waste in effluent and pond sediment.

## Materials and methods

### Pond management

The experiment was carried out at the Caledonian Aquaculture Laboratory in six rectangular earthen ponds (1500 m<sup>2</sup> surface area, mean water depth 1.0 m) during the warm season (October 1998–March 1999). Ponds were dried out for 10 days before filling. They were stocked with *L. stylirostris* post-larvae at 20 shrimps m<sup>-2</sup>. Shrimp mean weight ( $N = 100$ ) was determined weekly. Shrimps were fed four times a day with a commercial feed (35–40% protein, SICA, New Caledonia). Feeding rates were adjusted based on feed consumption, monitored with one feeding tray per pond, and biomass estimates calculated from weekly shrimp sampling. No fertilizer was added to the pond either before or during the experiment, and no aeration was used. Shrimps were harvested the same day in all ponds after 143 days of rearing.

Partial WE was performed daily in the morning. Water was pumped directly from the sea through a short supply canal (50 m) and introduced directly into the ponds by gravity via a short tube (diameter: 15 cm). Flow rate for each pond was measured with a Meblügel Meter (Type C2''10.150'') several times during the experiment. Water exchange rate was estimated taking into account the water flow for each pond and duration of WE. The beginning of the WE was synchronous for all ponds. Closing was shifted in time for the different ponds. The overall mean water inflow rates were 6%, 11%, 16%, 21%, 29% and 33% per day for, respectively, ponds 1, 2, 3, 4, 5 and 6.

### Water parameters

Dissolved oxygen (DO) and temperature were recorded daily (06:00 and 16:00 hours) at mid-depth near the discharge gate with a portable oxygen meter. Salinity and pH were measured twice a week in the evening (16:00 hours), using, respectively, a refractometer and a laboratory pH meter.

Intake water samples were collected twice a week in the supply canal where water entered in ponds. Effluent samples were collected twice a week in all ponds at the discharge gates during WE. Sampled water (500 mL) was immediately filtered through a GF/C Whatman filter. Analysis included total ammonia nitrogen (TAN) (Koroleff 1976), nitrite and nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ )-N (Wood, Armstrong & Richards 1967) and total soluble nitrogen after mineralization (Raimbault, Pouvesle, Diaz, Garcia & Sempéré 1999). To estimate chlorophyll *a* (chl *a*), water samples of 25 mL were filtered through GF/C Whatman filters and analysed by the fluorometric method (Holm-Hansen, Lorenzen, Holmes & Strickland 1965). Total particulate nitrogen was determined on a Nitrogen–Carbon Analyser (Carlo-Erba 1500, Limito, Italy) (Hedges & Stern 1984). Suspended solids were measured for total particulate matter by drying at 60 °C for 24 h, and mineral matter (MM) and organic matter content by loss on ignition at 450 °C after 4 h.

### Sediment parameters

Five sediment stations marked with graduated posts were studied in each pond at the beginning (day 1) and at the end (day 142) of the rearing period. The height of sediment accumulated on top of the original level was measured with a ruler for each station. This accumulation corresponded to the difference between the level observed at the beginning and at the end of the rearing. The redox potential ( $E_h$ ) was assessed *in situ* on the first centimetre using a specific electrode (Cofralab PT5700A; Schott Instruments, Mainz, Germany) according to the method described by Husse-not and Martin (1995). pH of pore water was measured directly in the first centimetre with a pH meter (Husse-not & Martin 1995). The two first centimetre layer of sediment was collected at each station using a PVC tube of 10 cm diameter. One hundred grams of each sediment sampled were centrifuged at 2000 *g* for 30 min. The supernatant (pore water) was analysed as previously described for water samples for TAN. Fifty grams were dried for 5 days at 60 °C to calculate water content. Analysis of total nitrogen in dry

sediments was carried out with the technique used for measurement of particulate nitrogen in water.

### Nitrogen budget

In order to find out the main forms of nitrogen in the outflow in relation with the WER, amounts of particulate and soluble elements in the inflow and outflow were calculated. Daily concentrations were multiplied by exchanged water volumes to get the total mass of each parameter. Values for each parameter were integrated between two samplings and summed up for the season. Results were expressed in terms of pond surface area ( $\text{g m}^{-2}$ ). Balance net discharge refers to the difference between the outgoing and incoming amount for each parameter (Cho, Hynes, Wood & Yoshida 1994). Nitrogen accumulation in the sediment was estimated by the difference between the nitrogen concentrations at the end of the experiment with concentrations at the beginning, taking into account the volume of the two first centimetres and the mean water content of the sediment. The nitrogen concentrations in feed pellets and in shrimp were determined in 10 samples and values were averaged.

### Statistical analysis

Descriptive statistics of the pond, intake and effluent water quality are presented as mean, standard deviation of the mean, minimum (min) and maximum (max). Regression analysis was carried out to determine the relationship between WER and (1) shrimp performance indices, (2) amount of particulate and soluble element input and output in the outflow, (3) sediment quality and (4) accumulation of N wastes. Values were considered significant at 5% level of confidence. Survival rates were arcsin transformed before statistical analysis. Differences between inflowing and outflowing water quality for each pond, and outflowing waters between all ponds, were assessed using a distribution-free statistics named sign test (Scherrer 1984).

## Results

### Production results

Shrimp mean weight at harvest increased significantly with increasing WER ( $r^2 = 0.72$ ;  $P < 0.05$ ) (Table 1). Survival rates were higher than 70% what-

ever the pond and the WER (Table 1) and seemed to decrease as WER increased. However, it was not significant ( $r^2 = 0.62$ ;  $P = 0.06$ ). Production ranged between 6.7 and 7.2 t ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. Feed conversion ratio (FCR) was above 2.2 whatever the pond. Production, final biomass and FCR were not affecting by WER (Table 1).

**Water parameters**

Temperature did not differ between ponds and ranged from 23.9 to 30 °C in the morning, and from 26.0 to 33.4 °C in the afternoon. For all ponds, morning oxygen declined throughout the experiment from above 8 mg L<sup>-1</sup> at the beginning to 2 mg L<sup>-1</sup> at the end. Salinity values were 35–40‰ at the beginning of the experiment and below 25‰ at the end (Table 2).

Results of the sign test (Table 4) showed a decrease in the concentration of N-mineral forms, an increase in the concentration of organic soluble forms and in the sestonic forms (expressed in terms of particulate organic matter, particulate nitrogen, chl *a*) between inflow and outflow waters (Table 3). Mean total nitrogen concentration in the inflow was 0.20 ± 0.05 mg L<sup>-1</sup> and values ranged between 0.13 and 0.37 mg L<sup>-1</sup>. The mean concentrations in the outflow ranged from 0.52 ± 0.21 to 0.95 ± 0.40 mg L<sup>-1</sup>.

Concentrations of particulate nitrogen (Fig. 1), particulate organic matter, chl *a* and organic soluble nitrogen in outflow (Fig. 2) water decreased as WER increased (Table 4). Regardless of WER, 58–63% of total nitrogen was particulate nitrogen. Concentrations of seston, mineral matter, TAN and (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-N in different outflows were not or

**Table 1** Stocking and harvest data for six ponds stocked with *Litopenaeus stylirostris* at 20 m<sup>-2</sup> with increasing levels of water exchange

Mean water exchange rate (% day <sup>-1</sup> )	6	11	16	21	29	33
Final density (shrimps m <sup>-2</sup> )	15.6	15.5	16.2	15.3	15.6	14.3
Final biomass (g m <sup>-2</sup> )	262	264	268	281	272	262
Final mean weight (g)*	16.8 ± 1.7	17.0 ± 2.4	16.6 ± 1.7	18.4 ± 2.0	18.6 ± 1.7	18.4 ± 1.6
Shrimp growth (g day <sup>-1</sup> )	0.14	0.14	0.14	0.15	0.16	0.15
Survival rate (%)	78	77	81	76	73	71
Total feed in pond (g m <sup>-2</sup> )	592	589	581	625	621	604
FCR	2.3	2.2	2.2	2.2	2.3	2.3
Production (t ha <sup>-1</sup> yr <sup>-1</sup> )	6.7	6.7	6.9	7.2	6.9	6.7

\*Mean of 130 shrimps ± SD.  
FCR, feed conversion ratio.

**Table 2** Means ± SD and range of hydrobiological parameters in six ponds stocked at 20 m<sup>-2</sup> with increasing levels of water exchange

Mean water exchange rate (% day <sup>-1</sup> )	6	11	16	21	29	33
Oxygen am (mg L <sup>-1</sup> )*	5.8 ± 1.4 (1.5–8.8)	5.8 ± 1.5 (1.3–8.5)	5.9 ± 1.3 (1.0–9.1)	5.9 ± 1.3 (1.2–8.3)	6.0 ± 1.2 (2.5–8.3)	6.0 ± 1.3 (1.8–8.2)
Oxygen pm (mg L <sup>-1</sup> )†	8.9 ± 1.0 (7.0–11.1)	8.8 ± 1.1 (5.9–11.2)	8.5 ± 0.8 (6.8–10.8)	8.5 ± 0.8 (6.7–10.5)	8.2 ± 0.7 (7.1–9.5)	8.3 ± 0.9 (6.9–11.2)
pH am*	8.59 ± 0.28 (7.64–8.89)	8.47 ± 0.29 (7.53–8.80)	8.32 ± 0.20 (7.86–8.61)	8.30 ± 0.20 (7.79–8.53)	8.22 ± 0.21 (7.59–8.44)	8.26 ± 0.18 (7.81–8.51)
pH pm†	8.71 ± 0.20 (7.97–9.02)	8.60 ± 0.19 (7.92–8.83)	8.46 ± 0.14 (7.97–8.66)	8.43 ± 0.12 (8.12–8.66)	8.33 ± 0.15 (7.88–8.57)	8.38 ± 0.10 (8.15–8.64)
Salinity (‰)*	33.1 ± 4.0 (23–39.5)	32.9 ± 3.6 (23–38.5)	32.7 ± 3.5 (23–38)	32.7 ± 3.5 (23–37.5)	32.6 ± 3.5 (23–37)	32.5 ± 3.7 (22–37)
Secchi disk visibility* (cm)	43 ± 22 (15–120)	44 ± 22 (15–115)	47 ± 22 (15–110)	52 ± 25 (20–120)	58 ± 24 (15–120)	61 ± 27 (20–130)

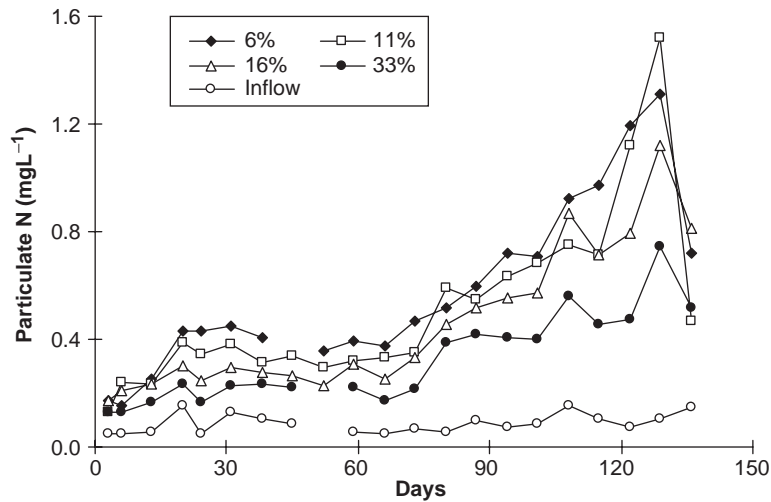
\*Each value represents the mean of 198 analyses.  
†Each value represents the mean of 58 analyses.



**Table 3** Means  $\pm$  SD and range for chemical and biological outflow water quality parameters for six ponds stocked at  $20 \text{ m}^{-2}$  with increasing levels of water exchange

Mean water exchange rate (% day <sup>-1</sup> )	Inflow	Outflow					
		6	11	16	21	29	33
		Particulate					
Seston (mg L <sup>-1</sup> )	13.2 $\pm$ 12.5 (4.4–63.0)	20.5 $\pm$ 10.7 (4.0–49.0)	21.2 $\pm$ 12.9 (4.0–56.5)	22.2 $\pm$ 14.2 (5.8–56.0)	20.1 $\pm$ 12.3 (3.6–55.5)	23.1 $\pm$ 20.9 (3.6–94.0)	19.6 $\pm$ 15.2 (4.4–68.0)
Organic matter (mg L <sup>-1</sup> )	2.7 $\pm$ 2.1 (1.0–11.5)	10.8 $\pm$ 6.0 (1.7–28.0)	9.2 $\pm$ 5.0 (2.0–23.2)	7.8 $\pm$ 3.8 (2.6–17.0)	6.5 $\pm$ 2.9 (1.4–12.4)	5.4 $\pm$ 3.0 (1.2–15.2)	5.3 $\pm$ 2.4 (1.4–11.6)
Mineral matter (mg L <sup>-1</sup> )	10.5 $\pm$ 10.5 (2.5–51.5)	9.8 $\pm$ 7.2 (1.0–38.5)	12.0 $\pm$ 10.1 (1.8–47.0)	14.5 $\pm$ 11.0 (3.0–44.0)	13.7 $\pm$ 9.9 (1.8–46.5)	17.7 $\pm$ 18.2 (2.4–78.8)	14.3 $\pm$ 13.1 (2.4–58.0)
Chl-a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	1.9 $\pm$ 1.1 (0.8–4.5)	30.2 $\pm$ 32.6 (0.4–132.7)	27.1 $\pm$ 30.2 (2.6–138.1)	22.0 $\pm$ 21.1 (2.7–72.5)	19.9 $\pm$ 21.2 (2.7–78.9)	15.1 $\pm$ 15.5 (1.4–59.9)	15.1 $\pm$ 15.9 (2.3–56.1)
N ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	87 $\pm$ 36 (48–153)	578 $\pm$ 319 (155–1313)	510 $\pm$ 453 (129–1522)	453 $\pm$ 267 (173–1121)	379 $\pm$ 209 (135–870)	310 $\pm$ 148 (149–643)	324 $\pm$ 169 (127–742)
C/N	6.4 $\pm$ 2.8 (2.6–13.0)	7.1 $\pm$ 0.9 (5.6–8.5)	7.1 $\pm$ 0.7 (5.9–8.5)	6.8 $\pm$ 0.6 (5.6–7.8)	6.6 $\pm$ 0.7 (5.1–7.9)	6.5 $\pm$ 1.0 (5.1–8.9)	6.2 $\pm$ 0.7 (4.8–7.2)
		Soluble					
TAN ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	19.5 $\pm$ 11.6 (7.0–59.1)	7.1 $\pm$ 4.9 (1.1–19.7)	20.7 $\pm$ 66.2 (2.0–367.9)	8.4 $\pm$ 10.0 (0.8–54.5)	7.1 $\pm$ 6.9 (1.0–35.6)	8.7 $\pm$ 9.2 (1.1–40.9)	6.0 $\pm$ 5.3 (1.3–23.0)
(NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )-N ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	10.11 $\pm$ 9.57 (0.39–47.60)	0.48 $\pm$ 0.26 (0.14–1.15)	1.13 $\pm$ 3.02 (0.00–18.65)	0.37 $\pm$ 0.25 (0.00–1.32)	0.41 $\pm$ 0.35 (0.00–1.90)	0.43 $\pm$ 0.33 (0.00–1.64)	0.58 $\pm$ 0.49 (0.10–2.39)
Organic (soluble)-N ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	89 $\pm$ 28 (42–208)	378 $\pm$ 89 (168–580)	315 $\pm$ 82 (169–479)	229 $\pm$ 49 (140–326)	203 $\pm$ 46 (111–305)	181 $\pm$ 31 (119–240)	183 $\pm$ 46 (110–278)

Each value represents the mean of 40 analyses except for particulate nitrogen and C/N ( $N = 20$ ).

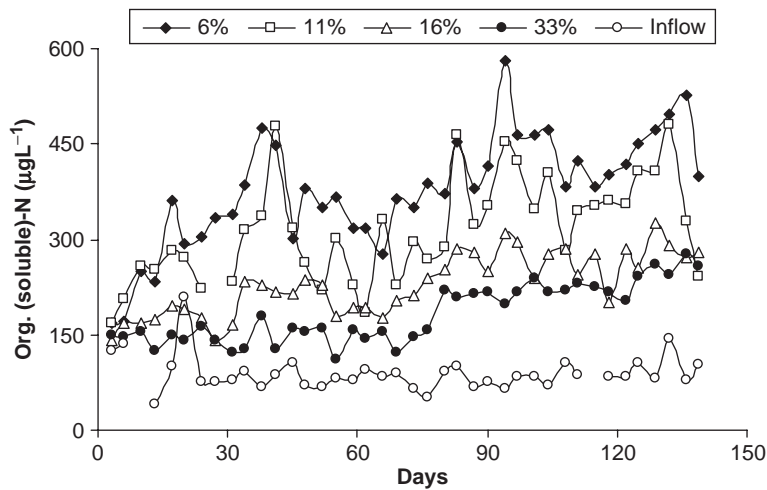


**Figure 1** Variations of the concentrations of particulate nitrogen in the outflow of four ponds and in the inflow during the rearing cycle.

rarely different between treatment ( $P > 0.05$ ). Concentrations of mineral soluble nitrogen in effluent (Table 3) were low: mean  $(\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-)\text{-N}$  was less than  $1.13 \mu\text{g L}^{-1}$ , and mean TAN less than  $20.7 \mu\text{g L}^{-1}$ . The regression of particulate nitrogen against chl-*a* was significant ( $r^2 = 0.85$ ;  $P < 0.001$ ) with the equation  $\text{chl-}a (\mu\text{g L}^{-1}) = 9.8 \times \text{particulate N } (\mu\text{g L}^{-1}) + 224.8$ .

### Mineral matter and nitrogen exported in effluents

Nitrogen balance net discharge is shown in Fig. 3. It refers to the difference between the outgoing and incoming amounts for each parameter. An increase of the net discharge for total nitrogen, particulate nitrogen, organic soluble nitrogen with



**Figure 2** Variations of the concentrations of organic soluble nitrogen in the outflow of four ponds and in the inflow during the rearing cycle.

**Table 4** Comparison between inflowing and outflowing water quality for each pond, and outflowing waters between all ponds using a distribution-free statistics named sign test

	pH	S % <sub>0</sub>	Seston	Particulate organic matter	Particulate nitrogen	C/N	Chl- <i>a</i>	Mineral matter	Organic (soluble)-N	TAN	N-NO <sub>2,3</sub> <sup>-</sup>
6–11%	**	NS	NS	**	**	NS	*	*	**	NS	NS
6–16%	**	NS	NS	**	**	NS	**	**	**	NS	NS
6–21%	**	NS	NS	**	**	**	**	**	**	NS	NS
6–29%	**	NS	NS	**	**	**	**	**	**	NS	NS
6–33%	**	*	*	**	**	**	**	NS	**	NS	**
6-inflow	**	*	**	**	**	NS	**	NS	**	**	**
11–16%	**	*	*	**	**	*	**	**	**	NS	**
11–21%	**	**	NS	**	**	**	**	**	**	NS	NS
11–29%	**	*	NS	**	**	**	**	**	**	NS	NS
11–33%	**	*	*	**	**	**	**	NS	**	NS	NS
11%-inflow	**	NS	**	**	**	NS	**	NS	**	**	**
16–21%	NS	**	**	**	**	NS	**	NS	**	NS	NS
16–29%	**	*	*	**	**	NS	**	NS	**	NS	NS
16–33%	**	*	*	**	**	*	**	NS	**	NS	*
16-inflow	**	*	*	**	**	NS	**	**	**	**	**
21–29%	**	*	NS	**	**	NS	*	*	**	NS	NS
21–33%	**	*	*	**	**	NS	**	NS	**	NS	NS
21-ER	**	*	**	**	**	NS	**	**	**	**	**
29–33%	**	*	NS	NS	NS	NS	NS	*	**	NS	NS
29-inflow	**	*	**	**	**	NS	**	**	**	**	**
33-inflow	**	*	**	**	**	NS	**	NS	**	**	**

\*\*Difference is significant with  $P < 1\%$ .

\*Difference is significant with  $P < 5\%$ .

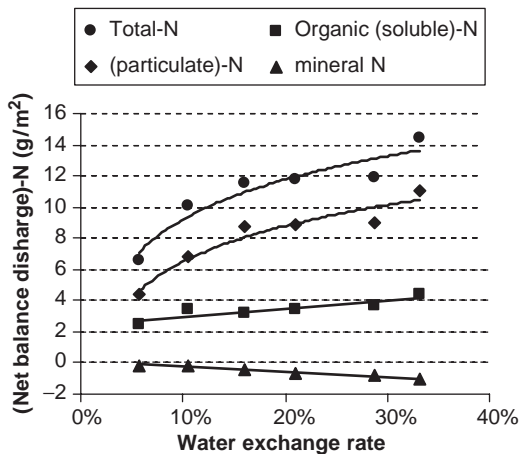
NS, difference is not significant.

increasing WER was observed. However, net discharge of particulate nitrogen increased more rapidly than that of soluble organic nitrogen; 36% and 34% of total nitrogen was discharged as organic soluble nitrogen for the two ponds with the lowest WER, while this ratio ranged from 27% to 29% for the other ponds. The balances of net discharge

for mineral nitrogen were negative whatever the pond and decreased with increasing WER ( $r^2 = 0.96$ ). The linear regression of mineral matter ( $\text{MM} (\text{g m}^{-2}) = -69 + 10 \times \text{WER}$ ;  $P = 0.01$ ,  $r^2 = 0.80$ ) against WER indicates that these two parameters were closely related. The balance of MM was equal to 0 when WER was 7%.

### Sediment parameters

At the end of the rearing, mean pH did not differ between ponds and ranged from 7.0 to 7.1. Mean potential redox ranged between  $119 \pm 45$  and  $144 \pm 21$  mV and water content between  $45 \pm 13\%$  and  $59 \pm 8\%$ . Mean TAN decreased ( $P < 0.05$ ) as WER increased from  $2.6 \pm 1.2$  to  $7.3 \pm 2.2$  mg L<sup>-1</sup>. Mean (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-N ranged from  $2.7 \pm 1.5$  to  $4.9 \pm 1.4$  µg L<sup>-1</sup>. Total nitrogen concentration in the sediment ranged between  $1.51 \pm 0.41$  mg g<sup>-1</sup> (pond 6) and  $2.27 \pm 0.39$  mg g<sup>-1</sup> (pond 1). The height of sediment accumulated and the evolution of sediment characteristics are presented in Table 5. Accumulated layer, ΔpH and Δ(NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-N in pore water were similar whatever the pond studied. Δ water content and ΔTAN increased as WER decreased (respectively  $r^2 = 0.76$ ;  $P = 0.02$  and  $r^2 = 0.90$ ;  $P < 0.01$ ). Δ redox potential decreased as WER increased ( $r^2 = 0.93$ ;  $P < 0.01$ ). Gain of nitrogen over the culture period ranged from 0.23 to 1.00 mg g<sup>-1</sup> dry weight and was not significantly correlated with WER ( $P = 0.08$ ).



**Figure 3** Relationships between nitrogen net balance discharge and water exchange rate.

### Nitrogen budget

Nitrogen budget values are presented in Table 6. The nitrogen concentration in feed pellets and shrimp were  $70.1 \pm 1.1$  and  $32.2 \pm 4.6$  mg g<sup>-1</sup>. The waste exported by effluent increased as WER increased and represented 19% to 46% of the total nitrogen input in the pond (feed and water). These budgets indicated that shrimp converted between 17% and 20% of the nitrogen gained through feed and water to tissue, and 20–21% of the nitrogen added as feed. The nitrogen waste accumulated in sediment during rearing ranged from 3.8 to 10.9 g m<sup>-2</sup>, counting for 7–26% of the total nitrogen input. The proportion of nitrogen imported through water and feed that was not found back when assessing budgets, was classified as 'other'. Values of 'other' ranged from 11.5 to 17.1 g m<sup>-2</sup> and corresponded to a loss of 81–120 mg m<sup>-2</sup> of nitrogen day<sup>-1</sup>.

### Discussion

Ponds management studies usually are restricted by availability of ponds, forcing researchers to limit treatments to maintain adequate replicates for statistical analysis. A more appropriate means of obtaining information could be to conduct trials with single or duplicate ponds for each treatment over a wide range of treatment and analyse the data using regression analysis (Wudtisin & Boyd 2005). A non-parametric test is possibly the best way to analyse temporal series presenting non-normal distribution, like data obtained in our experiment. The statistical test used to compare effluents between ponds and with the inflow water is based on the difference analysis between each data pair (Scherrer 1984).

The usual rule in terms of daily WER in New Caledonia is an increase from 5% at the beginning of the rearing to about 30% at the end (Aquacop 1984). This practice is water and energy consuming, as water is pumped. In this experiment, yield was the same

**Table 5** Difference of sediment characteristics between the end and the beginning of the rearing

Water exchange rate (% day <sup>-1</sup> )	6	11	16	21	29	33
Accumulated layer (cm)	+1.4 ± 1.2	-0.1 ± 2.0	0.1 ± 0.2	0.5 ± 1.2	0.1 ± 1.4	-0.2 ± 0.9
Δ Water content (%)	+23 ± 15	+18 ± 15	+12 ± 11	+15 ± 17	+13 ± 17	+9 ± 17
Δ Redox (mV)	-60 ± 44	-46 ± 60	-31 ± 44	-24 ± 64	-3 ± 61	+34 ± 28
Δ pH <i>in situ</i> <sup>a</sup>	+0.5 ± 0.2	+0.5 ± 0.1	+0.7 ± 0.1	+0.7 ± 0.3	+0.5 ± 0.1	+0.5 ± 0.2
Δ TAN (mg L <sup>-1</sup> )	+5.1 ± 2.1	+4.9 ± 3.9	+3.8 ± 2.7	+4.1 ± 5.9	+2.2 ± 0.9	+0.8 ± 1.7
Δ (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )-N (µg L <sup>-1</sup> )	-2.2 ± 1.9	-4.9 ± 5.8	-5.4 ± 6.6	-11.4 ± 12.3	-4.3 ± 1.5	-34.9 ± 13.8
Δ Total nitrogen (mg g <sup>-1</sup> dry weight) <sup>a</sup>	+1.00 ± 0.73	+0.76 ± 1.00	+0.47 ± 0.47	+0.38 ± 0.52	+0.68 ± 0.96	+0.21 ± 0.41

**Table 6** Nitrogen budget in the ponds

Water exchange rate (% day <sup>-1</sup> )	6	11	16	21	29	33
Input-N (g m <sup>-2</sup> )						
Water-N (dissolved+particulate)*	1.6 (4)	2.9 (7)	4.5 (10)	5.8 (12)	7.9 (15)	9.1 (18)
Feed pellets-N*	41.1 (96)	40.9 (93)	40.4 (90)	43.4 (88)	43.2 (85)	42.0 (82)
Total input-N	42.7	43.8	44.9	49.2	51.1	51.1
Output-N (g m <sup>-2</sup> )						
Water-N (dissolved+particulate)*	8.2 (19)	13.0 (30)	16.0 (36)	17.6 (36)	19.8 (39)	23.5 (46)
Shrimp-N*	8.5 (20)	8.6 (20)	8.6 (19)	9.0 (18)	8.8 (17)	8.5 (17)
N in excess in sediment*	10.9 (26)	10.8 (25)	8.3 (19)	5.6 (11)	10.4 (20)	3.8 (7)
Other (N loss to atmosphere and seepage)*	15.2 (36)	11.5 (26)	11.9 (26)	17.1 (35)	12.1 (24)	15.3 (30)

\*Percentage of the compartment versus total input-N is given in parentheses.

whatever the WER suggesting the feasibility of a reduced WER leading to reduced energy costs for the industry as previously shown by Hopkins *et al.* (1993) and Martinez-Cordova *et al.* (1998).

Dissolved oxygen is the most critical water-quality parameter in aquaculture, controlling survival and growth of shrimp in ponds (Boyd 1990). At the end of the experiment, minimum DO concentrations were below the required concentrations in all ponds. The values below 2 mg L<sup>-1</sup> can be considered as critical for the growth of the shrimps (Allan & Maguire 1991). A reduced WER will not lead to low oxygen level in the pond. The pond water should be oxygenated or shrimps partially caught to decrease biomass in ponds as practiced in semi-intensive shrimp farms in New Caledonia. Except for oxygen, the observed variations in studied water quality parameters were within the acceptable range for *L. stylirostris* (Aquadrop 1984).

Bottom soil quality has long been recognized as a factor influencing water quality and aquatic animal production (Boyd 1990). Reduced feeding, slower growth (Avnimelech & Zohar 1986), low survival (Hopkins, Sandifer & Browdy 1994) and possibly higher sensitivity to disease are reported in relation with deterioration of the pond bottom (Avnimelech & Ritvo 2003). In this work, reduce WER decreases the waste exported to coastal environment. A negative effect on the sediment is characterized by TAN accumulation and decreasing of Redox. The results in this study shows an increase of water content as WER decreases, suggesting in a same time an increase of organic matter in pond sediment (Avnimelech, Ritvo, Meijer & Kochba 2001). It seems also that nitrogen accumulates in sediment while WER decreased, but the regression is not significant ( $P = 0.08$ ). Even if it is potentially feasible to reduce WER, if applied in the farms, this practice should be

linked to a close survey of the evolution of sediment quality.

The impact of aquaculture effluents can vary considerably depending on the water quality supply in the ponds and the flushing rates of receiving water body. Oligotrophy of the water in the Caledonian lagoon is marked because of the influence of oceanic oligotrophic water inflow (Bujan, Grenz, Fischez & Douillet 2000). Increased nutrient inputs in the lagoon could have a significant effect on lagoon water quality, especially at the back of the bays where shrimp farm effluents are mainly discharged. Water exchange resulted in a change of water characteristics between inflow and outflow and a net discharge of organic matter as indicated by a net discharge of organic soluble nitrogen and particulate nitrogen. Primary production could absorb intake inorganic nitrogen and could explain the negative discharge net balance. Primary productivity is a classical pathway to remove mineral nutrients from water, and helps pond digestion processes and lead to a reduction of mineral nitrogen pollutants in the discharge (Hopkins *et al.* 1993, 1995). Compared with concentrations in inflow, Ziemann, Walsh, Saphore and Fulton-Bennet (1992) measured an increase of total N and TAN and a decrease of nitrate in the effluent from freshwater fish and prawn ponds and marine fish and shrimp ponds. The present study did not show an increase of TAN in effluent compared with concentration in inflow. DON form represents 75% of the soluble nitrogen in the inflow and more than 94% in effluent. Soluble nitrogen is the main nitrogen source in the inflow (58%) even though particulate nitrogen was the major N components of the effluents (58–63%). The water outflow was characterized by an increase in the concentration of organic soluble forms and the sestonic organic forms (expressed in terms of particulate nitrogen,

particulate organic carbon, chl *a*) compared with the water inflow.

Mean total nitrogen concentration in effluent ranged from 0.51 to 0.96 mg L<sup>-1</sup> (soluble + particulate) and decreased as WER increased. The concentration was lower than values measured in Australia (Jackson *et al.* 2003; Jackson, Preston & Thompson 2004) whatever the WER. For intensive shrimp farms, typical net load of total nitrogen is around 1 kg ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. In this study, range of net load varied between 0.46 and 1.01 kg ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. Net load for the highest WER was similar as the one observed in Australia for intensive system. Several works have shown that 27–57% of the nitrogen added to ponds is discharged (Funge-Smith & Briggs 1998) and that this amount increases with density (Martin *et al.* 1998). In the present study 19–46% of the nitrogen added to ponds (water + feed) were flushed out of the ponds. The amount decreased as WER decreased. Despite TAN is generally considered as a major form (Lorenzen, Struve & Cowan 1997; Jackson *et al.* 2003), it could be considered as negligible in this study. Mineral nitrogen (TAN + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) represents only 1% to 2.6% of total nitrogen even though it is established that ammonium is the main excretory product from shrimp (Burford & Williams 2001). The ratio DON/total N ranged between 37% and 42% and was similar to the results found in Australia for intensive system (Jackson *et al.* 2003). DON proves to be an important source of wastes which concentration is closely linked to the WER. DON appeared to be produced principally from leaching of shrimp feed and faeces (Burford & Williams 2001). Effluent is also characterized by high concentrations of particulate nitrogen and chl-*a*. The significant regression of particulate nitrogen against chl-*a* indicates that these two parameters are closely related.

The percent of input N converted to harvested shrimp has important implications for water quality and profitability of pond aquaculture. Results indicate that about 20–21% of N added as feed is recovered in shrimps whatever the WER. The percentage in the present study was similar to the results obtained in intensive system in Thailand (Briggs & Funge-Smith 1994) and in Australia (Jackson *et al.* 2003). Our study shows that water management and different eutrophication levels of the pond ecosystem had no effect on nitrogen assimilation by shrimp whereas natural biota can contribute significantly to shrimp nutrition (Burford, Jackson & Preston 2001). These results suggest that WER could have no effect on the natural biota which contributes to the

nutrition of shrimp. Other ways should be explored to significantly improve nitrogen assimilation and to reduce the environmental impacts of shrimp farming. At the animal level, improvements of feed formulations coupled with genetic selection for feed conversion efficiency should result in significant cumulative improvements to the reduction of N waste (Lawrence, Castille, Samocha & Velasco 2001). At the pond level, an improved ability to adapt feeding strategies to seasonal and diurnal rhythms in feeding activity has also produced gains for aquaculturists (Burford *et al.* 2001).

For the highest WER, unrecorded nitrogen was estimated to count for 22–24% of total nitrogen input. For intermediate WER, the values ranged between 26% and 29%. For the lowest WER, unrecorded nitrogen was highest and corresponded to 36% of total nitrogen input (water and sediment). Unrecorded nitrogen ranged from 11.1 to 15.2 g m<sup>-2</sup> for all ponds which corresponds to a nitrogen loss between 78 and 106 mg m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>. These losses are attributed to a release in the atmosphere through denitrification and diffusion process (Hopkins *et al.* 1993; Briggs & Funge-Smith 1994; Jackson *et al.* 2003).

## Acknowledgments

This work was supported by a research grant from the Northern Province, Southern Province and Institut Français de Recherche et d'Exploitation de la Mer (IFREMER). We gratefully acknowledge the comments and suggestions of referees on data analyses, and improving the style of the manuscript. We also want to thank L. Della Patrona, P. Brun, C. Lambert and E. Pita who kindly helped for the management of the ponds.

## References

- Allan G.L. & Maguire G.B. (1991) Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* **94**, 27–37.
- Aquacop (1984) Review of ten years of experimental penaeid shrimp culture in Tahiti and New Caledonia (South Pacific). *Journal of the World Mariculture Society* **15**, 73–91.
- Avnimelech Y. & Zohar G. (1986) The effect of local anaerobic conditions on growth retardation in aquaculture system. *Aquaculture* **58**, 167–174.
- Avnimelech Y. & Ritvo G. (2003) Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture* **220**, 549–567.



- Avnimelech Y., Ritvo G., Meijer L.E. & Kochba M. (2001) Water content, organic carbon and dry bulk density in flooded sediments. *Aquacultural Engineering* **25**, 25–33.
- Boyd C.E. (1990) *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, AL, USA, 482pp.
- Briggs M.R.P. & Funge-Smith S.J. (1994) A nutrient budget of some intensive marine shrimp pond in Thailand. *Aquaculture and Fisheries Management* **25**, 789–811.
- Bujan S., Grenz C., Fischez R. & Douillet P. (2000) Evolution saisonnière du cycle biogéochimique dans le lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie. Application d'un modèle compartimental. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris* **323**, 225–233.
- Burford M.A. & Williams K.C. (2001) The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture* **198**, 79–93.
- Burford M.A., Jackson C.J. & Preston N.P. (2001) Reducing nitrogen waste from shrimp farming: an integrated approach. In: *The New Wave. Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001* (ed. by C.L. Browdy & D.E. Jory), pp. 35–43. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Cho C.Y., Hynes J.D., Wood K.R. & Yoshida H.K. (1994) Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture* **124**, 293–305.
- Fonfreyde C., Capo S. & Guillaume M. (2004) La filière crevette en Nouvelle Calédonie: situation actuelle, développement et besoins de recherche. In: *Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle Calédonie*. Nouméa-Koné, 2–6 juin 2003. (Ed. by IFREMER). *Actes Colloq* **38**, 13–17.
- Funge-Smith S.J. & Briggs M.R.P. (1998) Nutrients budgets in intensive shrimp ponds: implication for sustainability. *Aquaculture* **164**, 117–133.
- Goarant C., Reynaud Y., Ansquer D., de Decker S., Saulnier D. & Le Roux F. (2006) Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Systematic and Applied Microbiology* (in press). Available online 18 January 2006.
- Harache Y. & Herbland A. (2004) Le programme Désans (Défi Santé Stylirostris) : une démarche comparable au défi Morest appliqué à la filière crevette calédonienne. In: *Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle Calédonie*. Nouméa-Koné, 2–6 juin 2003 (Ed. by IFREMER). *Actes du Colloque* **38**, 31–39.
- Hedges J.I. & Stern J.H. (1984) Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology and Oceanography* **29**, 657–663.
- Holm-Hansen O., Lorenzen C.J., Holmes P.E. & Strickland J.D.H. (1965) Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du conseil international pour l'exploitation de la mer* **30**, 3–15.
- Hopkins J.S., Hamilton II R.D., Sandifer P.A., Browdy C.L. & Stokes A.D. (1993) Effects of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* **24**, 304–320.
- Hopkins J.S., Sandifer P.A. & Browdy C.L. (1994) Sludge management in intensive pond culture of shrimp: effect of management regime on water quality, sludge characteristic, nitrogen extinction, and shrimp production. *Aquacultural Engineering* **13**, 11–30.
- Hopkins J.S., Sandifer P.A. & Browdy C.L. (1995) A review of water management regimes which abate the environmental impacts of shrimp farming. In: *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming* (ed. by C.L. Browdy & J.S. Hopkins), pp. 157–166. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Hussenot J. & Martin J.L.M. (1995) Assessment of the quality of pond sediment in aquaculture using simple, rapid techniques. *Aquaculture International* **3**, 123–133.
- Islam M.d.S., Sarker M.d.J., Yamamoto T., Wahab M.d.A. & Tanaka M. (2004) Water and sediment quality, partial mass budget and effluent N loading in coastal brackishwater shrimp farms in Bangladesh. *Marine Pollution Bulletin* **48**, 471–485.
- Jackson C.J., Preston N., Thompson P.J. & Burford M.A. (2003) Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* **218**, 397–411.
- Jackson C.J., Preston N. & Thompson P.J. (2004) Intake and discharge nutrient loads at three intensive shrimp farms. *Aquaculture Research* **35**, 1053–1061.
- Koroleff F. (1976) Determination of ammonia. In: *Methods in Seawater Analysis* (ed. by K. Grasshof), pp. 126–133. Verlag Chemie, Weinheim, RFA.
- Lawrence A.L., Castille E., Velasco M. & Samocha T. (2001) "Environmentally friendly" or "least polluting" feed management program for shrimp farming. In: *The New Wave. Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture* (ed. by C.L. Browdy & D.E. Jory), pp. 84–91. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Lemonnier H. & Herlin J. (1999) A case of friendly shrimp aquaculture. In *Book of Abstracts of the 1999 Annual Meeting of the World Aquaculture Society Bridging the Gap*, Sydney, Australia, 26 April–2 May 1999. p. 442. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Lemonnier H., Martin J.L.M., Brizard R. & Herlin J. (2003) Effect of water exchange rate on waste production in semi intensive shrimp ponds during the cold season in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society* **34**, 40–49.
- Lorenzen K., Struve J. & Cowan V.J. (1997) Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. *Aquaculture Research* **48**, 493–450.
- Martin J.L.M., Veran Y., Guelorget O. & Pham D. (1998) Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output; their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture* **164**, 135–149.

- Martinez-Cordova L.R., Porchas-Cornejo M.A., Villarreal-Colmenares H. & Calderon-Perez J.A. (1998) Winter culture of yellowleg shrimp *Penaeus californiensis* in aerated ponds with low water exchange. *Journal of the World Aquaculture Society* **29**, 120–124.
- Paez-Osuna E., Guerrero-Galvan S.R., Ruiz-Fernandez A.C. & Espinaza-Angulo R. (1997) Fluxes and mass balances of nutrients in a semi-intensive shrimp farm in North-Western Mexico. *Marine Pollution Bulletin* **34**, 290–297.
- Raimbault P., Pouvesle W., Diaz E., Garcia N. & Sempéré R. (1999) Wet-oxidation and automated colorimetry for simultaneous determination of organic carbon, nitrogen and phosphorus dissolved in seawater. *Marine Chemistry* **66**, 161–169.
- Sandifer P.A. & Hopkins J.S. (1996) Conceptual design of a sustainable pond-based shrimp culture system. *Aquacultural Engineering* **15**, 41–52.
- Scherrer B. (1984) Comparaison de deux échantillons appariés, le test des signes. In: *Biostatistique* (ed. by M.I. Gaëtan), pp. 523–528. Gaëtan Morin. Montréal, Canada.
- Thakur D.P. & Lin C.K. (2003) Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* **27**, 159–176.
- Teichert-Coddington D.R., Martinez D. & Ramirez E. (2000) Partial nutrient budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* **190**, 139–154.
- Wahab M.A., Bergheim A. & Braaten B. (2003) Water quality and partial mass budget in extensive shrimp ponds in Bangladesh. *Aquaculture* **218**, 413–423.
- Wood E.D., Armstrong F.A.J. & Richards F.A. (1967) Determination of nitrate in sea water by cadmium copper reduction to nitrite. *Journal of the marine biological association of the United Kingdom* **47**, 23–31.
- Wudtisin W. & Boyd C.E. (2005) Determination of the phosphorus fertilization rate for bluegill ponds using regression analysis. *Aquaculture Research* **36**, 593–599.
- Ziemann D.A., Walsh W.A., Saphore E.G. & Fulton-Bennet K. (1992) A survey of water quality characteristics of effluent from Hawaiian aquaculture facilities. *Journal of the World Aquaculture Society* **23**, 180–191.





## **Annexe 2**

Hugues Lemonnier, Alain Herbland, Lucas Saléry, Benoît Soulard

“Summer Syndrome” in *Litopenaeus stylirostris* grow out ponds in New Caledonia:  
zootechnical and environmental factors



# “Summer syndrome” in *Litopenaeus stylirostris* grow out ponds in New Caledonia: Zootechnical and environmental factors

Hugues Lemonnier<sup>a,b,\*</sup>, Alain Herbland<sup>a</sup>, Lucas Salery<sup>a</sup>, Benoît Soulard<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Aquaculture Calédonien, IFREMER, BP2059, 98846 Nouméa Cedex, New Caledonia

<sup>b</sup> Centre de Recherche sur les Ecosystèmes Littoraux Anthropisés, Place du séminaire, BP7, 17139 L'Houmeau, France

Received 21 March 2006; received in revised form 25 August 2006; accepted 25 August 2006

## Abstract

The “Summer Syndrome”, a septicemic vibriosis caused by *Vibrio nigripulchritudo*, is responsible for one of the two main seasonal mortalities which affect shrimp aquaculture in New Caledonia. It was identified for the first time in December 1997 in an intensive shrimp farm (called farm DF) and has been enzootic ever since. The “Summer syndrome” affects shrimp during warm-season growout. Although the geographic area concerned is limited, it is a potential threat for the industry in that the disease could spread. Analysis of grow out data from 1991 to 2002 in this farm was carried out in order to characterize the disease and the environmental conditions in relation to mortality. Results of farm DF were compared to data from farms not affected by the disease (called farms HC). The “Summer syndrome” occurs during the warm season which is characterized by an increase in water temperature and sunny duration. This disease is characterized by simultaneously highest densities and weakest drying duration between crops in the farms studied. Between 1991 and 2002, the increase of feed input and nitrogen rate in feed has led to a significant increase of the growth rate over the years in farm DF. At the same time, water management has not changed and has induced an increase in environmental waste production. In consequence, an early eutrophication of water is observed, which is concomitant with the beginning of the mortality outbreaks. This could play a role by inducing directly or indirectly a stress for shrimp and/or a growth and/or virulence factors of the pathogen.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Shrimp culture ponds; Vibriosis; Pond management; Eutrophication

## 1. Introduction

Shrimp aquaculture in New Caledonia is confined to the species *Litopenaeus stylirostris* and is a developing industry. The two growout techniques used are semi-intensive (20 shrimp/m<sup>2</sup>; 7–11 ha ponds; without

aeration) and intensive (30 to 40 shrimp/m<sup>2</sup>; 3–4 ha ponds; with aeration) (Herlin, 1999). However, it is subject to seasonal mortalities during growout. Since 1993, penaeid shrimp reared in New-Caledonia during the cold period are affected by one other seasonal mortality named “syndrome 93”. Mortality occurs as simultaneous epizootics on distant shrimp farms, following a sudden drop in temperature during the transition seasons (Mermoud et al., 1998). Since then, this disease has inflicted serious losses on all the farms and thus must be considered as an economically significant disease. *Vibrio*

\* Corresponding author. IFREMER, CRELA, Place du séminaire, BP7, 17139 L'Houmeau, France. Tel.: +33 5 46 50 06 80; fax: +33 5 46 50 06 00.

E-mail address: [hugues.lemonnier@ifremer.fr](mailto:hugues.lemonnier@ifremer.fr) (H. Lemonnier).

*penaecida* is the etiological agent of this disease (Costa et al., 1998; Goarant et al., 1999). As a consequence, the whole industry has become seasonal and produces essentially during the warm season (Harache and Herbland, 2004). In December 1997, a case of mortality from two ponds in an intensive farm (farm DF) was investigated due its uncommon feature: it occurred in summer conditions and thus did not fit the typical “syndrome 93” profile. A septicemic vibriosis due to *Vibrio nigripulchritudo* was identified and this new disease named “Summer syndrome” turned out to be almost enzootic in farm DF and has affected all its crops ever since (Goarant et al., 2004, 2006). Farm DF has a similar pond size (between 3.3 and 3.7 ha), for a total surface of 34 ha. Development of this disease corresponded to the climatic phenomenon named La Niña (1998–2000) (NOAA, 2005) characterized by strong precipitations (Nicet and Delcroix, 2000) and high temperatures (National Weather Service, Com. Pers.). From 1994 to 1996 and in the absence of mortality outbreaks on farm DF, the average survival rate was  $58.4 \pm 2.5\%$ . Since farm DF has been affected by the “Summer syndrome”, final survival levels after harvest vary between 22% and 38%, depending on the year (unpublished data). Since 2000, *V. nigripulchritudo* strains have been found in several shrimp farms, although the “Summer syndrome” is still limited to one particular area, affecting, since 2003, a second adjoining farm (Goarant et al., 2006). As a consequence, the Summer syndrome is considered as a potential threat for the industry in that the disease could spread (Harache and Herbland, 2004; Goarant et al., in press).

The study of the virulence characteristics of some isolated strains of *V. nigripulchritudo* by Goarant et al. (2006) showed that pathogenic and non-pathogenic strains occur in farm environments and that both may be found at the same time in one pond. Moreover, the results suggest a persistence of pathogenic strains in wet zones of the pond sediment at low concentrations between crops in the affected farm DF, and their development during the rearing cycle as a cause of shrimp infection (Goarant et al., 2006). The *Vibrio* may be detected as early as 11 days after stocking in the pond sediment, 40 and 44 days in sampled shrimp and pond water respectively (Goarant et al., 2006).

Shrimp susceptibility, if it is affected, determines the development of the disease. The first dead shrimp due to the Summer syndrome are observed after an average of 58 days of rearing, for an average weight of 5.4 g, and during a phase of high growth. The growth rate is not affected by the disease. Shrimp in late premolt stage D2 and early postmolt stage A appeared to be the most affected at some points of the mortalities (Mugnier et al.,

2004). Successive mortality peaks can be observed within a pond. Mortalities start at different dates, depending on the stocking date, but some synchronicity in mortality peaks between ponds could be observed. The intensity of mortality is variable depending on the pond. This synchronicity suggests a common triggering factor. The variation in the intensity of mortality outbreaks suggests the implication of one or more factors associated with the intensity of the syndrome.

The outbreak and impact of the disease can be influenced by many factors, a concept neatly expressed in the “epidemiological triad” of Snieszko (1974) and discussed more recently by Lightner and Redman (1998). The disease is an end result of a complex interaction between the shrimp, its environment and the pathogen itself. However, very few studies have investigated factors for bacterial disease in aquatic culture systems.

Environmental factors include all biotic or abiotic components of the farms and can be classified into physical, biological and farm management factors. The identification of these factors contributes greatly to a more targeted health management strategy including all decisions made that influence the expression of the disease (stocking density, water quality management, feeding management, pond bottom management) (Fegan and Clifford, 2001; Lotz et al., 2001). The aim of the present study was to identify the major zootechnical and environmental factors which trigger the Summer syndrome by studying data from farms affected (farm DF) or not (farms HC) by the disease.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Growout ponds

Shrimp aquaculture in HC farms is carried out in large earthen ponds (3 to 10 ha) built on salt marshes (Herlin, 1999). Ponds are filled with filtered water (700 µm) using pumps and are drained by gravity. Post-larvae are stocked between 20 and 40 per m<sup>2</sup>. In summer, growout lasts 5 months, after which shrimp reach a mean weight in the range 18–40 g. The mean yield ranges from 2 to 5.5 tonnes per hectare and per year, depending upon management strategies (semi-intensive without aeration or intensive with aeration). Farm DF has a similar pond size between 3.3 and 3.7 ha, for a total surface of 34 ha. Ponds are equipped with aerators.

### 2.2. Data farm records

A first data base gathering all of the synthetic data (stocking density, stocking date, crop duration, sun drying

duration, food conversion ratio, survival, feed distributed, etc...) of crops carried out in New Caledonia between 1991 and 2002 was used. It includes 707 crops derived from eight farms. A second data base gathering 39 rearings stocked in the inter-season (August–November) between 1991 and 2002 in farm DF and 74 rearings from farms HC were analyzed. The “Summer syndrome” was observed in 26 rearings on farm DF. Records of weekly growth data, daily distributed feed, the daily number of dead shrimp, final survivals, daily water exchange, daily oxygen and temperature (6:00 AM and 4:00 PM) and salinity (about twice a week) were taken from the farms’ record books. Daily pond mortality was evaluated by counting dead and moribund shrimp on the pond edges and on feeding control trays. Feed conversion ratio is the total amount of feed distributed in a pond relative to the wet weight gain of shrimp biomass. Nitrogen and water content in the feed was provided by the manufacturer.

### 2.3. Water quality survey

Chlorophyll-a analysis was carried out over the first 120 days of rearing in two ponds in 1994 and three ponds in 2001 by a scientific team. The second data base described above includes these five rearings. Water samples were collected in the morning twice a week. To estimate Chlorophyll-a (chl-a) concentration, water samples of 25 ml were filtered through GF/F Whatman filters and analysed by the fluorometric method before and after acidification (Holm-Hansen et al., 1965).

### 2.4. Data and statistical analysis

A non-linear power regression ( $y=ax^b$ ) was applied to weight data from day 0 to day 120 after stocking (Statview computer software). The growth rate was calculated from the regression ( $P>0.99$ ). Shrimp weight and growth rate were calculated at d50 (d as day), just before the first mortality was observed in farm DF, in order to see if they could be potential triggering factors of the disease.

The comparisons of (i) the weight, the growth, and the days at which first dead shrimp were observed between stocking months and (ii) the final density and survival between years were carried out with ANOVA. Survival rates were arcsin transformed prior to statistical analysis. Regression analysis were used to correlate (i) the number of dead shrimp observed on pond edge between d50 and d120 and time (ii) survival at the end on the rearing and stocking density, (iii) final survival with the number of day when mortality was observed on the pond edges or on feeding trays and (iv) between stocking density and final density.

Considering the strategy of Boyd and Tucker (1995), a gross mass balance for the fate of nitrogen in feed added to shrimp ponds after 50 days of rearing was developed based on estimates of survival, the amount of feed added, the nitrogen content of feed and shrimp. The concentrations were  $70.1\pm 1.1$  and  $32.2\pm 4.6$  mg g<sup>-1</sup> wet weight respectively (Martin et al., 1998; Lemonnier et al., 2003).

Descriptive statistics are presented as a mean, standard deviation of the mean, minimum (min), maximum (max) and frequency. Regression analysis was carried out to determine the relationship between zootechnical results.

## 3. Results

### 3.1. Mortality characteristics

Abnormal mortalities appeared in December 1997 in two ponds at d68 and d72 of rearing and since 1998 have been observed in all the ponds stocked in the warm season. The disease started to appear in November for stockings made in August, and in December for stockings made in September and October. Mortality for crops stocked in September to November appeared 56±6 days after stocking ( $N=23$ ). If the ponds were stocked in August, mortality appeared significantly later ( $p<0.01$ ), 72±3 days after stocking ( $N=3$ ), but at the same weight ( $4.3\pm 0.6$  g) ( $p>0.05$ ) and growth rate ( $0.17\pm 0.01$  g/day) ( $p>0.05$ ).

Table 1

Number of crops studied ( $N$ ), mean final survival, final density, number of dead shrimp counted between d25 and d120 on pond edges and on feeding trays, mortality outbreak characteristics on the diseased farm DF

Years	$N$	Final survival (%)	Final density (shrimp/m <sup>2</sup> )	Number of dead shrimp on pond edges	Number of dead shrimp on feeding trays	Mortality characteristics
1997	2	30.5±2.1	10.7±0.3	697±57	75±69	Weak
1998	7	36.7±4.5	10.0±1.4	325±364	10±5	Weak and chronic
1999	5	25.4±5.0	6.9±1.2	435±303	84±61	Weak and chronic (2 crops) Successive peaks (3 crops)
2000	7	22.3±2.6	7.5±0.7	1055±719	256±128	5 or 6 successive peaks
2001	5	30.9±6.9	9.8±1.3	1800±2658	364±264	2 high successive peaks

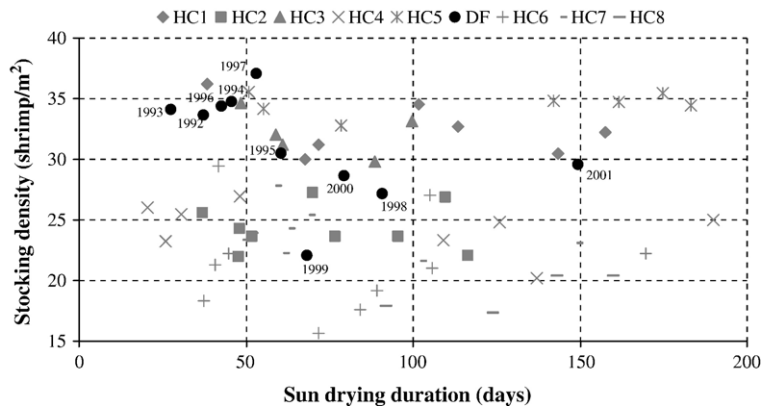


Fig. 1. Annual average stocking density (shrimp/m<sup>2</sup>) in relation with annual average sun drying duration (days) in different farms in New Caledonia. Circles in black represent DF.

The intensity of mortality was variable, depending on the pond and the year. Mortality can be weak but chronic, or it can be expressed more strongly and most noticeably. In this case, mortality outbreaks follow a Gaussian curve and are successive within a pond (unpublished data). Table 1 summarizes the characteristics of mortalities from 1997 to 2001. The number of dead shrimp observed on pond edges increased between 1997 and 2001 as an exponential curve ( $y = 11.6 \text{ Exp}^{(0.46x)}$ ;  $x$  is the age of the farm). Some very high mortality levels occurred in some crops with more than 500 dead shrimp noticed on pond edges. This was observed four times between 1998 and 2001 when oxygen values were low in the morning (<1.5 mg/L) or in the evening (<5 mg/L).

The final survival decreased significantly with the cumulated number of days when mortality was observed (negative linear regression,  $r^2 = 0.47$ ,  $p < 0.01$ ). Mean final density and mean survival (Table 1) ranged from 6.9 and 10.7 shrimp/m<sup>2</sup> and from 22.3% and 36.7% respectively. 1999 and 2000 showed the lowest final density and survival ( $p < 0.05$ ). There is a significant relationship ( $p < 0.05$ ) between stocking density (SD) and survival ( $S$ ) at the end of the rearing ( $S = 57.9 - 0.95 \times \text{SD}$ ). This correlation explains only 24.3% of the variability observed for survival. Ponds stocked with the highest density (39 shrimp/m<sup>2</sup>) show the lowest final survival (<20%). However, there is no significant correlation between stocking density and final density ( $p > 0.05$ ).

3.2. Farm management practices

A change in management practices was observed between 1991 and 2001. The average length of sun-drying increased significantly over these years, from  $37 \pm 10$  days to  $156 \pm 34$  days (positive linear regression,  $r^2 = 0.68$ ,

$p < 0.01$ ). However, sun drying was extremely short between some crops and lower than 10 days during the first six years. From 1998 up to now, all the ponds were dried between May and August. The highest stocking density was observed in 1997, which was the first year with mortality related to *V. nigripulchritudo* (Goarant et al., 2004) (Fig. 1). Thereafter, stocking density tended to decrease. Fig. 1 compares farm DF management with HC farms management by taking into account the stocking density and the length of sun drying. Before and at the onset of the disease, farm DF is characterized by the highest stocking density associated with the shortest drying duration.

3.3. Pond management practices

Between 1991 and 2002 and for ponds stocked in September to November, growth calculated at d50 increased significantly over the years in all farms, including farm DF (Fig. 2). In farm DF, this corresponds

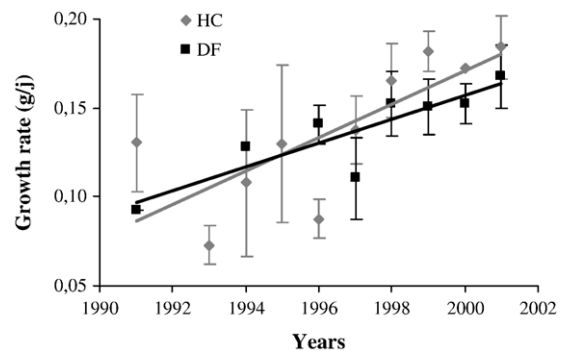


Fig. 2. Mean growth rate in relation to time in control farms (HC) and diseased farm (DF) 50 days after stocking.

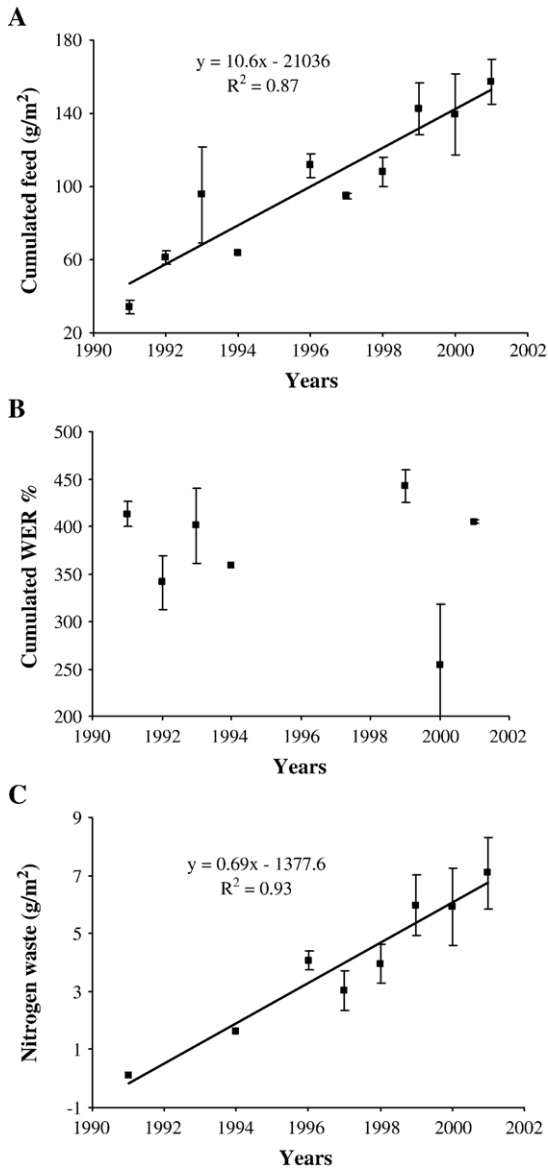


Fig. 3. The sum total of feed ( $N=35$ ) (A), water exchange ( $N=24$ ) (B) and nitrogen waste input in the first 50 days after stocking plotted against time in the disease farm (farm DF).

to an increase in mean weight after 50 and 120 days of rearing from 2.6 to 4.6 g and 12.6 to 22.9 g respectively. In parallel, the cumulated food distributed on the first 50 days after stocking in farm DF increased from 34 to 157 g/m<sup>2</sup> respectively (Fig. 3A). The percentage of nitrogen in the feed increased also significantly with year from 5.8% to 6.5% (positive linear regression,  $r^2=0.75$ ,  $p<0.01$ ). Water management did not change between 1991 and 2002 (Fig. 3B). Fig. 3C shows an increase in nitrogen waste produced in relation with the year from 0.8 to 7.9 g/m<sup>2</sup>.

### 3.4. Pond environment and development of the disease

Table 2 (mean±SD, mini, maxi) shows the water characteristics observed the day when the first dead shrimp were observed. The temperature ranged from 24 to 29.9 °C in the morning and from 24 to 32.5 °C in the evening. The first dead shrimp were observed both during the increase or decrease period of the temperature. Oxygen AM ranged from 1.1 to 4.7 mg/L. Salinity varied between 36‰ and 41‰ according to the years and from the ponds.

The distribution of abiotic factors in relation to mortalities observed between d50 and d120 ( $N=944$ ) were calculated. The observations are centred a temperature, salinity, morning and evening oxygen at 29 °C, 37‰, 4 mg/L and 10 mg/L respectively. Oxygen AM minima and maxima were 1 and 7 mg/L. The values for oxygen PM were 3.3 and 20 mg/L. Salinity ranged from 35‰ to 41‰ and mean temperature from 22.7 and 32.9 °C.

Table 2

Temperature, oxygen, salinity at which first dead shrimp were observed in diseased farm DF for crops affected by the “Summer Syndrome” ( $N=26$ )

Years	Code	$T_{am}$ (°C)	$T_{pm}$ (°C)	Oxygen am (mg/L)	Oxygen pm (mg/L)	Salinity (‰)
1997	92	29.0	31.0	4.0	8.3	40
1997	93	28.0	31.0	2.2	7.0	40
1998	101	24.4	<u>24.0</u>	nd	nd	40
1998	102	<u>24.0</u>	26.0	nd	nd	36
1998	103	<u>24.0</u>	24.0	nd	nd	36
1998	104	27.5	31.0	nd	nd	39
1998	105	26.0	28.0	nd	nd	38
1998	106	28.0	31.0	nd	nd	38
1998	107	27.5	30.0	nd	nd	37
1999	116	26.1	29.2	nd	nd	nd
1999	117	28.0	31.5	4.0	nd	nd
1999	118	27.1	32.1	4.5	nd	nd
1999	119	28.3	29.5	4.0	nd	nd
1999	120	28.0	31.5	4.0	nd	nd
2000	129	24.5	27.7	3.2	9.2	<b>41</b>
2000	130	25.3	27.8	4.5	<b>10.7</b>	37
2000	131	26.5	28.1	<u>1.1</u>	<u>3.3</u>	39
2000	132	28.7	29.2	4.0	8.7	37
2000	133	24.8	26.4	4.0	9.7	37
2000	134	26.0	28.0	4.0	5.3	38
2000	135	28.2	30.1	2.5	8.5	38
2001	136	29.3	30.3	3.5	8.5	37
2001	137	24.4	27.2	4.2	7.3	37
2001	138	28.2	31.4	4.2	7.8	37
2001	140	<b>29.9</b>	<b>32.5</b>	4.0	8.3	39
2001	142	26.0	28.6	<b>4.7</b>	9.0	38
Mean		26.8	29.3	3.7	8.0	38
S.D.		1.8	2.1	0.9	1.9	1

Bold data is the maxima; Underlined data is the minima.

nd: not determined.



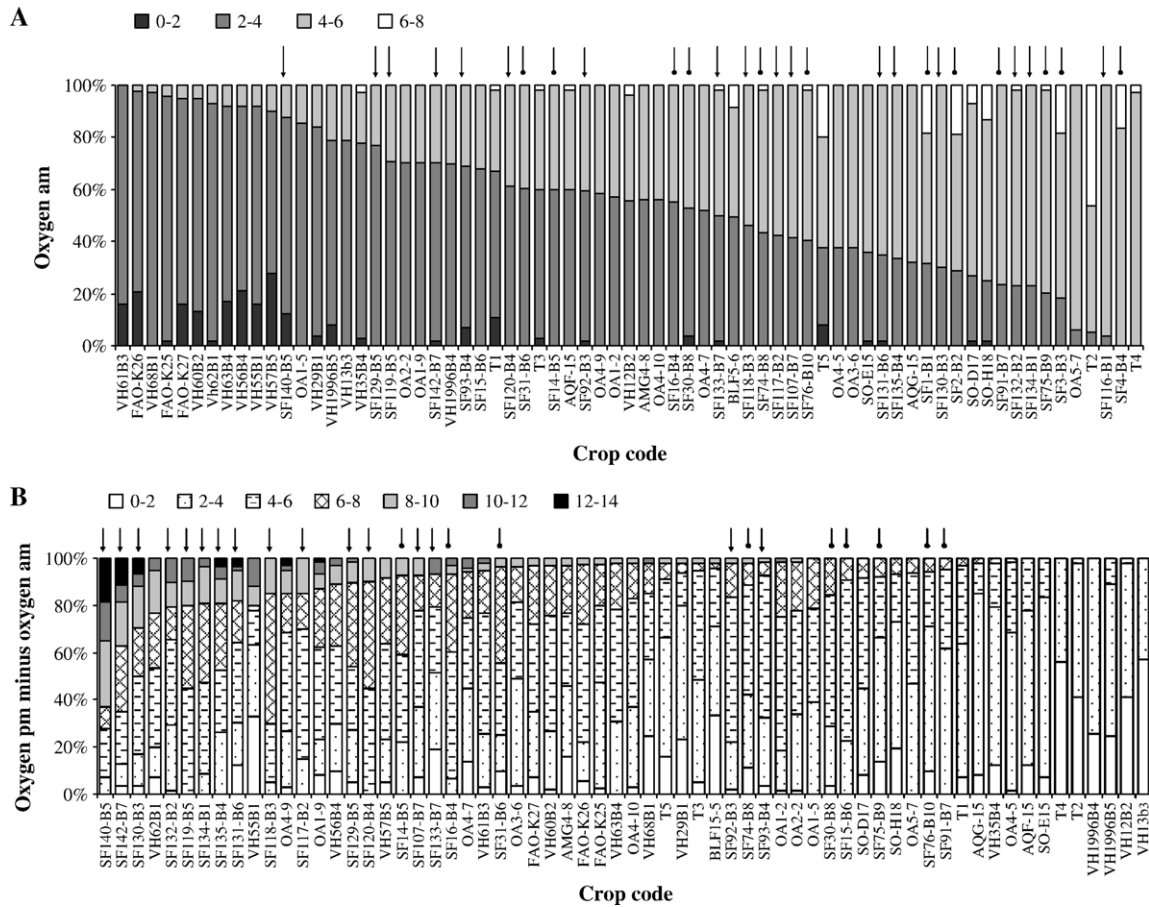


Fig. 4. Oxygen morning (A) ( $N=69$ ) and net oxygen budget (B) ( $N=62$ ) distribution (%) measured between d60 and d120 for ponds stocked between September to November. Values are expressed as class frequency. Crop were classified with frequency  $<4$  mg/L (A) and  $>8$  mg/L (B)° DF with Summer syndrome ↓; without Summer syndrome ●.

Oxygen AM and net oxygen budget distribution (%) measured between d60 and d120 for ponds stocked between September and November are shown on Fig. 4. More than 60 crops reared in farms DF or HC between 1991 and 2001 are represented on these graphs. Crops affected by the Summer Syndrome are not specifically related to the low dissolved oxygen values observed on the left of Fig. 4A. The weakest distributions were found for semi-intensive rearing without aeration, which is not the case of farm DF. However, the crops with mortality show large variations in oxygen concentrations between morning and evening (Fig. 4B).

We found a significant increase in the frequency of the net oxygen budget, which was higher than 8 mg/L in farm DF farm over the years. This increased from 1% to 49% between 1996 and 2001 ( $Y(\%)=0.52 e^{0.77x}$ ;  $x$ =number of years from 1996;  $r^2=0.97$ ;  $N=6$ ).

A survey conducted in farm DF in 2001 showed an increase of chlorophyll-a concentrations in the water

column in parallel with the mortality outbreaks observed in three ponds after 69, 73 and 76 days of rearing respectively (Fig. 5). This figure also shows that the increase of the chlorophyll-a concentration in the water

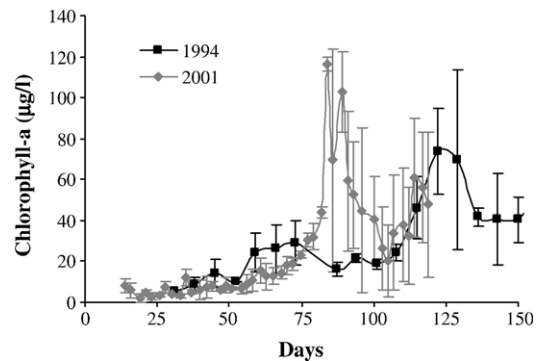


Fig. 5. Daily average chlorophyll-a concentrations in ponds stocked in August 1994 ( $N=2$ ) and August 2001 ( $N=3$ ) in disease farm (DF).



column occurred earlier in 2001 than in 1994. Concentration of chlorophyll-a (>40 µg/L) increased after 110 days after stocking in 1994 and after only 75 days in 2001. Net oxygen budget was significantly correlated with chlorophyll-a concentration in the water column ( $Y=1.215 e^{0.393x}$ ;  $x$ =chlorophyll-a concentration;  $Y$ =net oxygen budget (mg/L);  $r^2=0.65$ ;  $N=131$ ).

#### 4. Discussion

Before and during the Summer syndrome and compared to the other farms, farm DF cumulated the shortest drying time and the highest stocking densities. Duration of sun drying and stocking densities are listed as major causes of the appearance and/or amplification of the pathology (Bell and Lightner, 1987; Lightner, 1993). For example, disease occurrence in shrimp ponds in Hainan in China was closely associated with excessive stocking density (Spaargaren, 1998). The objective of a drying period is to aerate soil and encourage oxidation of reduced inorganic compounds and organic matter. Pond drying can greatly retard the rate of organic matter accumulation in pond bottom soil (Boyd, 1995). The short drying time on farm DF could have led to an accumulation of organic matter which was favourable to the development of *Vibrio* and pathogens. In fact, *Vibrio* are more frequent where soft benthos occurs in combination with high organic loads, (Balebona et al., 1998). *Vibrio* can be considered as good indicators of organic enrichment in sediment (La Rosa et al., 2001). In August 2000, sediment was removed from all pond bottom and water supply canals and the drying duration increased between 1998 and 2001. However, no positive consequences on the disease following these practices were found. It was shown that thorough drying of the soil eliminates *Vibrio*, populations that get established within the ponds always enter with the incoming water (Lavilla-Pitogo et al., 1998). Goarant et al. (2006) suggest that, between crops, there could be a persistence of pathogenic strains at low concentrations in wet zones of the pond sediment in farm DF, with a possible development during the rearing cycle as a cause of shrimp infection. Proper pond preparation has been found to be the most successful way to prevent disease problems in subsequent production cycles (Nash, 1990) but does not seem to have a curative effect.

The severity of the “Summer syndrome” is correlated with stocking density. However, the correlation between stocking density and final survival explains only 24.3% of the survival variability. We have also noted that final density remains the same regardless of stocking density and ranges between 6.9 and 10.7 shrimp/m<sup>2</sup>. Caldéron

et al. (2000) reported that a lower incidence of WSSV-positive samples was reported in ponds stocked at less than 7.5 shrimp/m<sup>2</sup>. We can conclude that density has a weak but significant effect on the severity of the disease. However, we believe that very high stocking densities increase the risk of transmission of the disease within the pond. Indeed, by increasing density, cannibalism can contribute to the rate of transmission of the disease (Fegan and Clifford, 2001). Moreover, high pond densities will facilitate the spread of pathogens between ponds (Kautsky et al., 2000).

Mortality increased between 1998 and 2001 without having an obvious impact on final survivals. The mortality was higher and faster. In parallel, the growth rate increased and as a probable consequence, there was an increase in molting frequency. High molting frequency could increase the exposure frequency to the pathogen and/or decrease the shrimp’s ability to combat stress. Le Moullac et al. (1997) observed significant changes of total hemocyte count (THC) and phenol oxydase (PO) activity in premolt and intermolt shrimp. In an experimental infection, the authors confirmed that at the premolt stage, the shrimp are more sensitive to infection, exhibiting 48% mortality during premolt, and only 21% mortality during intermolt. This increase of growth rate over the years also occurred on the other farms, without the development of the disease. However, an increasing growth rate could play a part in the expression of the disease. This hypothesis has to be tested and the consequence on the molting frequency has to be studied.

Between 1991 and 2002, the change in growth rate on farm DF could be explained by the increase (i) of feed input and (ii) of the percentage of nitrogen in the feed. At the same time, water management did not change and induced an increase in environmental waste production (Lemonnier and Faninoz, 2006). As a consequence of the increasing environmental waste production, an earlier eutrophication of water was observed, which was concomitant with the outbreaks of mortality. The significant regression of net oxygen budget versus chl-a indicates that these two parameters are closely related. We found a significant increase in the frequency of the net oxygen budget on farm DF in relation to time. This result suggests an increase of the eutrophication level with time. In a survey conducted in 2002–2003, *V. nigripulchritudo* was found for the first time in the water column on day 44. It was detected more frequently and at higher concentrations during the outbreak (Goarant et al., 2006) and the eutrophication of the pond ecosystem (Lemonnier and Personnel du LAC, 2004). This early eutrophication was not observed on farms HC and could have an effect on the growth and virulence of *V. nigripulchritudo*. Horowitz

and Horowitz (2001) reported that pathogenic and opportunistic bacteria thrive in eutrophic environments more than in oligotrophic environments that are poor in nutrients and organic matter. In New Caledonia, the Syndrome 93 mortality was correlated to the abundance of both picoplankton and *Vibrio* and to the pheopigment concentration and to a lesser extent to chlorophyll-a and particulate matter concentrations (Lefevre et al., 2004). However, the eutrophication level was not the sole explanation for the disease. Level observed in this study ( $>60 \mu\text{g/L}$ ) was measured sometimes in other pond environment without disease outbreak but later during the rearing (Martin et al., 1998; Lemonnier and Personnel du LAC, 2004; Lemonnier and Faninoz, 2006).

Low oxygen levels were sometimes recorded in parallel with very strong mortalities and appear to exacerbate losses due to the Summer Syndrome. A low level of oxygen increases the sensibility to vibriosis in penaeid shrimp (Le Moullac et al., 1998). However, as a general rule, oxygen, salinity and temperature remain in a range considered as not stressful for shrimp. There was no difference in oxygen level in the morning between farms HC and DF farm. DF farm is characterized by a stronger variability of its pond environment in comparison to the other farms in the industry.

Excessive daily fluctuations in oxygen concentration were recorded at the beginning and during the Summer syndrome mortalities. Daily variability of dissolved oxygen appears to exacerbate losses due to the white spot syndrome virus (Fegan and Clifford, 2001). Excessive fluctuations in abiotic factors like oxygen, salinity and temperature can increase the susceptibility of shrimp to disease (Kautsky et al., 2000). Fluctuations in normal environmental conditions have a significant effect on the virulence of *Vibrio harveyi*, with salinity being more lethal to shrimp than temperature (Shivappa, 1997).

## 5. Conclusion

Factors like high growth rate, although it was recorded without causing major losses in other farms, could be considered as a weakening factor for shrimp. Temperatures higher than 23–24 °C seem to be necessary for the disease to develop with a range of 26 and 32 °C is the most appropriate. An early eutrophication of water could play a role by inducing directly or indirectly a stress for shrimp and/or a growth and/or virulence factors of *V. nigripulchritudo*. However, factors may act synergistically to explain the Summer Syndrome. These hypotheses have to be tested. During the summer of 2002–2003, a field survey on the changes on (1) the pond ecosystem, (2) the biological character-

istics, the physiological and immunological status of the shrimp and (3) the pathogen was conducted on two farms, one affected by the disease and the other not. For the study of the pond ecosystem, a sampling strategy of the chemical and biological parameters (water column and sediment) was carried out in order to validate the observations resulting from the farm data. The results of the pond ecosystem analysis and shrimp physiology/immunology are currently being analyzed and will hopefully bring new insights to this disease.

## Acknowledgement

This work was supported by research grants from the Northern and Southern Provinces of New Caledonia. The authors would like to thank the owners of the private farms and their employees for allowing us access the data and permitting to publish these results. We also want to thank D. Coatanea, J. Herlin, A.L. Marteau, C. Mugnier, J. Patrois, Y. Thomas, B. Wapoto of the Département Aquacole Calédonien who kindly helped us for this work.

## References

- Balebona, M.C., Andreu, M.J., Bordas, M.A., Zorrilla, I., Moriñigo, M.A., Borrego, J.J., 1998. Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* for cultured gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.). Applied and Environmental Microbiology 64, 4269–4275.
- Bell, T.A., Lightner, D.V., 1987. An outline of penaeid shrimp culture methods including infectious disease problems and priority drug treatments. Veterinary and Human Toxicology 29 (1), 37–43.
- Boyd, C.E., 1995. Bottom Soils, Sediment and Pond Aquaculture. Chapman and Hall editions, New York, USA. 348 pp.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1995. Sustainability of channel catfish farming. World Aquaculture 26 (3), 45–53.
- Caldéron, J., Bayot, B., Sonnenholzner, S., Comejo, M.H., Melana, J., Panchana, F., 2000. El mundo Acuicola, vol. 6. Fundacion CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador, pp. 13–17.
- Costa, R., Mermoud, I., Koblavi, S., Morlet, B., Haffner, P., Berthe, F., Legroumellec, M., Grimont, P., 1998. Isolation and characterization of bacteria associated with *Penaeus stylirostris* disease (Syndrome 93) in New Caledonia. Aquaculture 164, 297–309.
- Fegan, D.F., Clifford III, H.C., 2001. Health management for viral diseases in shrimp farms. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society Baton Rouge, Baton Rouge, Louisiana, United States, pp. 168–192.
- Goarant, C., Merien, F., Berthe, F., Mermoud, I., Perolat, P., 1999. Arbitrarily primed PCR to type *Vibrio* spp. pathogenic for shrimp. Applied and Environmental Microbiology 65, 1145–1151.
- Goarant, C., Herlin, J., Imbert, F., Domalain, D., Marteau, A.L., 2004. Epidémiologie de *Vibrio nigripulchritudo* dans le cadre du syndrome d'été: résultats préliminaires du programme Désans. Styli 2003. Trente ans de Crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Nouméa-Koné, 2–6 Juin 2003. Actes Colloq., vol. 38. IFREMER, pp. 210–215.

- Goarant, C., Ansquer, D., Herlin, J., Domalain, D., Imbert, F., De Decker, S., 2006. "Summer syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. *Aquaculture* 253, 105–113.
- Goarant, C., Reynaud, Y., Ansquer, D., de Decker, S., Saulnier, D., Le Roux, F., in press. Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia. *Systematic and Applied Microbiology*, Available online 18 January 2006.
- Harache, Y., Herbland, A., 2004. Le programme Désans (Défi Santé Stylirostris) : une démarche comparable au défi Morest appliqué à la filière crevette calédonienne. *Styli* 2003. Trente ans de Crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 Juin 2003. Actes Colloq., vol. 38. IFREMER, pp. 31–39.
- Herlin, 1999. Prawn farming in New Caledonia. In: Rosenberry, B. (Ed.), *World Shrimp Farming 1999*. *Shrimp News International*, vol. 13.
- Holm-Hansen, O., Lorenzen, C.J., Holmes, P.E., Strickland, J.D.H., 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du Conseil, Conseil International Pour l'Exploitation de la Mer* 30, 3–15.
- Horowitz, A., Horowitz, S., 2001. Disease control in shrimp aquaculture from a microbial ecology perspective. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Baton Rouge, Louisiana, United States, pp. 199–218.
- Kautsky, N., Rönnbäck, P., Tedengren, M., Troell, M., 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191, 145–161.
- La Rosa, T., Mirtó, S., Mazzola, A., Danovaro, R., 2001. Differential responses of benthic microbes and meiofauna to fish-farm disturbance in coastal sediments. *Environmental Pollution* 112, 427–434.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Leano, E.M., Paner, M.G., 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent *Vibrios* in the rearing environment. *Aquaculture* 164, 337–349.
- Lefevre, J., Lemonnier, H., Goarant, C., Blanchot, J., 2004. Evolution des paramètres physico-chimiques et biologiques de bassins d'élevage de crevettes soumis à deux régimes de renouvellement en eau avant et pendant des mortalités de type « syndrome 93 ». *Styli* 2003. Trente ans de Crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 Juin 2003. Actes Colloq., vol. 38. IFREMER, pp. 158–166.
- Lemonnier, H., Faninoz, S., 2006. Effect of water exchange on effluent and sediment characteristics and on partial nitrogen budget in semi-intensive shrimp ponds in New Caledonia. *Aquaculture Research* 37, 938–948.
- Lemonnier, H., Personnel du LAC, 2004. Environnement bassin et vibriose dans des élevages de crevettes de saison chaude en Nouvelle Calédonie : résultats préliminaires du programme Désans. *Styli* 2003. Trente ans de Crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 Juin 2003. Actes Colloq., vol. 38. IFREMER, pp. 180–186.
- Lemonnier, H., Martin, J.L.M., Brizard, R., Herlin, J., 2003. Effect of water exchange rate on waste production in semi intensive shrimp ponds during the cold season in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society* 34 (1), 40–49.
- Le Moullac, G., Le Groumellec, M., Ansquer, D., Froissard, S., Levy, P., 1997. Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with molt cycle: protection against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology* 7, 227–234.
- Le Moullac, G., Soyez, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J.C., Levy, P., 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish and Shellfish Immunology* 8, 621–629.
- Lightner, 1993. Diseases of cultured shrimp. In: Mc Vey, J.P. (Ed.), *Handbook of mariculture: Crustacean Aquaculture*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL 1, pp. 393–486.
- Lightner, D.V., Redman, R.M., 1998. Shrimp diseases and current diagnosis methods. *Aquaculture* 164, 201–220.
- Lotz, J.M., Davidson, J., Soto, M.A., 2001. Two approaches to epidemiology in shrimp aquaculture disease control. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society Baton Rouge, Baton Rouge, Louisiana, United States, pp. 219–225.
- Martin, J.L.M., Veran, Y., Guelorget, O., Pham, D., 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output; their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture* 164, 135–149.
- Mermoud, I., Costa, R., Ferré, O., Goarant, C., Haffner, P., 1998. 'Syndrome 93' in New Caledonia outdoor rearing ponds of *Penaeus stylirostris*: history and description of three major outbreaks. *Aquaculture* 164, 323–335.
- Mugnier, C., Justou, C., Personnel du LAC, 2004. La crevette et le Syndrome d'été en Nouvelle Calédonie: quelles réponses physiologiques et immunitaires ? Résultats préliminaires du programme Désans. *Styli* 2003. Trente ans de Crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Nouméa-Koné, 2-6 Juin 2003. Actes Colloq. IFREMER, pp. 85–92.
- Nash, G.L., 1990. *Penaeus monodon* grow-out diseases. In: *Proceeding of the Aquatech'90 Conference Kuala Lumpur*, New, Michael B. New, Henri de Saram and Tarlochan Singf Editors, Malaysia, 11–14 June 1990, pp. 172–182.
- National Oceanic and Atmospheric Administration, U.S. department of Commerce, 2005. <http://www.cdc.noaa.gov/people/klaus.wolter/MEI/mei.html#LaNina>.
- Nicot, J.B., Delcroix, T., 2000. ENSO-Related Precipitation Changes in New Caledonia, Southwestern Tropical Pacific: 1969–98. *Monthly Weather Review* vol. 128 (8), 3001–3006.
- Shivappa, R.B., 1997. Efficacy of probiotics and disinfectants in controlling luminescent bacteria in shrimp post larvae under normal and stressed conditions. MSc Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok.
- Snieszko, S.F., 1974. The effect of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fish. *Journal of Fisheries Biology* 6, 197–208.
- Spaargaren, D.R., 1998. Cultivation of tiger prawns, *Penaeus monodon*, Fabricius, 1798 (Decapoda Natantia) in Hainan, PR China. *Crustaceana* 71 (2), 144–157.



### **Annexe 3**

Hugues Lemonnier, Eric Bernard, Eric Boglio, Cyrille Goarant, Jean-Claude Cochard

Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect





## Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect

Hugues Lemonnier<sup>a,\*</sup>, Eric Bernard<sup>b</sup>, Eric Boglio<sup>a</sup>,  
Cyrille Goarant<sup>a</sup>, Jean-Claude Cochard<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire d'Aquaculture de Calédonie, IFREMER, BP 2059, 98846 Nouméa, Nouvelle Calédonie, France

<sup>b</sup>Aquacop, Centre Océanologique du Pacifique, IFREMER, BP 7004, Taravao, Tahiti, Polynésie Française, France

Received 5 February 2004; received in revised form 29 June 2004; accepted 1 July 2004

---

### Abstract

Penaeid shrimp reared in earthen ponds are exposed to sediment, which can, in some instances, induce a stress. In seawater, the osmoregulatory capacity (hyporegulation) is a useful tool to compare the physiological condition of shrimp exposed to various stressors. By keeping some shrimp in cages at different locations of a single pond heterogeneous in terms of sediment quality, it was possible, using osmotic pressure (OP), to identify some locations where the stress was maximum and some others where it was minimum. Simultaneously, sediment samples were taken and analysed in order to evaluate some physico-chemical parameters that could be related to the stress observed in the shrimps kept in the cages. This approach allowed to show a significant positive correlation between the pH of the sediment surface and the shrimp osmotic pressure. This result was confirmed in a study carried out in experimental 70-l tanks, where osmotic pressure decreased significantly as water pH decreased from 7.0 to 6.5. The methodology developed in this study may be useful to evaluate the stress caused by sediment in shrimp farms.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

*Keywords:* Shrimp physiology; Osmotic pressure; Stress; Sediments; pH

---

\* Corresponding author. Tel.: +687 28 51 71; fax: +687 28 78 57.

*E-mail address:* [hlemonni@ifremer.fr](mailto:hlemonni@ifremer.fr) (H. Lemonnier).

## 1. Introduction

Bottom soil quality has long been recognised as a factor influencing water quality and aquatic animal production (Hussenot and Feuillet-Girard, 1988; Boyd, 1990; 1992; Munsiri et al., 1996). Pond bottom conditions are particularly critical for shrimp as they spend most of their time on the bottom, burrow into the soil and ingest some of it (Boyd, 1989; Chien, 1989). During grow-out, nutrients and organic residues tend to accumulate on the bottom and an excessive accumulation may result in the deterioration of the pond system. However, deposition is not uniform across the pond (Avnimelech, 1995; Smith, 1996; Lemonnier et al., 2002). Avnimelech (1995) estimated that the area covered by sludge in typical shrimp ponds in Thailand reaches nearly 50% of the pond area, and suggested that shrimp growth, activity and health may be negatively affected in this zone. In intensive system, Delgado et al. (2003) found that shrimp abundance was significantly lower in the central sediment enriched zone, suggesting that conditions may have been less suitable for shrimp growth and health. Avnimelech and Ritvo (2003) in a review reported that accumulated sediments in shrimp ponds are highly reduced, enriched in organic matter and enriched in nitrogen and phosphorus. It is possible that toxic anaerobic products originating from the sediment may influence stress in shrimps, reducing vitality and disease resistance. Reduced feeding, slower growth (Ram et al., 1982; Avnimelech and Zohar, 1986), low survival (Hopkins et al., 1994; Lemonnier and Brizard, 2001) and possibly higher sensitivity to disease are reported in relation with deterioration of the pond bottom (Avnimelech and Ritvo, 2003). The lack of knowledge on this important topic points out the need for more research (Avnimelech and Ritvo, 2003). In fact, different methodologies were developed to analyze sediment quality (Boyd, 1995; Hussenot and Martin, 1995), and to test the toxicity of sediment on shrimp survival or weight gain in field laboratory (Moraes et al., 2000; Ritvo et al., 1998a, b, 2000). However, little has been done to study the effect of sediment on shrimp physiology in either field or laboratory experiments.

Variation in osmotic regulation can be used as a non-specific indicator for detecting physiological stresses in invertebrates including in *Litopenaeus stylirostris* (Giesy et al., 1988; Mayer et al., 1992; Lagadic et al., 1994). The blue shrimp *L. stylirostris* is a hypo-osmoregulator in seawater. Haemolymph osmotic pressure (OP) has been proposed as a parameter for the evaluation of the physiological state of penaeids (Charmantier et al., 1989) as it is influenced by a large variety of environmental parameters (Lignot et al., 2000). In previous studies, osmotic hyporegulation has been demonstrated to be sensitive to ammonia (Lin et al., 1991; Young-Lai et al., 1991; Lin et al., 1993; Mugnier and Justou, 2004), oxygen depletion (Charmantier et al., 1994), temperature (Charmantier, 1975, 1987; Lemaire et al., 2002) heavy metals (Bambang et al., 1995a,b) and fenitrothion exposure (Lignot et al., 1997).

In a preliminary study (Cochard et al., 1997), OP appeared to be a convenient tool to detect areas of the rearing pond where sediments are degraded and potentially harmful to shrimp. The objective of the present study was to evaluate the stress caused by sediment on shrimps held in bottom cages at different points of the pond and correlate the level of stress with sediment parameters.



## 2. Material and methods

### 2.1. Field experiment

#### 2.1.1. Experimental design

*L. stylirostris* (Stimpson, 1874) were reared in a 1-ha earthen pond at the Laboratoire d'Aquaculture de Calédonie at less than 20 animals/m<sup>2</sup> according to the methods described by Aquacop (1984). Shrimps were caught in the pond and transferred into cages as fast as possible. Salinity and Secchi of the pond water were respectively 34‰ and 50 cm. The wire mesh cages were 100×50×15 cm, pore size was 8 mm. The mean weight of the shrimps was 13.2 g±1.9. Twenty to thirty shrimp were placed in each cage. The depth was measured at each point. These cages were carefully placed directly in contact with the sediment at 12 stations across the pond (stations 1 to 12), without sediment perturbation. After 24 h of exposure to the sediment, the shrimps were taken out of the cages. Cages were placed in and taken out of the water in a random order. Setting all cages in the water did not last more than 2 h. Cages were lifted up after about 24 h at a rate of one per 45 min. Therefore, shrimps stayed in the cages randomly from 22 to 28 h according to the stations studied. The experimental design used was the “randomized complete blocks design” (Sokal and Rohlf, 1981). The experiment was repeated four times (blocks A, B, C, D) over a 2-week period. Each time, two groups of shrimps (controls) were sampled in the same pond using a cast net, once in the morning and once in the afternoon.

#### 2.1.2. Stress measurement

Shrimps were transferred from the cages to aerated 30-l containers and immediately brought to the laboratory for haemolymph sampling. Molting stage was assessed by stereo-microscope examination of the uropod according to the method of Drach and Tchernifovtzeff (1967). Since haemolymph concentrations fluctuate with molt stage (Charmantier et al., 1994, Lignot et al., 1999), only shrimps in C and D0 molting stages were sampled to measure haemolymph osmotic pressure. The haemolymph was withdrawn from the ventro-lateral sinus of the abdomen into a 1.0-ml syringe. The OP was measured using 10 µl of haemolymph in a WESCOR 5500 vapor pressure osmometer and was expressed in mOsm/kg.

#### 2.1.3. Sediment characteristics

The sediment parameters were studied at each station respectively at the beginning of the first experiment and of the third experiment. The redox potential (Eh) was assessed in situ on the first centimetre using a specific electrode (Cofralab PT5700A) according to the method described by Hussenot and Martin (1995). In the same way, pH of pore water was measured directly in the first centimetre with a pH meter (Hussenot and Martin, 1995). The first centimetre layer of sediment was collected at each station using a 40-cm-long PVC tube of 10 cm diameter. Samples were removed manually in polypropylene sampling tubes. Twenty millilitres of each sediment sample was weighed before and after drying for 5 days at 60 °C to calculate water content. The loss of weight by ignition of the dry

sediment was determined at 550 °C for 5 h. One hundred grams of each sediment sample (100 g) were centrifuged at 2000×g for 30 min. The supernatant (pore water) was immediately filtered through 1.2-µm nominal pore size Whatman GF/C glass fibre filters before colorimetric analysis for total ammonia nitrogen TAN (N-NH<sub>3</sub>+N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (Koroleff, 1976) using a Technicon Autoanalyser (Treguer and Le Corre, 1975). N-NH<sub>3</sub> fraction was calculated according to the equation of Bower and Bidwell (1978) taking into account temperature, salinity and pH. The results show the means calculated from the two samplings.

## 2.2. Laboratory experiments

Shrimps (*L. stylirostris*, Stimpson, 1874) used in these experiments were reared in ponds according to the methods described by Aquacop (1984). The shrimps were captured using a cast net. The average weight of shrimps was 19 g. Only shrimps in C and D0 molting stages were sampled and were acclimated for 24 h in a 70-l experimental tank with aeration. The experiment was carried out twice in six closed tanks of 70-l capacity. Eight shrimps were placed in each tank for 24 h. Five pH levels between 6.0 and 8.0 were tested. At the beginning of the experiment, pH was adjusted with NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> solutions. The pH of the control group was 8.2 (marine water). Each tank was aerated. Temperature and salinity were respectively 26 °C and 36–37‰. During experiments, pH was controlled independently every hour and adjusted with NaOH (1 N) or hydrochloric acid (HCl 0.1 N) solutions. TAN concentration was measured after 6, 12, 18 and 24 h. After 24 h of exposure to

Table 1

Average and standard deviation of osmotic pressure of shrimps *L. stylirostris* (mOsm/kg) kept for 24 h in cages at different locations on the bottom of the pond and in the pond (control)

Cage	Day							
	Experiment A		Experiment B		Experiment C		Experiment D	
	Mean±S.D.	<i>n</i>	Mean±S.D.	<i>n</i>	Mean±S.D.	<i>n</i>	Mean±S.D.	<i>n</i>
1	846±24	15	849±21	14	882±26	10	847±26	13
2	815±20	14	839±28	11	853±25	13	855±16	14
3	848±22	11	810±17	14	852±23	12	847±30	13
4	849±23	8	852±19	14	832±24	9	862±13	9
5	844±21	12	832±30	7	848±18	6	853±20	7
6	836±32	14	862±16	8	872±27	9	875±21	7
7	837±19	12	870±21	12	848±13	9	859±21	13
8	843±13	13	857±31	15	858±24	13	853±26	11
9	827±14	6	870±16	13	869±25	5	863±31	10
10	849±20	10	868±10	4	867±30	10	882±18	9
11	883±23	10	870±21	10	868±17	9	848±20	10
12	875±27	14	867±20	14	879±22	11	868±17	12
Control AM	799±16	15	812±30	13	824±19	15	816±14	15
Control PM	813±18	12	813±17	15	831±14	13	811±14	13
Cage average	846		853		861		858	
Control average	805		813		827		814	

Table 2

Comparison between osmotic pressure in cage, between control and between cages and controls by Protected Least Significant Difference analysis

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Control 1	Control 2
1	–													
2	<b>0.002</b>	–												
3	< <b>0.001</b>	0.567	–											
4	0.281	0.059	<b>0.016</b>	–										
5	<b>0.044</b>	0.444	0.208	0.342	–									
6	0.496	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	0.101	<b>0.013</b>	–								
7	0.998	<b>0.002</b>	< <b>0.001</b>	0.293	<b>0.050</b>	0.509	–							
8	0.816	<b>0.003</b>	<b>0.001</b>	0.389	0.071	0.371	0.820	–						
9	0.201	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.029</b>	<b>0.003</b>	0.562	0.213	0.138	–					
10	<b>0.019</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.002</b>	< <b>0.001</b>	0.114	<b>0.023</b>	<b>0.011</b>	0.327	–				
11	<b>0.005</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.047</b>	<b>0.006</b>	<b>0.002</b>	0.176	0.741	–			
12	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.002</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	<b>0.016</b>	0.189	0.311	–		
Control 1	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	–	
Control 2	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	< <b>0.001</b>	0.344	–

Probabilities in boldface are significant at  $p < 0.05$ .

different pH levels, haemolymphs of shrimps were sampled for osmotic pressure measurements. Tanks were sampled randomly.

2.3. Statistics

Statistical comparisons of experimental data were performed by a two-way ANOVA followed by a Protected Least Significant Difference (PLSD) test and regression analysis using Statview 4.02 ®(Abacus Concepts) and ANOVA as described by Scherrer (1984). Results are presented as means±S.D. Difference was recorded as \*\* ( $p<0.01$ ) when highly significant and as ns when not significant ( $p>0.05$ ).

3. Results

3.1. Field experiment

3.1.1. Physiological aspects

Mean survival was 79 % (S.D.=±12%), and was not significantly different between cages ( $F_{11/36}=0.66, p=0.77$ ). Results of OP measurements are presented in Table 1. In seawater, an increase of OP indicates a dysfunction in osmoregulation associated with various stress. The two-way ANOVA showed a highly significant effect for sampling day ( $p<0.001$ ), cage ( $p<0.001$ ) and a highly significant interaction ( $p<0.001$ ). Captive shrimps showed an increased of OP in relation with the station zone. Comparison of the means by PLSD (Table 2) showed a significantly higher OP for all captive groups with some cages inducing a significant increase compare to others. Comparison of controls for the four series of experiments showed a variation with time ( $p<0.001$ ). However, there was no significant difference between morning and afternoon controls. Their mean was used to assess the effect of the cage on the OP. Fig. 1 illustrates the effect level of

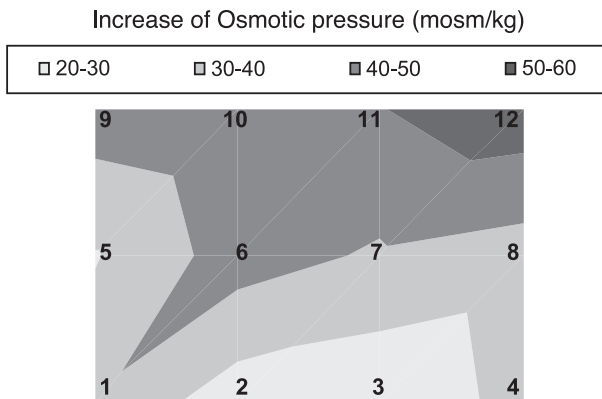


Fig. 1. Effect of level of cages on haemolymph osmotic pressure in pond. Values correspond to the difference between osmotic pressure in cage and osmotic pressure mean of the controls.

cages location in the pond. There is a gradient in the increase of OP between points 2 and 3 and point 12.

3.1.2. Sediment characteristics

Fig. 2 shows a schematic presentation of parameters studied in pond. Mean depth of the pond was 1.7 m. Stations 2, 3, 4 and 8 were the deepest stations. The loss by ignition was most important in stations 1, 2 and 4, which were characterised by fluid sediment (higher water content). TAN concentration was maximum in the centre of the pond. Variations of Eh and pH were concomitant with depth. The lowest redox and highest pH were found at the deepest point of the pond.

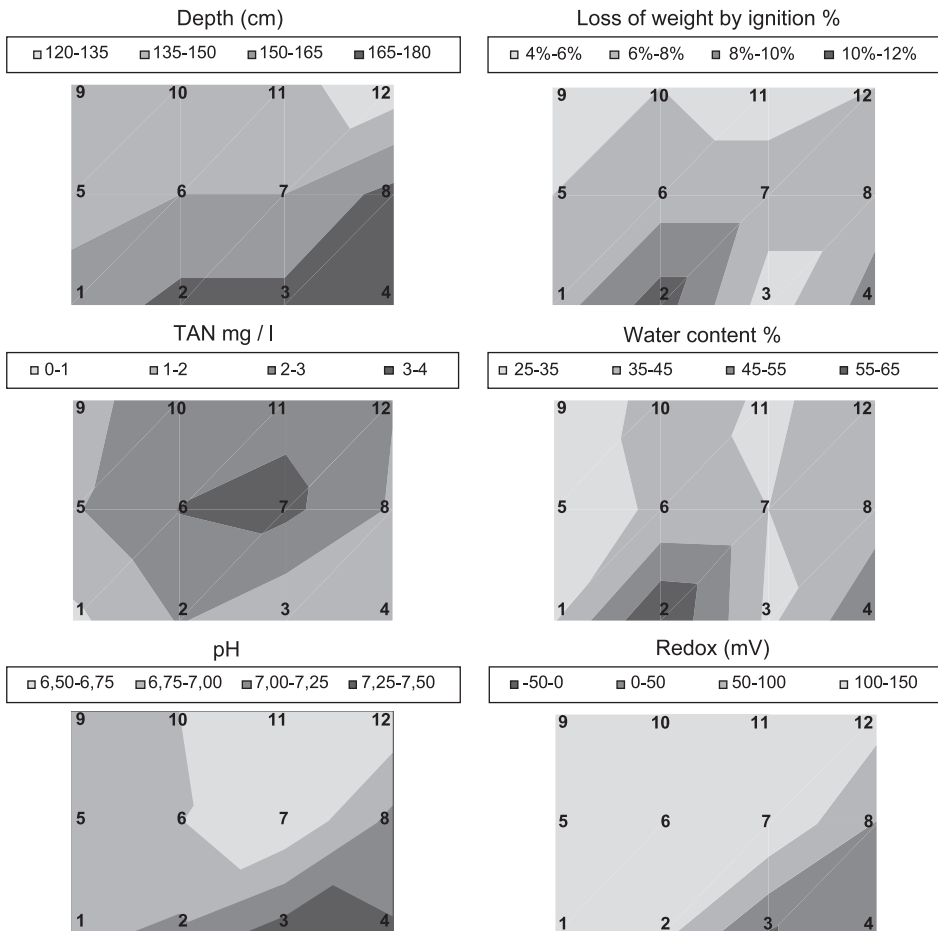


Fig. 2. Schematic representation of physico-chemical variables of pond sediment (TAN: total ammonia nitrogen).

Correlation analysis (Table 3) showed that depth was correlated with some sediment characteristics. Both pH, Eh and N-NH<sub>3</sub> concentration were highly correlated to depth; with low depth related to more acid and oxygenated sediments. pH was positively correlated to N-NH<sub>3</sub> and negatively to TAN and redox. The loss by ignition was only correlated to the water content (Table 3) with the highest value recorded on stations 2 and 4, located on a previous mangrove zone.

### 3.1.3. Correlation study between osmotic pressure and sediment characteristics

The correlation matrix in Table 3 shows significant negative correlations between the shrimp mean OP and station depth, sediment pH and level of N-NH<sub>3</sub> in pore water. Graphs of the relationship between these media/environmental parameters and OP are shown in Fig. 3 (graphs a, b, c and d). It can be noted that the set of points in the pH/OP graph is made of two sub-sets with similar slopes. Stations 2, 5 and 7 seem to be different from the other stations. Shrimps sampled at these stations seem to be less stressed as their OP is lower. In both cases, we note a negative linear correlation between pH and OP with dots following two almost parallel straight lines. In an exploratory approach, when data from those stations are excluded from the analysis (Fig. 3, graphs e, f, g and h), the significant correlations described before are reinforced. Even Redox Eh becomes significantly correlated to shrimp OP. These correlations become very high as  $R^2$  coefficients reach  $-0.94$  for the pH,  $-0.80$  for depth,  $+0.65$  for redox Eh and  $-0.60$  for correlation with N-NH<sub>3</sub>.

### 3.2. Laboratory experiment

Results are shown Fig. 4. The two-way ANOVA shows a pH effect on shrimp OP ( $p < 0.001$ ) but no sampling day effect ( $p = 0.21$ ). Mortality was observed in the first experiment in shrimps exposed to the lowest pH values (6 out of 8 at pH 6.0 and 2 out of 8 at pH 6.5) but not in the second set of experiments. The mortality was related to an increase in the shrimp OP which induced the significant relationship shown by the

Table 3  
Correlation matrix for regression among chemical variables in sediment, water depth and osmotic pressure

	OP	Depth	pH	Redox Eh	Loss by ignition	Water content	TAN	N-NH <sub>3</sub>
OP	–	<b>-0.78</b>	<b>-0.74</b>	0.44	-0.38	-0.29	0.42	<b>-0.66</b>
Depth	<b>0.002</b>	–	<b>0.85</b>	<b>-0.70</b>	0.54	0.52	-0.40	<b>0.83</b>
pH	<b>0.004</b>	<b>&lt;0.001</b>	–	<b>-0.81</b>	0.26	0.33	<b>-0.72</b>	<b>0.80</b>
Redox Eh	0.162	<b>0.009</b>	<b>0.001</b>	–	-0.13	-0.27	0.49	<b>-0.76</b>
Loss by ignition	0.224	0.070	0.422	0.697	–	<b>0.92</b>	-0.01	0.40
Water content	0.377	0.084	0.305	0.398	<b>&lt;0.001</b>	–	-0.04	0.52
TAN	0.182	0.203	<b>0.007</b>	0.108	0.956	0.907	–	-0.19
N-NH <sub>3</sub>	<b>0.017</b>	<b>0.000</b>	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>	0.205	0.086	0.563	–

The right part and the left part of the table show respectively correlation coefficients and probabilities. Correlation coefficients in boldface are significant at probability level of 5% (OP: osmotic pressure; TAN: total ammonia nitrogen).

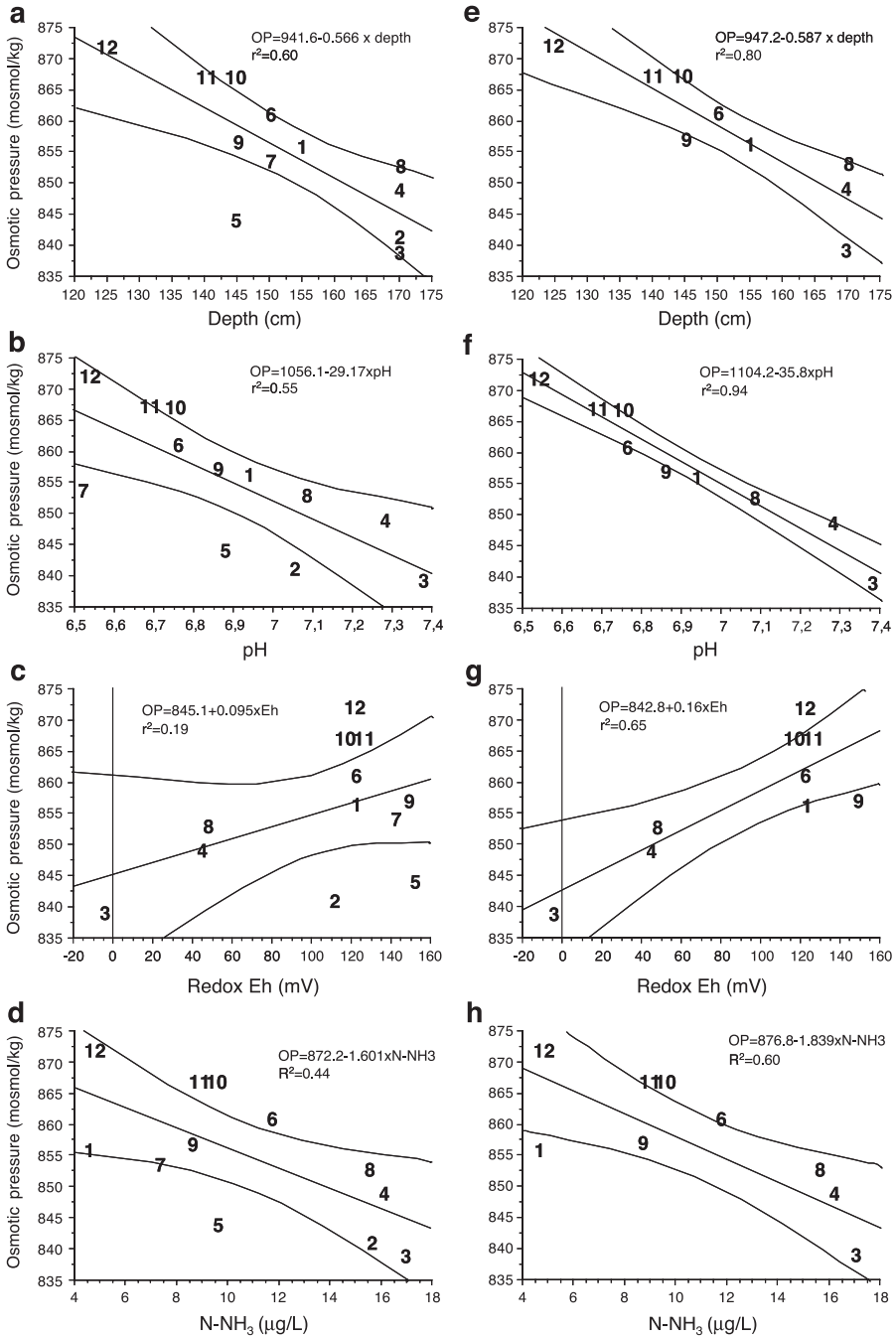


Fig. 3. Influence of depth, pH, redox Eh and N-NH<sub>3</sub> in sediment on osmotic pressure. In graphs e, f, g and h, points 2, 5 and 7 were excluded as part of an exploratory approach of the data.

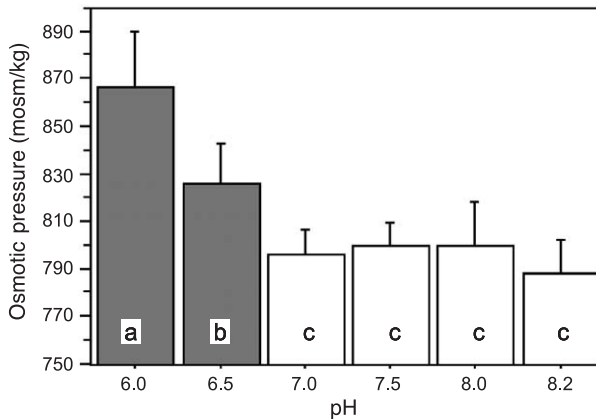


Fig. 4. Effect of pH on shrimp osmotic pressure in tank experiments. Means indicated by the same letter do not differ at  $p=0.01$ . Bars represent standard deviation.

ANOVA.  $N-NH_3$  levels which ranged from 0.35 to 0.75 mg/l were not significantly related to pH, but the highest level was recorded in the controls.

#### 4. Discussion

Although the experimental design was powerful enough to show the effect of captivity on shrimp osmoregulation, it did not allow to distinguish this stress from the one induced by the sediment. For future experiments, the effect of cage only on shrimp physiology will be taking into account by avoiding contact with sediment. However, results in the present study show the effect of different sediment quality on the stress of shrimp kept captive in bottom cages. Despite the significant variation in the mean OP of the control shrimps, it was possible to assess the most stressful zones.

Three correlations were found between shrimp haemolymph OP and, respectively,  $N-NH_3$  in pore water, pH and depth. Three more significant correlations were found between depth and respectively redox,  $N-NH_3$  in pore water and pH. In New Caledonia, shrimp farms are built on the intertidal zone between mangroves and agricultural land, with ponds integrated as much as possible into the natural landscape. Soil quality varies within these marshes with an increase in the amount of clay, organic matter and pH from the upper side (agricultural land side) towards the lower side (mangrove side) (Lemonnier et al., 2002). Therefore, pond topography and as a consequence water depth is strongly related to soil quality (texture, organic matter, pH). The depth of the pond ranged between 125 and 170 cm and this difference (maximum 45 cm) is not likely to have an effect on shrimp physiology. Therefore, the negative correlation found between depth and OP should not be seen as a direct relationship between the two but rather be explained as resulting from the effect of sediment quality on shrimp hyporegulation. The negative relationship between  $N-NH_3$  and OP is mainly due to the important role of pH in the  $NH_3-NH_4$  equilibrium. Moreover,  $N-NH_3$  concentrations



in pore water were low, less than 0.018 mg/l and below the N-NH<sub>3</sub> concentration safety levels defined for *Penaeus monodon* and *Penaeus vannamei* (respectively 0.08 and 0.16 mg/l) (Chen et al., 1990; Lin and Chen, 2001). The most significant correlation was between sediment pH and osmotic pressure of the captive shrimps. Post-experiment laboratory checks showed that low pH lead to an increase of osmotic pressure. This increase seems to be correlated to a pH range between 6.0 and 7.0 which fits what was seen in the field study. Osmotic pressure of captive shrimps is directly related to the acidity of sediment.

Conventionally, pH determinations are made on 1:1 dry soil/distilled water paste. An empirical relationship between this method and pH in situ has been found by Ritvo et al. (2003) and can be used to evaluate the in situ pH. The pH measured directly by inserting the pH electrode into the sample is the same as that of the pore water (Massuda and Boyd, 1994). An important effect of soil flooding is to depress the pH of sodic and calcareous soils due to the accumulation of CO<sub>2</sub> and to increase the pH of acid soils due to the consumption of H<sup>+</sup> ions by different reduction processes (Ponnamperuma, 1972). Soil pH in pore water in aquaculture ponds built on Clayey Ultisols could be apparently controlled by the equilibrium:  $\text{FeCO}_3(\text{s}) + \text{H}^+ = \text{Fe}^{2+} + \text{HCO}_3^-$  (Massuda and Boyd, 1994).

The negative effects of acid sulphate soils and pond acidity on shrimp yields are well known (Boyd, 1990; Binh et al., 1997) and pH water was previously described as a stress factor for crustacean. In a study conducted by Allan and Maguire (1992), low pH water (5.9) has been reported to cause decreased growth in *P. monodon*. The effect of low pH on hyporegulation was worse, compared with hyperregulation at low salinity and high pH and there was no significant interaction. In the present study, haemolymph osmoregulation decreased significantly as pH water decreased from 7 and 6.5. Wickins (1984) showed that decreasing pH from 7.9 to 6.7 induced carapace weight loss, increased magnesium content and decreased strontium content. The minimum acceptable pH levels in *Macrobrachium rosenbergii* were 6.2 and 7.4 based on growth and feeding, respectively (Chen and Chen, 2003). The effect of pH on crustacean physiology has been seldom studied and mainly on freshwater species. Low pH disturbed ion regulation in crayfish and acid–base imbalance in crayfish and freshwater shrimp (Morgan and McMahon, 1982; Chen and Lee, 1997). The exposure of crayfish to low pH results in a net loss of Cl<sup>-</sup> and Na<sup>+</sup> (Zanotto and Wheathy, 1993). The Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange regulates haemolymph Cl<sup>-</sup> transport and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> influence CO<sub>2</sub> haemolymph partial pressure.

The linear correlation study between pH and OP shown in this paper suggested the effect of several other factors on OP: Points 2, 5 and 7 are on a straight line parallel to the one made of the nine other points. These latter points might be under the influence of another unmeasured stress factor whose effect could be added up to the first one at the same time. Several parameters may play a role such as dissolved oxygen (Le Moullac et al., 1998, Allan and Maguire, 1991), ammonia (Chen et al., 1990; Chen and Kou, 1992), hydrogen sulfide (Bagarinao and Vetter, 1992; Ritvo et al., 2000), carbon dioxide (Hall and Van Ham, 1998), nitrites (Chen and Lee, 1997), each of these parameters having been described as potentially stressful and even toxic to farmed animals.

Sedimentation dynamics and recycling of organic mater accumulated in the pond vary greatly along the grow-out period, leading to a variability of sediment quality with time. Increased concentrations of organic matter in soil or larger input of feed to

ponds favour greater microbial activity in soils and higher concentrations of TAN in pore water (Massuda and Boyd, 1994). Thus, the water–sediment interface (first centimetre) in intensive ponds commonly showed higher ammonia concentration, lower in situ pH, and lower redox than in semi-intensive ponds at the end of the rearing (Lemonnier et al., 2004). Suplee and Cotner (1996) showed an increase of sediment oxygen demand, sulphate reduction rates, sulphate reducing bacteria abundances over the growing season. In fish ponds, components such as  $\text{NH}_4^+$  or  $\text{H}_2\text{S}$  therefore do accumulate in the sediment continuously (Avnimelech and Lacher, 1979; Ram et al., 1981). However, few works have been conducted on the evolution of pond bottom quality during rearing, especially on pH. In fact, most studies on pond bottom have been carried out at the end of the rearing or during the dry-out period (Morales et al., 1991; Ayud et al., 1993; Boyd et al., 1994a,b; Munsiri et al., 1995, 1996; Ritvo et al., 1998c, 1999; Sonnenholzner and Boyd, 2000; Avnimelech et al., 2001; Lemonnier et al., 2004) or in laboratory experiment (Boyd and Munsiri, 1997; Blackburn et al., 1988). It might be interesting to study the evolution of sediment quality during the grow-out with a tighter time lag, as potentially stressful parameters may vary during this period. This study showed a spatial variability in the animals physiology related to the cage location. Generally speaking, uneaten feed, faeces, plankton and debris can settle in a certain pattern throughout the pond bottom. This settling pattern can be affected by pond depth and water circulation (Boyd, 1992; Smith, 1996). These factors introduce a high degree of spatial variability into soil parameters (Ritvo et al., 1998d) which is seldom considered in soil quality studies. In the same way, the original soil variability is also little considered. Indeed, samples within a pond are usually pooled. The resulting mean for one parameter does not allow to know the differences within one pond and thus the limiting values susceptible to stress the crop. The results obtained in this work raise the need for renewed thought, development and assessment of strategies to analyse sediment quality taking into account its temporal and spatial variability. The methodology developed in this study may be applicable to evaluate the stress caused by sediment on shrimps in the pond environment and may be used to assess pond bottom conditions which will be dangerous for shrimps.

## Acknowledgements

We gratefully acknowledge the valuable comments and suggestions of referees on data analyses and improving the style of the manuscript.

## References

- Ayud, M., Boyd, C.E., Teichert-Coddington, D.R., 1993. Effects of urea application, aeration, and drying on total carbon concentrations in pond bottom soils. *The Progressive Fish-Culturist* 55, 210–213.
- Allan, G.L., Maguire, G.B., 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 94, 27–37.
- Allan, G.L., Maguire, G.B., 1992. Effect of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture* 107, 33–47.

- Aquacop, 1984. Review of ten years of experimental penaeid shrimp culture in Tahiti and New Caledonia (South Pacific). *Journal of the World Mariculture Society* 15, 73–91.
- Avnimelech, Y., 1995. Sludge accumulation in the shrimp pond bottom: significance and management. *Asian Shrimp News*, 2.4th Quarter, p. 2.
- Avnimelech, Y., Lacher, M., 1979. A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. *Bamidgeh* 31 (1), 3–8.
- Avnimelech, Y., Zohar, G., 1986. The effect of local anaerobic conditions on growth retardation in aquaculture system. *Aquaculture* 58, 167–174.
- Avnimelech, Y., Ritvo, G., Meijer, L.E., Kochba, M., 2001. Water content, organic carbon and dry bulk density in flooded sediments. *Aquacultural Engineering* 25, 25–33.
- Avnimelech, Y., Ritvo, G., 2003. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture* 220, 549–567.
- Bagarinao, T., Vetter, R.D., 1992. Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* 24 (1–2), 21–62.
- Bambang, Y., Charmantier, G., Trilles, J.-P., 1995a. Effect of cadmium on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Marine Biology* 123, 443–450.
- Bambang, Y., Thuet, P., Charmantier-Daures, M., Trilles, J.-P., Charmantier, G., 1995b. Effect of copper on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Decapoda). *Aquatic Toxicology* 33, 125–139.
- Binh, C.T., Phillips, M.J., Demaine, H., 1997. Integrated shrimp-mangrove farming systems in the Mekong Delta of Vietnam. *Aquaculture Research* 28, 599–610.
- Blackburn, T.H., Lund, B.A., Krom, M.D., 1988. C- and N-mineralization in the sediments of earthen marine fishponds. *Marine Ecology. Progress Series* 44, 221–227.
- Boyd, C.E., 1989. Water quality management and aeration in shrimp farming. *Fisheries and Allied Aquaculture Departmental Series*, vol. 2. Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Alabama, USA.
- Boyd, C.E., 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Alabama, USA.
- Boyd, C.E., 1992. Shrimp pond bottom soil and sediment management. In: Wyban, J. (Ed.), *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 166–181.
- Boyd, C.E., 1995. Bottom Soils, Sediment, and Pond Aquaculture. Chapman and Hall editions, New York, USA.
- Boyd, C.E., Munsiri, P., 1997. Water quality in laboratory soil–water microcosm with soils from different areas of Thailand. *Journal of the World Aquaculture Society* 28 (2), 165–170.
- Boyd, C.E., Tanner, M.E., Madkour, M., Massue, K., 1994a. Chemical characteristics of bottom soils from freshwater and brackishwater aquaculture ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 25 (4), 517–533.
- Boyd, C.E., Munsiri, P., Hajek, B.F., 1994b. Composition of sediment from intensive shrimp ponds in Thailand. *World Aquaculture Magazine* 25 (3), 53–55.
- Bower, C.E., Bidwell, J.P., 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35 (7), 1012–1016.
- Charmantier, G., 1975. Variations saisonnières des capacités ionorégulatrices de *Sphaeroma serratum* (Fabricius, 1787) (Crustacea, Isopoda, Flabellifera). *Comparative Biochemistry and Physiology. A* 50, 339–345.
- Charmantier, G., 1987. L'osmoregulation chez les crevettes Penaeidae. *Oceanis* 13, 179–196.
- 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 shrimps. *Special Publication-European Aquaculture Society* 10, 65–66.
- Charmantier, G., Soyez, C., Aquacop, 1994. Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 178, 233–246.
- Chen, J.-C., Kou, Y.-Z., 1992. Effects of ammonia on growth and moulting of *Penaeus japonicus* juveniles. *Aquaculture* 104, 249–260.
- Chen, J.C., Lee, Y., 1997. Effects of nitrite exposure on acid–base balance, respiratory protein, and ion concentration of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* at low pH. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 33, 290–297.

- Chen, S.-M., Chen, J.-C., 2003. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 218, 613–623.
- Chen, J.C., Liu, P.C., Lei, S.-C., 1990. Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture* 89, 127–137.
- Chien, Y.H., 1989. The management of sediment in prawn ponds. Proceedings of the Third Brazilian Shrimp Farming Congress, Joao Pessoa, PB, Brazil.
- Cochard, J.C., Garen, P., Heyvang, I., Lemonnier, H., Magliozzi, A., and Aquacop, 1997. Osmoregulatory capacity of *Penaeus stylirostris* as a tool for in situ evaluation of the toxicity of rearing pond sediment. Island Aquaculture and Tropical Aquaculture. Short communication presented at the International Conference “Island Aquaculture and Tropical Aquaculture” La Martinique, 85–87.
- Delgado, P.C., Avnimelech, Y., McNeil, R., Bratvold, D., Browdy, C.L., Sandifer, P., 2003. Physical, chemical and biological characteristics of distinctive regions in paddlewheel aerated ponds. *Aquaculture* 217, 235–248.
- Drach, P., Tchernifovtzeff, C., 1967. Sur la méthode de détermination des stades d’internue et son application générale aux crustacés. *Vie Milieu* 18, 596–609.
- Giesy, J.P., Versteeg, D.J., Granay, R.L., 1988. A review of selected clinical indicators of stress-induced changes in aquatic organisms. In: Evans, M.S. (Ed.), *Toxic Contaminants and Ecosystem Health: A Great Lakes Focus*. Wiley, New York, pp. 169–200.
- Hall, M.R., Van Ham, E.H., 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 290–299.
- Hopkins, J.S., Sandifer, P.A., Browdy, C.L., 1994. Sludge management in intensive pond culture of shrimp: effect of management regime on water quality, sludge characteristic, nitrogen extinction, and shrimp production. *Aquacultural Engineering* 13, 11–30.
- Hussenot, J., Feuillet-Girard, M., 1988. Crevettes et sediment. Recherche de paramètres indicateurs de la qualité des fonds. *Aqua Revue* 17, 25–28.
- Hussenot, J., Martin, J.L.M., 1995. Assessment of the quality of pond sediment in aquaculture using simple rapid techniques. *Aquaculture International* 3, 123–133.
- Koroleff, F., 1976. In: Grasshof, K. (Ed.), *Determination of Ammonia, in Methods in Seawater Analysis*. Verlag chemie, Weinheim, pp. 126–133.
- Lagadic, L., Caquet, T., Ramade, F., 1994. The role of biomarker in environmental assessment: 5. Invertebrate population and communities. *Ecotoxicology* 3, 193–208.
- Lemaire, P., Bernard, E., Martinez-Paz, J.A., Chim, L., 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209, 307–317.
- Lemonnier, H., Brizard, R., 2001. Evolution of pond bottom and production in a semi-intensive shrimp pond. World Aquaculture Society meeting, January 21–25, 2001, Disney’s Coronado Springs Resort Lake Buena Vista, Florida. Book of Abstracts, p. 366.
- Lemonnier, H., Brizard, R., Mugnier, C., Herlin, J., 2002. Evolution of shrimp production and pond bottom in a semi-intensive system. *World Aquaculture* 33 (2), 30–33.
- Lemonnier, H., Brizard, R., Legrand, A., 2004. Effect of pond management and pond aged on characteristics of pond bottom. In: IFREMER (Ed.), *Proceedings of the International Conference on Shrimp Farming Research Programs in New Caledonia “Styli 2003”*, pp. 180–186. New Caledonia.
- Le Moullac, G., Soyer, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J.C., Levy, P., 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish and Shellfish Immunology* 8, 621–629.
- Lin, H.P., Charmantier, G., Trilles, J.-P., 1991. Toxicité de l’ammonium au cours du développement postembryonnaire de *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). Effet sur l’osmorégulation. *Comptes Rendus de L’académie des Sciences*. Paris 312 (III), 99–105.
- Lin, H.P., Thuet, P., Trilles, J.-P., Mounet-Guillaume, R., Charmantier, G., 1993. Effect of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Marine Biology* 117, 591–598.
- Lin, Y.-C., Chen, J.-C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259, 109–119.

- Lignot, J.H., Charmantier, G., Trilles, J.-P., 1997. Effects of an organophosphorus insecticide, fenitrothion, on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimps *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Marine Biology* 128, 307–316.
- Lignot, J.H., Cochard, J.C., Soyeux, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170, 79–92.
- Lignot, J.H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209–245.
- Massuda, K., Boyd, C.E., 1994. Chemistry of sediment pore water in aquaculture ponds built on clayey ultisols at Auburn, Alabama. *Journal of the World Aquaculture Society* 25 (3), 397–404.
- Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., McCume, D.C., Rattner, B.A., 1992. Physiological and monospecific biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Merhle Jr., P.M., Bergam, H.L. (Eds.), *Biomarker, Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*, SETAC Special Publication Series. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 5–85.
- Moraes, R.B.C., Pfeiffer, W.C., Guimaraes, J.R.D., Borges, A.L.N., Campos, A.N., 2000. Development of sediment toxicity test with tropical penaeid shrimps. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, 1881–1884.
- Morales, J., Rodriguez, J.M., Gertrudix, L.J., Berrocal, D., 1991. Evolution of some chemical characteristics of bottom soils from commercial shrimp ponds: I. Metals. *Aquaculture Europe '91 meeting*, 10–12 Jun 1991, Dublin (Eire). In: De Pauw, N., Joyce, J. (Eds.), *Aquaculture and the Environment*, European Aquaculture Society Special Publication n° 14, pp. 221–222. Bredene, Belgium.
- Morgan, D.O., McMahon, B.R., 1982. Acid tolerance and effects of sublethal acid exposure on ionoregulation and acid–base status in two crayfish *Procambarus clarkii* and *Orconectes rusticus*. *Journal of Experimental Biology* 97, 241–252.
- Mugnier, C., Justou, C., 2004. Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. in press.
- Munsiri, P., Boyd, C.E., Hajek, B.F., 1995. Physical and chemical characteristics of bottom soil profiles in ponds at Auburn, Alabama, USA and a proposed system for describing pond soil horizons. *Journal of the World Aquaculture Society* 26 (4), 346–376.
- Munsiri, P., Boyd, C.E., Teichert-Coddington, D.R., Hajek, B.F., 1996. Texture and chemical composition of soils from shrimp ponds near Choloteuca, Honduras. *Aquaculture International* 4, 157–168.
- Ponnamperuma, F.N., 1972. The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy* 24, 29–96.
- Ram, N., Ulitzur, S., Avnimelech, A., 1981. Microbial and chemical changes occurring at the mud–water interface in an experimental fish pond. *Bamidgeh* 33 (3), 71–86.
- Ram, N.M., Zur, O., Avnimelech, Y., 1982. Microbial changes occurring at the sediment–water interface in an intensively stocked and fed fish pond. *Aquaculture* 27, 63–72.
- Ritvo, G., Dixon, J.B., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., Neill, W.H., 1998a. Low-cost experimental unit and growth medium for testing soil effects on shrimp culture. *Aquacultural Engineering* 18, 245–249.
- Ritvo, G., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., Neill, W.H., 1998b. Growth of *Penaeus vannamei* on soils from various Texas shrimp farms, under laboratory conditions. *Aquaculture* 163, 101–110.
- Ritvo, G., Dixon, J.B., Lawrence, A.L., Samocha, T.M., Neil, W.H., Speed, M.F., 1998c. Accumulation of chemical elements in Texas shrimp pond soils. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 422–431.
- Ritvo, G., Sherman, M., Lawrence, A.L., Samocha, T.M., 1998d. Determining the bottom soil sampling rate in shrimp ponds using variograms. *Aquacultural Engineering* 17, 273–282.
- Ritvo, G., Speed, F.M., Neill, W.H., Dixon, J.B., Lawrence, A.L., Samocha, T.M., 1999. Regression analysis of soil chemical composition for two shrimp farms in Texas. *Journal of the World Aquaculture Society* 30, 26–35.
- Ritvo, G., Dixon, J.B., Neill, W.H., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., 2000. The effect of controlled soil sulfur concentration on growth and survival of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 31, 381–389.
- Ritvo, G., Avnimelech, Y., Kochba, M., 2003. Empirical relationship between conventionally determined pH and in situ values in waterlogged soils. *Aquacultural Engineering* 27, 1–8.
- Scherrer, B., 1984. Comparaison de deux échantillons appariés, le test des signes. Gaëtan Morin Editeur Ltée. Biostatistique, Montréal, Canada, pp. 523–528.

- Smith, P.T., 1996. Physical and chemical characteristics of sediments from prawn farms and mangrove habitats on the Clarence River, Australia. *Aquaculture* 146, 47–83.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1981. *Biometry* (2nd ed.). Freeman and Co, San Francisco, pp. 348–354.
- Suplee, M.W., Cotner, J.B., 1996. Temporal changes in oxygen demand and bacterial sulfate reduction in inland shrimp ponds. *Aquaculture* 145, 141–158.
- Sonnenholzner, S., Boyd, C.E., 2000. Chemical and physical properties of shrimp pond bottom soils in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society* 31, 358–375.
- Treguer, P., Le Corre, P. 1975. Manuel d'analyses des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'autoanalyseur II, Technicon R. Rapport U.B.O. 110 pp.
- Wickins, J.F., 1984. The effect of reduced pH on carapace calcium, strontium and magnesium levels in rapidly growing prawns (*Penaeus monodon* Fabricius). *Aquaculture* 41, 49–60.
- Young-Lai, W.W., Charmantier-Daures, M., Charmantier, G., 1991. Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the Lobster *Homarus americanus*. *Marine Biology* 110, 293–300.
- Zanotto, F.P., Whealhy, M., 1993. The effect of ambient pH on electrolyte regulation during the postmoult period in freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Experimental Biology* 178, 1–19.

## **Annexe 4**

Hugues Lemonnier, Eric Bernard, Eric Boglio, Cyrille Goarant, Jean-Claude Cochard

Sediment quality affects shrimp physiology in New Caledonia Research





# Sediment Quality Affects Shrimp Physiology in New Caledonia Research

**Hugues Lemonnier**

*hlemonni@ifremer.fr*

**Eric Bernard**

**Eric Boglio**

**Cyrille Goarant**

**Jean-Claude Cochard**

IFREMER

B. P. 2059 98846 Nouméa

New Caledonia



*Aerial view of a semi-intensive shrimp farm in New Caledonia.*

The soil quality of production pond bottoms has long been recognized as a factor that influences pond water quality and aquatic animal production. Pond bottom conditions are particularly critical for shrimp, which spend most of their time on the bottom, burrow into the soil, and even ingest soil particles during feeding.

In general, uneaten feed, feces, plankton, and debris settle in patterns throughout pond bottoms. This settling pattern can be affected by pond depth and water circulation. These factors introduce a high degree of spatial variability into soil parameters that is seldom considered in soil quality studies.

## Osmotic Pressure

Haemolymph osmotic pressure has been proposed as a parameter for the evaluation of the physiological state of penaeid shrimp, as it is influenced by a large variety of environmental parameters. It can be a convenient tool to detect areas of rearing ponds where sediments are degraded and potentially harmful to shrimp.

## Field Experiment

The authors' recent study, conducted in an experimental semi-intensive shrimp pond in New Caledonia, evaluated the stress caused by sediment on shrimp held in bottom cages at different points of a pond and correlated the levels of stress with various sediment parameters.

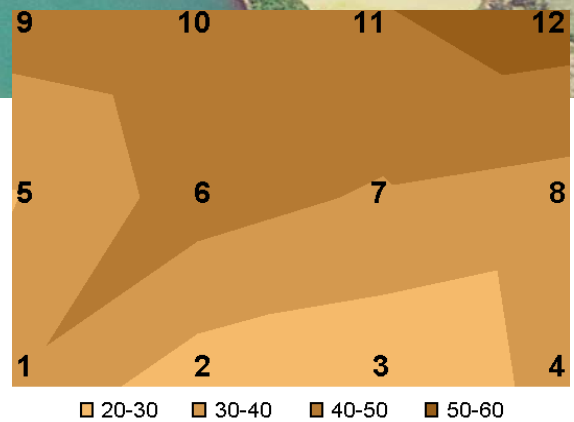
Thirty shrimp with an average weight of about 13.2 g were placed in 100- x 50- x 15-cm cages in 12 stations on the bottom of a 1-ha pond. After 24 hours, samples of haemolymph from animals in intermolt stage were collected for osmotic pressure measurement.

The experiment was repeated four times. Each time, two groups of free-ranging shrimp of the same pond were sampled and used as controls. Simultaneously, sediment samples were collected and analyzed to evaluate some physicochemical parameters that could be related to the stress observed in the shrimp maintained in the cages.

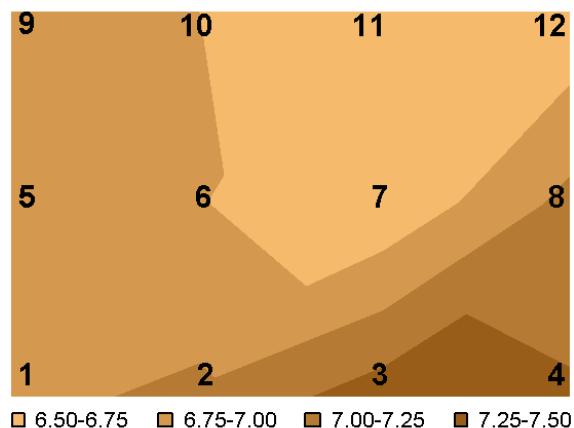
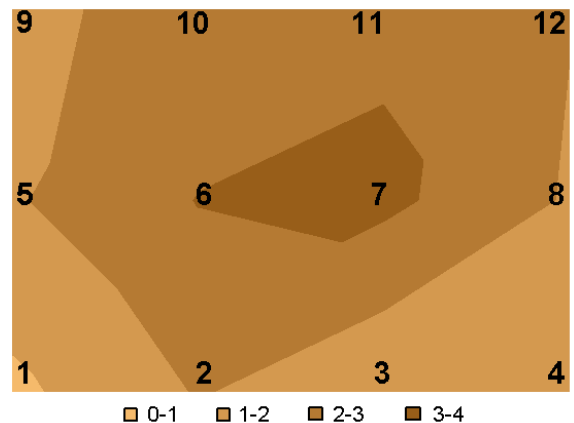
The redox potential and pH of pore water of the first centimeter of pond bottom sediment were assessed in situ. Sediment samples of the top 1 cm were collected at each station and analyzed for water content, loss of weight, and total ammonia nitrogen (TAN) in the pore water.

## Laboratory Experiment

A laboratory test was carried out twice in six closed 70-l tanks. Eight shrimp were placed in each tank for 24 hours. Five pH levels of 6.0-8.0 were tested. After a 24-hour exposure to different pH levels, shrimp haemolymph samples were collected for osmotic pressure measurements.



**Figure 1.** Effect of level of cages on haemolymph osmotic pressure in pond. Values correspond to the difference between pressure in the cage and that of free shrimp.



**Figure 2.** Schematic representation of physicochemical variables of pond sediment. Top: Total ammonia nitrogen. Bottom: PH.

Copyright © 2004, Global Aquaculture Alliance. Do not reproduce without permission.

**Figure 3.** Effect of pH on shrimp osmotic pressure in tank experiments. Means indicated by the same letter do not differ at  $p = 0.01$ . Bars represent standard deviation.

In seawater, an increase of osmotic pressure indicates a dysfunction in osmoregulation associated with various stressors.

## Results

In seawater, an increase of osmotic pressure indicates a dysfunction in osmoregulation associated with various stressors. Figure 1 is a schematic presentation of mean osmotic pressure in each cage in relation to the station. In some areas of the test pond, captive shrimp showed an increase of osmotic pressure.

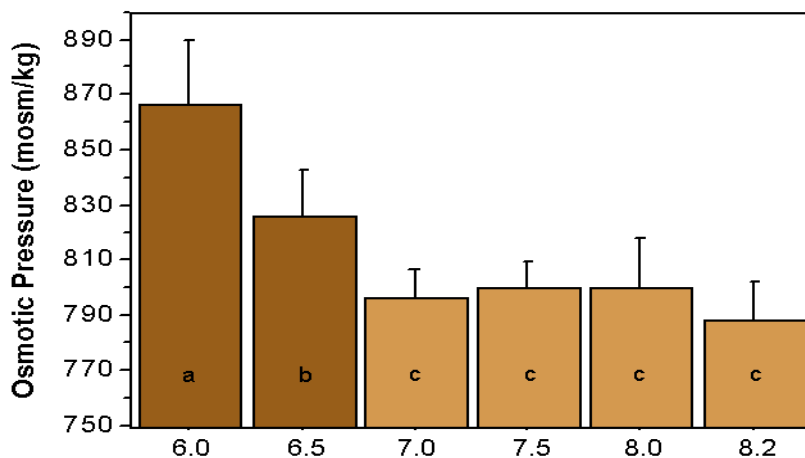
Figure 2 is a schematic presentation of pond sediment parameters. The sediment loss of weight by combustion was most important in stations 1, 2, and 4, which were characterized by sediment with higher water content. TAN concentration was maximum in the center of the pond.

The lowest redox and highest pH values were found in stations 3 and 4, located in the deepest areas of the pond. The most significant correlation was between sediment pH and osmotic pressure of the captive shrimp.

Postexperiment laboratory analyses (Figure 3) showed that low pH led to an increase of osmotic pressure. This increase seemed to be correlated to a pH range of 6.0-7.0, supporting the field test observations. Osmotic pressure of captive shrimp is directly related to the acidity of sediment.

## Conclusion

Studies of shrimp held in cages on a pond bottom showed a spatial variability in the animals' physiology related to the locations of the cages. The most significant correlation was between sediment pH and osmotic pressure of captive animals. Extreme values of pH are known stress factors for crustaceans, and postexperiment laboratory checks showed that low pH led to an osmotic pressure increase.



## **Annexe 5**

Chantal Mugnier, Hugues Lemonnier, Alexandre Legrand

Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short-term confinement  
on a pond bottom



# Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short-term confinement on a pond bottom

Chantal Mugnier\*, Hugues Lemonnier, Alexandre Legrand

Laboratoire d'Aquaculture Calédonien, IFREMER, BP2059, 98846 Nouméa Cedex, New Caledonia

Received 28 April 2005; received in revised form 15 September 2005; accepted 15 September 2005

## Abstract

The blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* was exposed to pond sediment for 48 h and its physiological response was studied in relation to molt stage. Shrimp were maintained in cages within a semi-intensive pond after 4 months of rearing. Hypo-osmoregulatory capacity (hypo-OC), magnesium ions (Mg ions), glucose, total proteins and oxyhaemocyanin were assayed in haemolymph. An increase of 370% to 500% in Mg ions concentration and 200% to 266% in glucose concentration, and a decrease in hypo-OC in shrimp maintained close to the centre of the pond indicated a short-term stress response in all molt stages. Indicators of water and sediment pore water quality were within normal operating limits, however this area was characterized by high water content and relatively high total ammonia nitrogen in pore water of sediment. To a lesser extent, shrimp maintained in two other stations also presented a stress response. Physiological response of shrimp in molt stage D<sub>1</sub> compared to C/D<sub>0</sub> and D<sub>2</sub> seems to indicate that shrimp were more sensitive to environment at this stage. The use and choice of physiological parameters to detect shrimp stress in a pond are discussed.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** *Litopenaeus stylirostris*; Haemolymph constituents; Molt stage; Penaeid shrimp; Pond bottom; Stress

## 1. Introduction

Shrimp farming in New Caledonia is an economically important developing industry. It is based on the culture of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*, reared in earthen ponds. Shrimp spend much of their time on the bottom of the ponds, so soil quality is an important component of the pond ecosystem for the shrimp (Boyd, 1995). Delgado et al. (2003) found that shrimp abundance was significantly lower in the zone where sludge depth and organic matter accumulation were higher, suggesting conditions may have been less suitable

for shrimp growth and health. Moreover, Ritvo et al. (1998) demonstrated the impact of the type of soil on the growth of the shrimp *Penaeus vannamei*, independently of the quality of the inflow water. Reduced feeding, slower growth (Ram et al., 1982; Avnimelech and Zohar, 1986), and low survival (Hopkins et al., 1994; Lemonnier and Brizard, 2001) have also been related to soil chemistry.

While health state and physiological response of shrimp in controlled experimental tanks is commonly studied, the state of shrimp reared in pond has scarcely been evaluated, probably because of the uncontrolled environmental parameters encountered in a pond ecosystem. However, Lignot et al. (1999) were able to record the evolution of glycemia and osmolality in *L. stylirostris* reared in earthen pond over 24 h, and

\* Corresponding author. Tel.: +687 35 25 71; fax: +687 28 78 57.  
E-mail address: [cmugnier@ifremer.fr](mailto:cmugnier@ifremer.fr) (C. Mugnier).

show a difference between starved and fed animals. Recently, results of a field experiment have shown that the pH of pond sediment is able to affect osmoregulation in *L. stylirostris* (Lemonnier et al., 2004).

The aim of this work was to study the physiology of the blue shrimp *L. stylirostris* in contact with pond bottom and evaluate physiological indicators of stress in a field experiment. Indicators of physiological—or more generally health—state of shrimp reared in pond would be useful tools to detect stress response and therefore adapt the management of the pond to be more suitable for shrimp.

Pond sediment characteristics were assessed with indicators proposed by Hussenot and Martin (1995) and Avnimelech et al. (2001) for field conditions, including water content of soil, which is related to bulk density of soil, redox potential (Eh), total ammonia nitrogen (TAN) and pH, but also nitrites. As shrimp at pre- and postmolt stages are more sensitive to stress than intermolt animals (Wajsbrodt et al., 1990; Mugnier and Justou, 2004; Mugnier and Soyeux, 2005), molt stage of the shrimp was taken into account. Several physiological parameters that can be assayed from a haemolymph sample were selected for this study as indicators of response to an environmental stressor (Mugnier and Justou, 2004). Osmoregulation is one of the most important functions of regulation in Crustacea (Péqueux, 1995). Variation of osmoregulatory capacity (OC) was studied as a non-specific indicator commonly used for detecting physiological stresses, particularly in *L. stylirostris* (Lignot et al., 2000), which is a strong hypo-osmoregulator in seawater. In seawater, a decrease in hypo-OC is observed in *L. stylirostris* exposed to environmental stress (Mugnier and Justou, 2004; Mugnier and Soyeux, 2005; Lemonnier et al., 2004). Magnesium ion concentration (Mg) is a good stress indicator, at least for acute stress, for *L. stylirostris* (Mugnier and Justou, 2004) and for *Penaeus monodon* (Boglio and Goarant, 1996). Increase in blood glucose is an indicator of short-term stress (Hall and van Ham, 1998) which is also observed in *L. stylirostris* subjected to stressful concentration of ammonia (Mugnier and Justou, 2004). Increase in total protein concentration in haemolymph is also an indicator of short-term stress in controlled conditions (Mugnier and Justou, 2004). The last indicator selected for this study was the plasmatic oxyhaemocyanin concentration, which is the main protein in the haemolymph and is implied in several functions like oxygen transport, enzymatic activities, osmoregulation or buffering (Paul and Pirow, 1997/98).

## 2. Material and methods

### 2.1. Experimental animals

The experiment took place in a private farm (Ferme Aquacole de la Ouenghi, FAO) in New Caledonia. *L. stylirostris* (stocking density 21 shrimp/m<sup>2</sup>) had been reared in a non-aerated earthen pond of 7.5 ha for 4 months before the experiment was conducted. Twenty-five percent of the water was exchanged per day. A previous study showed that the soil texture of the pond was mainly clay loam. The amount of clay increases from the upper side (water inlet) towards the lower side (water outlet), as it is generally observed in New Caledonia (unpublished data).

The mean weight of the sub-adult animals was  $23.7 \pm 0.2$  g ( $n=276$ ). Shrimp were quickly caught with a net in the pond and 15 shrimp were placed in wire mesh cages of 0.5 m<sup>2</sup> (100 × 50 cm), with a height of only 15 cm to allow a good contact of shrimp with sediment. Shrimp were fed commercial pellets. They were not fed 12 h before and during the sampling in order to avoid any variation in the physiological parameters due to food intake (Lignot et al., 1999).

### 2.2. Molt stage determination

Six molt stages were defined according to the retraction of the epithelium within setae of the antennal scale (Drach, 1939; Chan et al., 1988). Shrimp were classified as A and B for respectively the early and late postmolt stages, C for intermolt and D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> for premolt stages. D<sub>0</sub> was the very early premolt stage, when epidermis starts to retract. D<sub>2</sub> was the late premolt stage prior to ecdysis, when the epidermis is at maximal retraction and it is possible to distinguish the developing seta.

### 2.3. Experimental procedure

Eighteen cages were placed three at a time at 6 different places in the pond (Fig. 1). Three were positioned in the middle of the pond (station 4, Fig. 1), and the others around the perimeter of the pond. To control soil effect, three cages were placed 30 cm above the bottom of the pond in mid water where the pond was 1.2 m deep (station 0, Fig. 1). Shrimp were caught and transferred directly into the cages at  $t_0$ . They were sampled 48 h later. Free animals were also caught at  $t_{48}$  in the pond close to the control cages and sampled as free control in order to check the effect of cage confinement. Haemolymph samples were rapidly



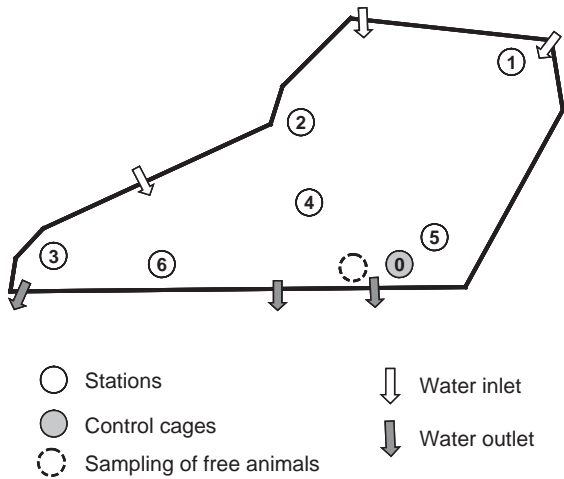


Fig. 1. Schematic representation of the pond and location of the stations. Three cages per station.

collected via the ventral sinus using disposable syringes and needles and were immediately distributed as follows: a 10- $\mu$ l subsample of haemolymph was used for measurement of osmotic pressure with a Wescor osmometer. A 10- $\mu$ l subsample was diluted in 390  $\mu$ l of distilled water and oxyhaemocyanin absorbance was measured at 335 nm (characteristic of oxyhaemocyanin) using a Lightwave S1000 spectrophotometer. A 180- $\mu$ l subsample of haemolymph was mixed with 20  $\mu$ l of 10% sodium citrate and centrifuged for 5 min at 800 $\times$ g, 5  $^{\circ}$ C. The supernatant (plasma) was stored at  $-80$   $^{\circ}$ C for further biochemical analysis.

#### 2.4. Plasma constituent analysis

A 50- $\mu$ l subsample of plasma was mixed with 100  $\mu$ l ice-cold 6% perchloric acid and centrifuged for 15 min at 13,000 $\times$ g for deproteinization. The pH of supernatant was neutralized with 14  $\mu$ l of KOH 3 M (Paterson, pers. com.). Commercial kits were used for glucose (Sigma) and magnesium (Biomérieux) determination. Kits were adapted to a microplate. Absorbance was read on a microplate reader (Digiscan Asys Hitech 340) and concentrations were calculated from a standard curve of substrate. Glucose was assayed on deproteinized plasma. The plasma level of total proteins was measured by the Lowry et al. (1951) technique adapted to microplate method, using bovine serum albumin (Sigma, molecular weight: 66,000 Da) as a standard.

#### 2.5. Water and sediment analysis

Temperature and oxygen concentrations in the water at the cage level were measured with an oxymeter

Oxyguard in the morning when the dissolved oxygen concentration is at minimum. A sample of water was collected close to the cages for the following measurements: salinity was measured using a refractometer; turbidity was measured directly at 515 nm with a handheld turbidimeter Aquafluor<sup>TM</sup>; the pH was measured with a pH-meter Knick 651; osmotic pressure of the water on each station was measured as for the haemolymph with the osmometer. Colorimetric methods were used to analyse total ammonia nitrogen (TAN) according to the methods of Koroleff (1976) adapted to seawater, and nitrite with the method of Benschneider and Robinson (1952).

The first centimetre of sediment was sampled in duplicate directly where the cages were located with a polypropylene sampling tube at the end of the experiment. pH and redox potential (Eh) were assessed in situ on the first centimetre according to the method described by Hussenot and Martin (1995). Eh was measured with a specific electrode (Cofralab PT5700A). The sediment water content was estimated by calculating the difference of weight before and after drying a subsample at 60  $^{\circ}$ C for 5 days. A second subsample was centrifuged at 2000 $\times$ g for 20 min and the pore water collected. TAN concentrations in the pore water were measured by the Koroleff (1976) method adapted to seawater. Ammonia  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentrations were calculated from the TAN according to the equilibrium equation of Bower and Bidwell (1978) based on the salinity, pH and temperature of the pore water. Nitrite concentrations were measured with the same method used for water samples.

#### 2.6. Data and statistical analysis

The hypo-OC was calculated as the difference between the osmotic pressure of shrimp haemolymph and the seawater. The oxyhaemocyanin concentration was calculated using an extinction coefficient ( $E_{1\text{cm}}^{\text{mm}}$ ) of 17.26 (Chen and Cheng, 1993). The ratio of oxyhaemocyanin to total proteins was calculated by dividing the concentration of oxyhaemocyanin ( $\text{mmol l}^{-1}$ ) by that of total proteins ( $\text{mmol l}^{-1}$ ), which was converted from  $\text{mg ml}^{-1}$  to  $\text{mmol l}^{-1}$  by dividing by 66 (Chen and Cheng, 1993). There were insufficient animals in stages A and B for statistical analysis, and data of stages C and  $D_0$  were pooled.

Physiological states of male and female shrimp were compared. No differences were observed between male and female ( $p > 0.35$  for all parameters). Data were therefore grouped.

Table 1  
Values of sediment parameters for each station

	Stations					
	1	2	3	4	5	6
Water content (%)	24	37	39	49	44	38
pH	7.5	7.1	7.3	7.3	7.3	7.5
Redox potential (mV)	151	108	112	111	107	111
Total ammonia N (mg l <sup>-1</sup> )	4.88	4.69	5.03	8.51	4.04	4.52
NH <sub>3</sub> -N (mg l <sup>-1</sup> )	0.11	0.04	0.07	0.13	0.06	0.09
NO <sub>2</sub> -N (µg l <sup>-1</sup> )	0.03	0.03	0.03	0.05	0.05	0.03

Refer to Fig. 1 for location of stations within the pond.

Data were analysed with ANOVA at the significant threshold of 5% (Statview computer software). Data are expressed and plotted as mean ± standard error.

### 3. Results

#### 3.1. Sediment and water characteristics

##### 3.1.1. Water

Mean temperature was 27.6 °C, salinity was 27‰ and osmotic pressure was 777 mOsm kg<sup>-1</sup>. Mean early morning dissolved oxygen concentrations varied between 3.6 and 4.9 mg l<sup>-1</sup> with an average of 4.2 ± 0.6 mg l<sup>-1</sup>. Mean pH was 7.93 ± 0.04. Two groups of turbidity could be distinguished: the first one with a mean turbidity of 6.2 ± 1.5 NTU corresponding to stations 0, 1, 2 and 3, and the second one with a mean value 3 times higher of 18.9 ± 0.3 for stations 4, 5 and 6. Concentrations of TAN were all below the detection limit of the assay (0.003 mg l<sup>-1</sup>). Values of N-NO<sub>2</sub> concentrations varied between 0.36 and 1.37 µg l<sup>-1</sup>.

Table 2

Blood physiological parameters for *L. stylirostris* in intermolt (C/D<sub>0</sub>) and premolt (D<sub>2</sub>) caught in the pond (control) or maintained for 48 h in cages; mean ± S.E. (n)

	Intermolt		Premolt (stage D <sub>2</sub> )	
	Control (19)	Cage (3)	Control	Cage
Hypo-OC (mOsm kg <sup>-1</sup> )	-33.4 ± 3.9	–	-28.6 ± 5.5 (18)	-17.4 ± 4.7 (13)
Mg ions (mmol l <sup>-1</sup> )	7.96 ± 0.60	6.59 ± 1.92	5.83 ± 1.25 (16)	7.60 ± 0.99 (13)
Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	55.8 ± 3.3	39.3 ± 8.3	48.9 ± 2.7 (15)	41.4 ± 3.7 (13)
Total proteins (mg ml <sup>-1</sup> )	160.8 ± 4.1 <sup>a</sup>	135.1 ± 13.0 *	172.4 ± 2.7 <sup>b</sup> (15)	151.1 ± 5.4 (13)*
Oxyhaemocyanin (mmol l <sup>-1</sup> )	2.19 ± 0.06	1.79 ± 0.19*	2.42 ± 0.10 (16)	2.03 ± 0.07 (13)*
Oxyhaemocyanin/total proteins ratio (%)	90.7 ± 2.7	87.1 ± 1.2	92.6 ± 3.6 (15)	90.5 ± 5.4 (13)

Significant differences between molt stages for control shrimp are indicated by different letters ( $p < 0.05$ ).

\* Significant difference between control and animals in cage for each molt stage ( $p < 0.05$ ).

##### 3.1.2. Sediment

The percentage of water in the sediment varied from 24% (station 1) to 49% (station 4), with an average of 39 ± 9%. pH was nearly homogeneous with a mean value of 7.4 ± 0.2. Mean Eh was 117 ± 17 mV. TAN varied between 4.04 and 4.88 mg l<sup>-1</sup> for all stations except for station 4 with a value nearly twice as concentrated (8.51 mg l<sup>-1</sup>). Concentrations of N-NH<sub>3</sub> were all below 0.2 mg l<sup>-1</sup>, with an average of 0.08 ± 0.03 mg l<sup>-1</sup>. Average N-NO<sub>2</sub> concentration was as low as 0.04 ± 0.01 µg l<sup>-1</sup> (Table 1).

#### 3.2. Effect of cage confinement

Recovery of shrimp in cages without contact with pond bottom was 80%, without dead shrimp being observed the day of sampling. No data were available for control shrimp in stage D<sub>1</sub>. Hypo-OC (stage D<sub>2</sub> only), Mg ions and glucose concentrations in shrimp maintained in cages without contact with soil for 48 h were not different from the concentrations measured in free control shrimp caught in the pond. However, total proteins and oxyhaemocyanin concentrations were 12.3% to 18.3% lower in shrimp maintained in cages, for both stages C/D<sub>0</sub> and D<sub>2</sub> (Table 2).

#### 3.3. Effect of exposure to pond bottom on haemolymph constituents

Mean recovery of shrimp was 87% and there were no differences in survival between stations, including station 0 (control cages). Location (all molt stages combined) had a highly significant effect on all physiological parameters tested ( $p < 0.0001$ ).

Not enough data on hypo-OC from control shrimp were available for statistical analysis ( $n = 2$ ) for stage C/D<sub>0</sub>. However, hypo-OC was lower in shrimp sampled in



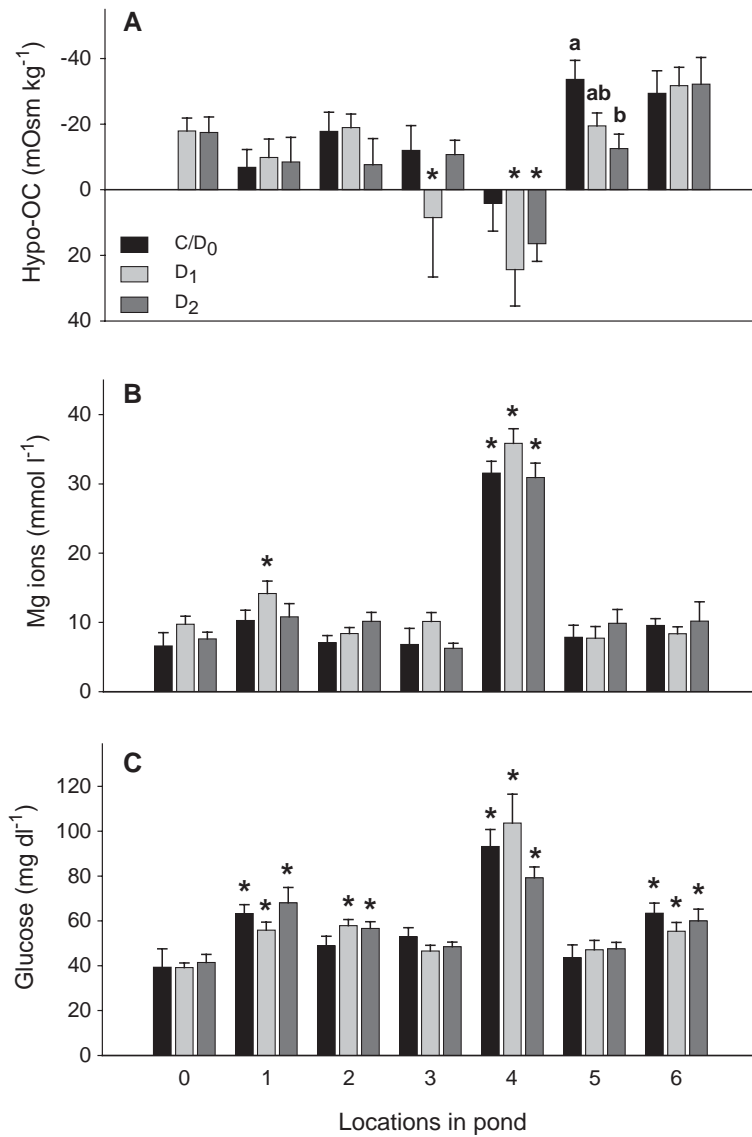


Fig. 2. Mean (S.E.) hypo-osmoregulatory capacity (hypo-OC) (A), Mg ions concentration (B), and glucose concentration (C) in the haemolymph of *L. stylirostris* in three molt stages (C/D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub>) maintained in cages above the soil (control, 0) or in contact with sediment (1 to 6) for 48 h. See Fig. 1 for location of stations within the pond. Mean values from 3–19 determinations. For each molt stage, bars with \* are significantly different from control ( $p < 0.05$ ). Within a location, bars with different letters indicate significant differences between molt stages ( $p < 0.05$ ).

station 4 compared to animals sampled in the other stations (Fig. 2A). No differences were observed in this group for Mg ion concentration, except for station 4 with a value nearly 5 times higher than that of the control ( $31.6 \pm 1.7 \text{ mmol l}^{-1}$  against  $6.6 \pm 1.9 \text{ mmol l}^{-1}$  for control) (Fig. 2B). Plasma glucose level was significantly higher in animals located on stations 4 (2.4 times the control value), 1 and 6 (1.6 times) compared to control shrimp (Fig. 2C). Total proteins concentration was also higher in animals of station 4 compared to the control (Fig. 3A). There was no significant difference in

oxyhaemocyanin concentration, although the concentration observed in shrimp from station 2 tended to be lower than in control shrimp ( $p = 0.051$ ) (Fig. 3B). Lastly for this group, the oxyhaemocyanin/total proteins ratio was significantly lower in shrimp from stations 2 (60% of the control value) and 4 (70%) compared to the control (Fig. 3C).

Hypo-OC was depressed in animals in stage D<sub>1</sub> located on station 4 (2.3 times lower than that of the control), but also on station 3 (1.5 times lower) compared to the control (Fig. 2A), while Mg ions

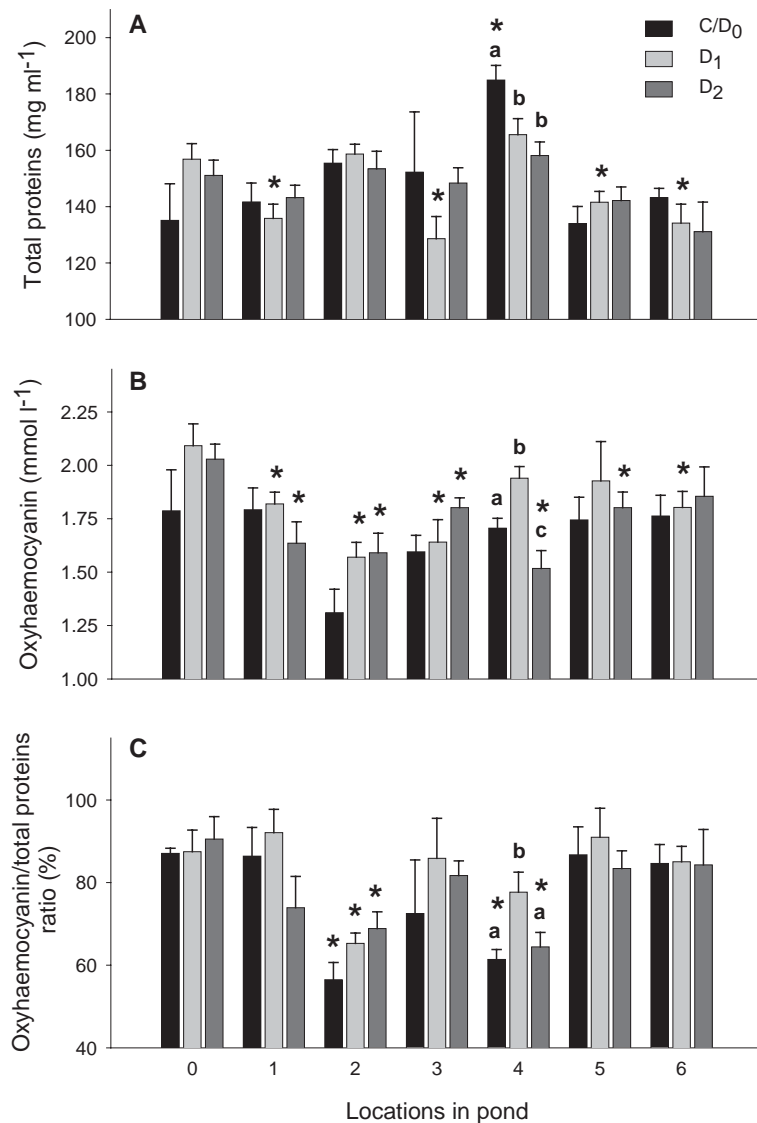


Fig. 3. Mean (S.E.) total proteins (A), oxyhaemocyanin (B) concentrations and oxyhaemocyanin/total proteins ratio (C) in the haemolymph of *L. stylirostris* in three molt stages (C/D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub>) maintained in cages above the soil (control, 0) or in contact with sediment (1 to 6) for 48 h. See Fig. 1 for location of stations within the pond. Mean values from 3–19 determinations. For each molt stage, bars with \* are significantly different from control ( $p < 0.05$ ). Within a location, bars with different letters indicate significant differences between molt stages ( $p < 0.05$ ).

concentration was 3.7 times higher on station 4 than for control shrimp, reaching  $35.9 \pm 2.1 \text{ mmol l}^{-1}$ . Mg ions were also significantly higher in station 1 ( $14.2 \pm 1.8 \text{ mmol l}^{-1}$ ) compared to the control ( $9.7 \pm 1.2 \text{ mmol l}^{-1}$ ) (Fig. 2B). As for stage C/D<sub>0</sub>, plasmatic glucose concentration was increased in shrimp of station 4 ( $103.7 \pm 12.8 \text{ mg dl}^{-1}$ ) compared to control ( $39.2 \pm 2.0 \text{ mg dl}^{-1}$ ), and also in shrimp of stations 1, 2 and 6 (Fig. 2C). Total proteins concentration was significantly lower in shrimp from stations 1, 3, 5 and 6 compared to control, while concentration was close to the control

( $156.9 \pm 5.5 \text{ mg dl}^{-1}$ ) for stations 2 and 4 (respectively  $158.7 \pm 3.5$  and  $165.6 \pm 5.7 \text{ mg ml}^{-1}$ ) (Fig. 3A). Oxyhaemocyanin concentration was also lower in all stations compared to control except in stations 4 and 5 (Fig. 3B). The oxyhaemocyanin/total proteins ratio was reduced to 30% compared to the control for shrimp in station 2, while there were no differences for the other stations (Fig. 3C).

Exposure to sediment had an effect on all physiological parameters for shrimp in stage D<sub>2</sub>, except on total proteins concentration ( $p > 0.05$ ) (Figs. 2 and 3).

Hypo-OC of shrimp in station 4 was significantly lower compared to control ( $+17.5 \pm 4.7$  against  $-16.5 \pm 5.3$  mOsm  $\text{kg}^{-1}$ ) (Fig. 2A). Mg ions concentration of shrimp sampled on station 4 was 4 times higher than control ( $30.9 \pm 2.1$  against  $7.6 \pm 1.0$  mmol  $\text{l}^{-1}$ ) (Fig. 2B). Glucose level was higher in 4 stations out of 6 compared to control (Fig. 2C), with a maximum value of  $79.2 \pm 4.9$  mg  $\text{dl}^{-1}$  in station 4 (Fig. 2C). As for stage D<sub>1</sub>, oxyhaemocyanin was lower in 5 stations out of 6, with a maximum decrease for station 4 ( $1.52 \pm 0.08$  mmol  $\text{l}^{-1}$  compared to  $2.03 \pm 0.07$  mmol  $\text{l}^{-1}$  for control) (Fig. 3B). The oxyhaemocyanin/total proteins ratio was significantly lower for stations 2 and 4 compared to control (Fig. 3C).

### 3.4. Effect of molt stage

The only difference for control shrimp (no stage D<sub>1</sub>) is a lower total protein concentration in stage C/D<sub>0</sub> compared to D<sub>2</sub> (Table 2). All stations mixed, only oxyhaemocyanin concentration was affected by molt stage ( $p=0.04$ ). If we look at the different locations within the pond, some differences appeared for stations 4 and 5. In station 4, oxyhaemocyanin concentration was lower in stage D<sub>2</sub> compared to stages D<sub>1</sub> and C/D<sub>0</sub>, and stage C/D<sub>0</sub> was also significantly lower than stage D<sub>1</sub> (Fig. 3B). Total proteins concentration was higher in stage C/D<sub>0</sub> compared to stages D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> (Fig. 3A), while the oxyhaemocyanin/total proteins ratio was lower in stages C/D<sub>0</sub> and D<sub>2</sub> compared to stage D<sub>1</sub> (Fig. 3C). The hypo-OC was lower in stage D<sub>2</sub> compared to stage C/D<sub>0</sub> in station 5 (Fig. 2A).

## 4. Discussion

### 4.1. Effect of cage confinement

The lack of significant decrease in hypo-OC and increase in Mg ions, glucose, total proteins and oxyhaemocyanin in both intermolt and premolt animals indicates that the shrimp confined in cage presented no sign of short-term stress response (Lignot et al., 2000; Hall and van Ham, 1998; Boglio and Goarant, 1996; Mugnier and Justou, 2004). Decrease in total proteins was mainly due to the decrease in haemocyanin, as the oxyhaemocyanin/total proteins ratio in confined shrimp was close to the value observed in control animals. Shrimp in cages received presumably less food than the free shrimp in the pond, as they were not specifically fed. Therefore, partial starvation could be the origin of the lower concentration in plasmatic total proteins.

### 4.2. Water and sediment characteristics

Water chemistry values were homogenous within the pond, indicating a good circulation of water, and were also within a correct range for shrimp rearing (Boyd, 1990). Salinity (27‰) was lower than that observed usually in ponds in New Caledonia (around 34–35‰), due to a tropical depression and heavy rain the days preceding the experiment. However, it was the same throughout the 48 h of the experiment. The osmotic pressure of the water ( $777$  mOsm  $\text{kg}^{-1}$ ) was close to the iso-osmotic point of *L. stylirostris*, which is  $735$  mOsm  $\text{kg}^{-1}$  (26‰) for 10 g shrimp (Lemaire et al., 2002). Oxygen concentrations were all above the level of  $3$  mg  $\text{l}^{-1}$ , below which long-term effect on survival and growth is observed in *L. stylirostris* (Aquacop et al., 1988) and short-term effect on hypo-OC (Mugnier and Soye, 2005).

Sediment of station 4, located in the middle of the pond, was characterized by the highest water content, corresponding to the lowest bulk density (Avnimelech et al., 2001). Although there is no direct measure of organic matter, it has been shown that the bulk density is inversely related to the organic carbon concentration (Avnimelech et al., 2001; unpublished data). Concentration of TAN in pore water, which is mainly the product of organic matter mineralization, was also higher in station 4 than in the other stations. These indicators suggest that it was the main zone of deposited organic matter.

### 4.3. Shrimp physiological response in relation to pond bottom

*L. stylirostris*, as most of the shrimp species, is benthic, and therefore in contact with sediment and exposed to its compounds and those of pore water (Lemonnier et al., 2004).

A decrease in hypo-OC coupled with an increase in Mg ion and glucose concentrations in shrimp sampled in station 4—whatever the molt stage—compared to control shrimp (station 0) are characteristic of a short-term stress response. Moreover, the oxyhaemocyanin/total proteins ratio was significantly decreased in stages C/D<sub>0</sub> and D<sub>2</sub>. In a less extent, shrimp sampled in station 1 presented a stress response limited to an increase in glucose concentration in the three molt stages, coupled with an increase in Mg ion concentration in stage D<sub>1</sub> only. Station 2 also seemed to induce a stress response which was not observed in stage C/D<sub>0</sub>, except a decrease in oxyhaemocyanin/total proteins ratio. Previous works have shown that zones of organic matter accumulation

can result in lower shrimp abundance and reduced shrimp growth (Delgado et al., 2003; Ritvo et al., 1998). However, even if station 4 was presumably the main zone of deposited organic matter, measured indicators of water and sediment pore water quality were within normal operating limits. No stressors could be identified. Therefore, no conclusion could be deduced from the present results about the nature of the stressor(s). However, synergic effects of two sub-lethal parameters such as oxygen and  $\text{NH}_3$  on survival have been observed in experimental conditions (Allan et al., 1990; Wajsbrodt et al., 1990, unpublished results), and nothing is known on possible cumulative effects of environmental factors at sub-stressful concentration on shrimp physiology.

#### 4.4. Effect of molt stage

Comparison of stages  $C/D_0$  and  $D_2$  in the control group showed that, as previously observed in *L. stylirostris*, there were no significant differences in Mg ions concentration, glucose and oxyhaemocyanin/proteins ratio (Mugnier and Justou, 2004). The lowest hypo-OC usually observed in stage  $D_2$  compared to stage C (Lignot et al., 1999; Mugnier and Justou, 2004) was not observed in our study, but the osmotic pressure of the water close to the iso-osmotic point of the haemolymph means that the need of osmotic regulation was reduced and possibly within the capacity of  $D_2$  animals. Oxyhaemocyanin and total proteins concentrations were significantly higher in stage  $D_2$  compared to stage  $C/D_0$ . A similar tendency was observed in a previous study (Mugnier and Justou, 2004).

In term of stress response, stage  $D_1$  seems to be more sensitive than stages  $D_2$  and  $C/D_0$  as shown by a significant increase in plasmatic glucose concentration in 4 stations out of 6 (only 3 stations for stage  $C/D_0$ ) and in Mg ion in 2 stations out of 6 (one station for stages  $C/D_0$  and  $D_2$ ) compared to the control, and also a decrease in total proteins and oxyhaemocyanin in 4 stations out of 6.

#### 4.5. Physiological parameters as tools to evaluate environmental conditions in the field

Variation in all parameters was similar to what was observed in *L. stylirostris* subjected to a stressful concentration of ammonia, except for total proteins which was decreasing in stressed animals compared to control (Mugnier and Justou, 2004). Because oxyhaemocyanin did not change, the oxyhaemocyanin/total proteins ratio was decreased for stage  $C/D_0$ , while the

decrease in ratio was mainly due to oxyhaemocyanin decrease in stage  $D_2$ .

OC, which is usually a sensitive stress indicator in osmoregulator species (Lignot et al., 2000), showed its limit in this field survey. Indeed, due to the low salinity and therefore osmolality of the pond water, with a value close to the iso-osmotic point of the shrimp, OC response was moderate. Lignot et al. (1999) encountered the same type of problem with a field experiment where salinity varied throughout their experiment. They could not use the osmoregulatory capacity as a stress indicator (Lignot et al., 1999), but used the osmolality instead. However, the OC is still a good indicator if salinity conditions are the same throughout the sampling. For example, Lemonnier et al. (2004) were able to use OC to indicate stress from pH on shrimp.

Blood glucose level seems to be the more sensitive physiological parameter in this study. Hall and van Ham (1998) observed that increase of blood glucose occurred when *P. monodon* was submitted to stressors such as depletion of dissolved oxygen or increased dissolved carbon dioxide levels, perturbation which may be encountered in a pond. The second more sensitive indicator is Mg ions concentration, which plays an important role as co-factor in enzyme systems and as a modulator of the haemocyanin (Morrit and Spicer, 1993). Boglio and Goarant (1996) found that this stress indicator was more sensitive than osmolality for *P. monodon* and *L. stylirostris*. It increases in the haemolymph, possibly because its active regulation is compromised as a result of stress. Total proteins concentration presents a controversial pattern in molt stage  $D_1$ : it was equivalent to the control in shrimp of station 4 showing furthermore a stress response (decrease in hypo-OC, increase in Mg ions and glucose concentrations), but was also significantly lower in shrimp with no sign of stress such as in station 5. It increased in shrimp in stage C in station 4 compared to the control cages and suggests that the increase rather than the decrease was part of the stress response. It was therefore a poor indicator in this study. Oxyhaemocyanin was also significantly lower in most of the stations compared to control cages for both  $D_1$  and  $D_2$ . Thus, the oxyhaemocyanin/total proteins ratio is possibly more representative of a stress response (stations 4 and 2 for stages  $C/D_0$  and  $D_2$ , station 2 for stage  $D_1$ ), and therefore more relevant than total proteins or oxyhaemocyanin separately.

The technique used in this study to evaluate environmental conditions in the field for their impact on shrimp has good potential for producing useful information.

## Acknowledgements

This work was supported by research grants from the North and South Provinces of New Caledonia. The authors would like to thank the owner of the private farm and his employees for allowing us access to the farm facilities and the shrimp, and permitting this experiment to be conducted in good conditions. We also want to thank the people of the Laboratoire d'Aquaculture Calédonien who kindly helped in the sampling.

## References

- Allan, G.L., Maguire, G.B., Hopkins, S.J., 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. *Aquaculture* 91, 265–280.
- Aquacop, Bédier, E., Soyez, C., 1988. Effects of dissolved oxygen concentration on survival and growth of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris*. *J. World Aquac. Soc.* 19 (13A).
- Avnimelech, Y., Zohar, G., 1986. The effect of local anaerobic conditions on growth retardation in aquaculture systems. *Aquaculture* 58, 167–174.
- Avnimelech, Y., Ritvo, G., Meijer, L.E., Kochba, M., 2001. Water content, organic carbon and dry bulk density in flooded sediments. *Aquacult. Eng.* 25, 25–33.
- Benschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.* 11, 86–87.
- Boglio, E., Goarant, C., 1996. Hemolymph magnesium as a measure of acute physiological stress in wild broodstock *Penaeus monodon* and cultured broodstock *P. stylirostris*. Second International Conference on the Culture of Penaeid Prawns and Shrimps. SEAFDEC, Iloilo, Philippines, p. 101.
- Bower, C.E., Bidwell, J.P., 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.* 35, 1012–1016.
- Boyd, C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Alabama, USA.
- Boyd, C.E., 1995. Bottom Soils, Sediment and Pond Aquaculture. Chapman and Hall, New York, USA, p. 348.
- Chan, S.-M., Rankin, S., Keeley, M., 1988. Characterization of the molt stages in *Penaeus vannamei*: setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose. *Biol. Bull.* 175, 185–192.
- Chen, J.-C., Cheng, S.-Y., 1993. Studies on haemocyanin and hemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B (2), 293–296.
- Delgado, P.C., Avnimelech, Y., McNeil, R., Bratvold, D., Browdy, C. L., Sandifer, P., 2003. Physical, chemical and biological characteristics of distinctive regions in paddlewheel aerated ponds. *Aquaculture* 217, 235–248.
- Drach, P., 1939. Mue et cycle d'intermue chez les crustacés décapodes. *Ann. Inst. Océanogr. Paris N. S.* 19, 103–391.
- Hall, M.R., van Ham, E.H., 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *J. World Aquac. Soc.* 29, 290–299.
- Hopkins, J.S., Sandifer, P.A., Browdy, C.L., 1994. Sludge management in intensive pond culture of shrimp: effect of management regime on water quality, sludge characteristic, nitrogen extinction, and shrimp production. *Aquacult. Eng.* 13, 11–30.
- Hussenot, J., Martin, J.L.M., 1995. Assessment of the quality of pond sediment in aquaculture using simple rapid techniques. *Aquacult. Int.* 3, 123–133.
- Koroleff, F., 1976. Determination of ammonia. In: Grasshof, K. (Ed.), *Methods in Seawater Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, RFA, pp. 126–133.
- Lemaire, P., Bernard, E., Martinez-Paz, J.A., Chim, L., 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 209, 307–317.
- Lemonnier, H., Brizard, R., 2001. Evolution of pond bottom and production in a semi-intensive shrimp pond. World Aquaculture Society Meeting, January 21–25, 2001. Book of Abstracts. Disney's Coronado Springs Resort Lake Buena Vista, Florida, p. 366.
- Lemonnier, H., Bernard, E., Boglio, E., Goarant, C., Cochard, J.C., 2004. Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect. *Aquaculture* 240, 297–312.
- Lignot, J.-H., Cochard, J.-C., Soyez, C., Lemaire, P., Charmantier, G., 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170, 79–92.
- Lignot, J.H., Spanings-Pierrot, C., Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209–245.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.F., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 251.
- Morrit, D., Spicer, J.I., 1993. A brief re-examination of the function and regulation of extracellular magnesium and its relationship to activity in crustacean arthropods. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A, 19–23.
- Mugnier, C., Justou, C., 2004. Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 309, 35–46.
- Mugnier, C., Soyez, C., 2005. Response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to temperature decrease and hypoxia in relation to molt stage. *Aquaculture* 244, 315–322.
- Paul, R.J., Pirow, R., 1997/98. The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates. *Zoology* 100, 298–306.
- Péqueux, A., 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J. Crustac. Biol.* 15, 1–60.
- Ram, N.M., Zur, O., Avnimelech, Y., 1982. Microbial changes occurring at the sediment–water interface in an intensively stocked and fed fish pond. *Aquaculture* 27, 63–72.
- Ritvo, G., Samocha, T.M., Lawrence, A.L., Neill, W.H., 1998. Growth of *Penaeus vannamei* on soils from various Texas shrimp farms, under laboratory conditions. *Aquaculture* 163, 101–110.
- Wajsbrodt, N., Gasith, A., Krom, M.D., Samocha, T.M., 1990. Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile green tiger prawn *Penaeus semisulcatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 497–504.



## **Annexe 6**

Hugues Lemonnier, Romain Baret, Jean Sébastien Lam, Billy Wapotro

Effet de la remise en suspension des sédiments par les crevettes : résultats préliminaires







## Fiche bio 2005-02 : Effet de la remise en suspension des sédiments par les crevettes : résultats préliminaires

Hugues Lemonnier\*, Romain Baret, Jean Sébastien Lam, Billy Wapetro  
Contact : hlemonni@ifremer.fr

### 1. Introduction

La remise en suspension des sédiments favorise les échanges entre le sédiment et la colonne d'eau. Cet échange augmente l'enrichissement de l'eau en sels nutritifs donc la production primaire et en final son enrichissement organique. La remise en suspension pourrait aussi favoriser le transfert de pathogènes comme *Vibrio nigripulchritudo*. En effet, ce pathogène a été observé d'abord dans les sédiments puis dans la colonne d'eau. (Goarant et al., in press).

La turbidité est une bonne expression de la remise en suspension. Lorsqu'elle est mesurée en bassin (annexe 1), elle résulte de l'action de nombreux facteurs : les paramètres météorologiques (vent, pluie) surtout dans ce milieu peu profond (Bailey and Hamilton, 1997), les paramètres zootechniques (aération, renouvellement, passage des bateaux), et l'activité des crevettes.

La remise en suspension par les crevettes pourrait être un facteur prépondérant comme le suggère les observations faites sur les accumulations de vase dans les bassins de production (Lemonnier et al., 2001 ; 2004). La turbidité augmente avec la longueur des animaux (75-135 mm) à cause de leurs déplacements et de leur activité alimentaire (Ritvo *et al.*, 1997). Cette expérimentation préliminaire avait pour objectif d'évaluer le niveau de turbidité uniquement lié à l'activité des animaux.

### 2. Matériel et méthode

Huit bacs de 2m<sup>3</sup> et une hauteur d'eau de 1 m ont été utilisés :

- 2 bacs sans crevette ni sédiment (Témoin)
- 2 bacs avec 30 crevettes sans sédiment
- 2 bacs sans crevettes avec 5 cm de sédiment
- 2 bacs avec 30 crevettes et 5 cm de sédiment

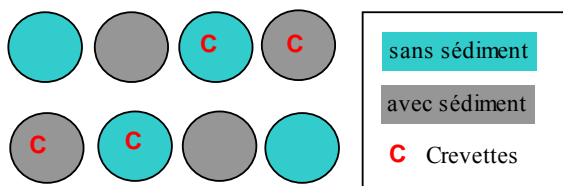


Fig. 1 : Schéma du dispositif expérimental

Les crevettes ont été nourries avec 10g d'aliment par jour. L'eau était renouvelée en continu. Les paramètres de l'eau ont été suivis à l'aide du système d'acquisition

en continu mis en place récemment (voir Fiche Bio 2005-01). Le temps d'échantillonnage par bac était de 4 minutes. Trois paramètres environnementaux, la température, l'oxygène et la turbidité ont été relevés en continu. Le suivi a été réalisé du 5 au 17 août 2005.

### 3. Résultats

**Les animaux** : La survie était de 100% dans chacun des bacs après 12 jours. Le poids moyen à la pêche variait de 13,2 à 14,1 g en fonction des bacs. Il n'y a pas d'effet traitement sur ce paramètre.

**Température et oxygène** : La température de l'eau est restée fraîche sur les 12 jours du suivi. Les valeurs ont varié entre 17,6°C et 21,6°C (Fig. 2). Les bassins étant oxygénés par bullage, les valeurs d'oxygène étaient similaires entre les bacs et comprises entre 8 et 9 mg/L.

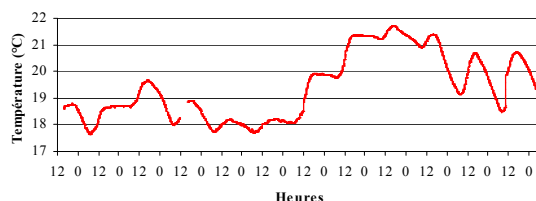


Fig. 2 : Evolution de la température dans le bac de référence.

### La turbidité (fig. 3)

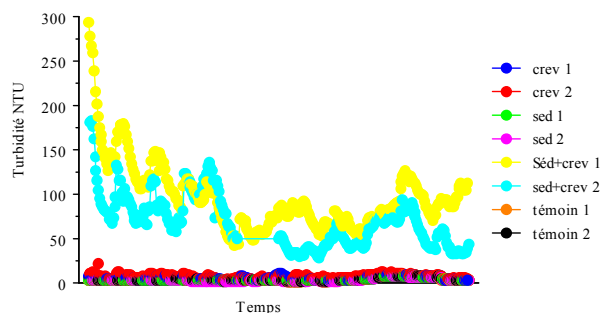
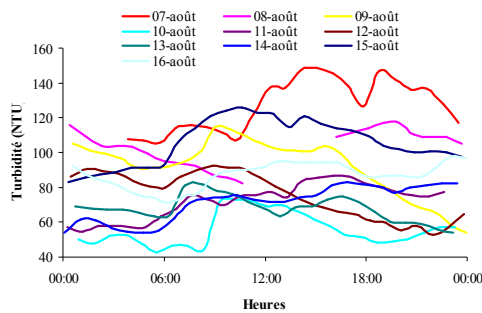


Fig. 3 : Evolution de la turbidité en fonction des traitements (les valeurs initiales élevées reflèteraient le temps d'adaptation des animaux).

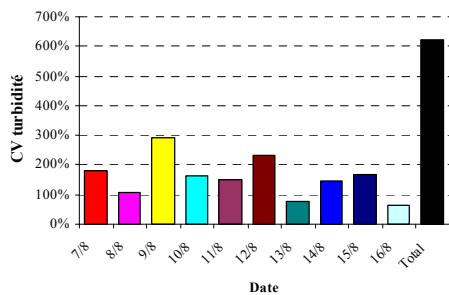
- Une ANOVA à deux facteurs montre un effet très significatif du traitement, de la date et de l'interaction « traitement – date ».
- Les valeurs des traitements « séd + crev » sont proches des valeurs mesurées *in situ* en bassin après J80 et pour des animaux de poids équivalent (annexe 1).

- On observe généralement une augmentation de la turbidité après le nourrissage (ex : nourrissage le 7 août à 10h et 17h) (Fig. 4).



**Fig. 4 :** Evolution de la turbidité en fonction de l'heure pour un bac crevettes + sédiment (n°1).

- La variation journalière pour les bacs « séd + crev » est inférieure à la variation sur la totalité du suivi (Fig. 5).



**Fig. 5 :** Coefficients de variations calculés à partir des données journalières et sur la totalité du suivi pour le bac «séd+crev 1».

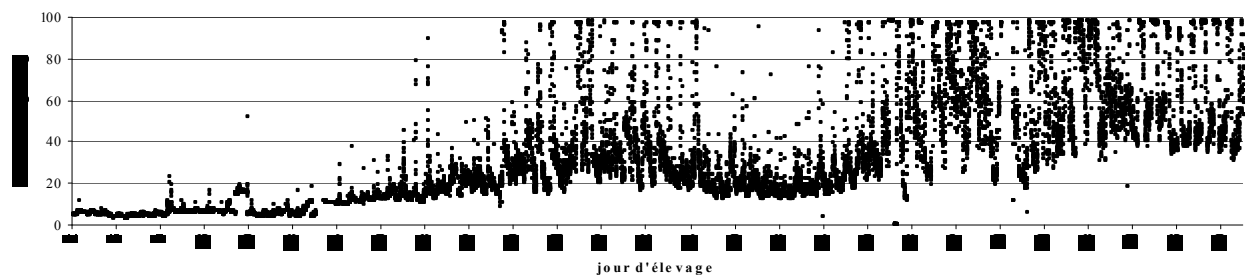
#### 4. Conclusions

- L'effet des animaux sur la remise en suspension des sédiments est très significatif mais cet effet est variable en fonction des jours.
- L'effet de l'activité des crevettes en bassin pourrait donc être prépondérant sur la turbidité du milieu et sur la remise en suspension des sédiments. Son influence sur les phénomènes de flux et de minéralisation pourrait être significatif (Blackburn, 1988).
- La variation inter journalière est supérieure à la variation journalière. Le cycle de mue pourrait en être la cause (Ritvo et al., 1997).

#### 5. Perspectives

1. Confirmer ces premières observations,
2. Travailler à différentes températures (effet sur l'activité des crevettes),
3. Evaluer l'effet du poids des crevettes sur la remise en suspension et sur le volume de sédiment bioturbé,
4. Rechercher l'origine des variations inter journalières (Rôle du cycle de mue ?).

**Annexe I :** Evolution de la turbidité sur les 100 premiers jours d'élevage sur le fond d'un bassin semi-intensif (Données du suivi réalisé sur le bassin H du 11 février 2004 au 21 mai 2004).



#### Pour plus d'informations :

- Bailey M.C., Hamilton D.P., 1997. Wind induced sediment resuspension: a lake-wide model. *Ecological Modelling* 99: 217-228.
- Baret R., 2005. Réalisation et test d'un système d'acquisition des facteurs environnementaux en continu. Application à l'expérimentation en crevetticulture. Mémoire de stage pour l'obtention du diplôme de l'IUT Mesures Physiques de l'Université de Bordeaux I.
- Blackburn TH, Lund BA, Krom MD, 1988. C- and N-mineralization in the sediments of earthen marine fishponds. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 44: 221-227.
- Goarant C., Anquer D., Herlin J., Domalain D., Imbert F., De Decker S., in press. "Summer Syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. *Aquaculture*.
- Lemonnier H., Brizard R., Herlin J., and Mugnier C., 2001. Sediment accumulation in earthen shrimp ponds: Research in New Caledonia shows effects of wind, aeration, stocking density. *Advocate* 4(5): 78-79.
- Lemonnier H., Brizard R., Legrand A., 2004. Influence des pratiques zootechniques de la crevette (*Litopenaeus stylirostris*) et de l'âge des bassins sur la qualité des sédiments. In : *Styli 2003. Trente ans de crevetticulture en Nouvelle-Calédonie*. Nouméa-Koné, 2-6 juin 2003. Ed. Ifremer, Acts Colloq. 38, 31-38.
- Ritvo G., Neill W.H., Lawrence A.L., Samocha T.M., 1997. Turbidity related to shrimp size in tanks with soil substrate. *Aquacultural engineering* 16: 221-225.