

Rapport de stage de Master 1

Parcours AQUADURA

Mise au point d'un protocole d'élevage larvaire du *Platax orbicularis* en mésocosme dans le cadre du projet PROTEGE



Thibaud Meurillon

27 mars au 12 août 2023

Direction des Ressources Marines de Polynésie Française

Vairao, Tahiti

Encadrant : Corentin Salvant

Table des matières

Partie I. Environnement de travail.....	5
Partie II : ETUDE.....	9
1Introduction	9
2Matériel et Méthode	15
2.1Milieu d'élevage.....	15
2.1.1Bassin de terre	15
2.1.2Bassin en béton.....	15
2.1.3Suisvis des paramètres abiotiques.....	17
2.2Apport extérieur de copépodes.....	17
2.3Matériel biologique	19
2.4Mise en élevage.....	21
2.5Traitement et analyses	21
3Résultats :	25
3.1Paramètres abiotiques.....	25
3.2Corrélation entre les paramètres abiotiques et le taux de survie des larves de <i>Platax orbicularis</i>	25
3.3Corrélation entre le taux de survie larvaire et la concentration en copépodes apportés via les pompages.....	27
3.4Comparaison des taux de survie larvaire en bassin de terre et en bassin en béton.....	29
4Discussion	29
4.1Analyse descriptive par condition	29
4.1.1L'éclairage.....	29
4.1.2Le renouvellement	29
4.1.4L'hydrodynamisme.....	31
4.1.5Les précipitations.....	31
4.2Développement larvaire et malformations	31
4.3Prise alimentaire.....	33
4.4Rentabilité économique.....	35
5Conclusion.....	35
6Bibliographie.....	40
7Annexes.....	43
7.1Analyse des pathogènes.....	43
a.Diagnostic Nodavirus	43
b.Diagnostic : <i>Tenacibaculum maritimum</i>	43
Résultats	44
1.Nodavirus	44

7.1.1Extraction d'ARN : quantification et qualification	44
7.1.2Diagnostic.....	45
a.Tenacibaculum maritimum	45
Conclusion.....	46
8Résumé.....	47
Summary	47

1 Partie I. Environnement de travail

La Direction des Ressources Marines de Polynésie Française est le service public placé sous la tutelle du Ministre de la culture, de l'environnement, des ressources marines et de l'artisanat (MCE). Elle est chargée du développement des filières aquacoles et de pêche sur le territoire de la Polynésie française. Initialement créée en 1959, elle emploie aujourd'hui 150 agents sur différents sujets.

La Direction des Ressources Marines (DRM) est chargée de :

- Concevoir et proposer les éléments de la politique en matière de perliculture, de pêche et d'aquaculture en Polynésie française, puis consécutivement, mettre en œuvre les orientations stratégiques du Pays et en assurer le suivi et l'évaluation ;
- Élaborer un cadre réglementaire favorable au développement durable du secteur, en contrôler l'application et assurer son respect ;
- Assurer la gestion et la préservation des ressources aquatiques en vue d'une exploitation responsable et durable ;
- Favoriser le développement économique du secteur en contribuant notamment au renforcement des capacités d'innovation et de valorisation des différentes filières productives, pour faciliter leur adaptation et leur intégration aux marchés locaux et extérieurs.

La cellule chargée de la recherche et du développement de la filière aquacole, est constituée d'une vingtaine d'agents sur le centre technique de Vairao. Ces agents sont répartis en plusieurs cellules. Il existe 7 cellules : *Platax orbicularis*, santé animale, environnement, crevetticulture, ostréiculture, ainsi qu'une cellule pour la logistique des installations.

Le Projet Régional Océanien des Territoires pour la Gestion durable des Ecosystèmes (PROTEGE) est une initiative mise en place en 2018 visant à promouvoir un développement économique durable et résilient face au changement climatique au sein des Pays et Territoires d'Outre-Mer européens du Pacifique (PTOM). Ceci en s'appuyant sur la biodiversité et les ressources naturelles renouvelables.

PROTEGE est un projet de coopération régionale entre les quatre PTOM du Pacifique : Nouvelle-Calédonie, Polynésie française, Wallis et Futuna et les Iles Pitcairn.

Le projet est mis en œuvre par la Communauté du Pacifique (CPS - programme Durabilité environnementale et changement climatique) et le Programme Régional Océanien de l'Environnement (PROE). Il est financé par l'enveloppe régionale du 11ème Fonds Européen de Développement (FED) à hauteur de 36 millions d'euros ainsi qu'au travers du cofinancement des trois territoires français de 128 000 euros. Pour une durée de quatre ans (2018-2022), il se décline en quatre thèmes : Agriculture et foresterie, pêche côtière et aquaculture, eau et pour finir espèces envahissantes.

Corentin Salvant, ingénieur aquacole et maître de stage, ainsi que Kilian Cella, technicien aquacole, ont été recrutés par l'équipe de la DRM dans le cadre du projet PROTEGE. Pour la partie Aquaculture en Polynésie Française, sont développés 2 projets. Le premier vise à la création d'une filière de production de macro-algues de l'espèce *Gracilaria gracilis*. Le deuxième projet vise à développer une technique de production d'alevins semi-extensive en mésocosme. C'est pour les besoins de ce deuxième projet que mon stage a été proposé. En effet, l'intérêt pour la DRM de maîtriser des productions en mésocosme est multiple. Ces méthodes de production moins coûteuses apportent une maîtrise qualitative en éclosion marine ainsi qu'une domestication facilitée de nouvelles espèces.

Dans le cadre de mon stage, nous effectuons des élevages larvaires de *Platax Orbicularis* (Parha Pue en tahitien) dans différents types de mésocosme. Le 1er type de mésocosme est un bassin de terre de 400 000 l. Le deuxième type de mésocosme est un bassin rectangulaire en béton d'une contenance de 14 000 l. Le développement de phytoplancton sauvage est favorisé par de l'amendement, cependant aucun inoculum n'est apporté aux mésocosmes et ces blooms sont obtenus naturellement via un pompage d'eau brut dans le lagon. Un apport quotidien de zooplancton sauvage est assuré via 5 pompes à zooplancton de type light trap placé dans la baie du centre technique de Vairao. Pour la bonne conduite des élevages larvaires, j'assure les suivis des différents paramètres des bassins. Les paramètres liés au zooplancton (suivis des population de copépodes dans les bassins, pompage, comptages des pompages, filtration des copépodes, transfert dans les différents bassins), les paramètres liés au phytoplancton (suivis de la turbidité), le développement des larves dans les systèmes d'élevage (observation du comportement, suivis des tubes digestifs et du développement) et enfin les paramètres physico-chimiques de l'eau, indice du bon équilibre de l'écosystème (température, salinité, oxygène, pH, matières azotées) . Je me consacre à temps plein sur la préparation, la mise en eau et le

suivis des systèmes d'élevage et bénéficie d'aide ponctuelle d'un technicien aquacole ainsi que l'encadrement de Mr Salvant.

2 Partie II : ETUDE

3 Introduction

Depuis l'origine de la domestication animale et du conditionnement de poissons sauvages en enceinte close, l'Homme a toujours voulu pallier la fluctuation saisonnière des pêches en développant des techniques de stockage et d'élevage afin de subvenir à ses besoins alimentaires. La sédentarisation et l'accroissement démographique ont incité l'homme à s'affranchir des aléas naturels en inventant des process aquacoles exploitant le contexte agraire et hydrologique des territoires.

Afin de fiabiliser la fourniture en juvéniles, des bassins spécifiques ont été progressivement créés pour assurer la reproduction et l'élevage larvaire de poisson d'eau douce en milieu confiné (Fan Li -473 avant JC).

Au cours du 20^{ème} siècle, les Japonais (Hudinaga, Kitajima, Watanabé, Fujita et al.1981) ont transposé ce concept en milieu marin pour la production en masse de juvéniles et ont ensuite diffusé leurs innovations en biotechnologie aquacole basée sur des modèles rigoureux. Cette dynamique devenue internationale a permis de vulgariser les techniques de cultures marines dans tous les domaines.

En Europe, dans les années 80, les mésocosmes piscicoles marins ont été conceptualisés par l'approche scientifique d'Oiestad, Kentouri, Divanach ou encore Husenot (1985)

Plus récemment aux Etats Unis, Daniel D. Benetti (2008) a utilisé ces méthodes pour domestiquer et pérenniser de nouvelles espèces tel que *Coryphaena hippurus*.

Les mésocosmes aquacoles sont des structures d'élevages destinés à la production d'animaux aquatiques à vocation commerciale. Ces outils modulables et multi spécifiques sont des bassins aquacoles de grand volume aménagés en espaces clos vidangeable et renouvelable facilement. Le mésocosme historique est un écosystème circonscrit reproduisant les conditions environnementales naturelles à l'abri des compétiteurs et des prédateurs. Il favorise le développement d'une chaîne trophique intrinsèque ainsi qu'une colonisation de taxons détritivore recyclant la matière et régulant la salubrité du milieu afin d'assurer une croissance larvaire harmonieuse jusqu'à l'obtention de juvénile identique à l'adulte.

Ces techniques d'éclosion sont l'intermédiaire entre l'intensif et l'extensif de par la concentration larvaire élevée par le système. En effet, elle permet une concentration entre 1 à

10 larves par litres contre 0,1 à 1 pour le modèle extensif et 10 à 100 pour le modèle intensif. Elle présente deux variantes selon l'origine et la qualité de la chaîne trophique.

La première variante est le mésocosme extensif défini par une chaîne alimentaire endogène et complétée par un apport exogène s'il y a observation de symptômes de surpâturage. Dans la seconde dite des « mésocosmes intensifs », la nourriture est essentiellement exogène, mais présente une capacité de reproduction due à la fois à la faible densité des larves et à la présence de phytoplancton dans l'environnement. De ces 2 philosophies de mésocosme en découlent 3 méthodes différentes décrites juste après.

La chaîne trophique naturelle : la méthode de philosophie extensive est basée sur l'émergence d'une chaîne trophique d'origine sauvage caractérisée par le développement de 3 types de populations diversifiées. Le phytoplancton, diverses populations zooplanctoniques pélagique, une population zooplanctoniques benthiques. Il n'y a aucun apport de nourriture exogène dans le système.

L'eau verte : la méthode de philosophie extensive est basée sur l'émergence d'une chaîne trophique d'origine naturelle via une fertilisation exogène et l'apport de zooplancton.

L'eau Pseudo-verte : la méthode de philosophie intensive est basée sur l'émergence d'une chaîne trophique d'origine contrôlée par stérilisation du milieu et par un apport exogène de microalgues et de zooplancton réajusté plusieurs fois par jour en fonction des besoins larvaires.

Nous avons choisi de nous orienter vers des mésocosmes de philosophie extensive, car aucun apport de phytoplancton ne sera effectué durant nos élevages. Cette concentration en microalgues sera favorisée par amendement. Cependant, nous avons choisi d'ajouter un apport quotidien en zooplancton sauvage, collecté par captage nocturne. Ce plancton sauvage nous assure une quantité de proies satisfaisante et de qualité, afin de répondre aux besoins des larves.

Le *Platax orbicularis* est un poisson de la famille des Ephippidae qui appartient au genre Platax. L'aquaculture du *Platax orbicularis* a débuté dans les années 2000. La maîtrise des cycles de pontes et le maintien des géniteurs ont été réussis quelques années après. La production de juvéniles de *Platax orbicularis* est assurée par l'écloserie territoriale VAIA. Cette production de juvéniles est faite via un élevage larvaire intensif en milieu contrôlé. La larve de *Platax orbicularis* accepte une forte densité, entre 20 et 50 larves/l (données VAIA 2019). Son entrée

dans l'extrophie est assurée par les cultures de *Brachionus plicatilis* puis plus tard par artémia.
La sortie larvaire se fait vers le 30^{ème} jour post éclosion lorsque les juvéniles ont atteint 1 g.

Cette qualité est variable suivant les cycles, certains problèmes liés à la vessie natatoire et à des malformations sont parfois à déplorer. De plus, un problème pathologique lié à la sortie d'eau bio sécurisée vers des cages lagunaires limite drastiquement le tonnage annuel. En effet, des épisodes de forte mortalité des lots (20 % à 90 %) lors de ce transfert sont souvent imputables au développement de la Tenacibacculose (Lopez,2022). C'est pour palier à ces 2 freins dans le développement de l'aquaculture du *Platax orbicularis* que mon stage a été créé. En effet l'élevage en mésocosme a prouvé de par le passé qu'il produisait des larves de meilleure qualité (Dora Zouiten 2011). Lors de précédents essais internes, bien qu'une faible survie larvaire ait été réalisée (environ 1 %), une plus faible mortalité lors du transfert en lagon a été observée. Il est donc intéressant de fiabiliser cette production de larves en eau non traitée. Ainsi, nous nous posons la question de comment fiabiliser l'élevage larvaire du *Platax orbicularis* en mésocosme.

Plusieurs questions gravitent autour de cette problématique :

- Comment préparer un bassin pour un mésocosme et comment favoriser le développement des différents planctons dans ce dernier ?
- L'incubation en eau brute est-elle réalisable ?
- Quelles sont les meilleures gammes de paramètres abiotiques pour un élevage optimal ?
- La stabulation des copépodes issus de pompage naturel est-elle possible en grand volume ?

Plusieurs de ces interrogations ont pu être solutionnées grâce à des tests *ex situ* que j'ai réalisés. J'ai donc effectué plusieurs tests sur la stabulation de copépodes ainsi que sur l'incubation en eau non biosécurisée. Ces 2 premières étapes sont cruciales pour le début d'un élevage larvaire. Nous posons l'hypothèse qu'un rendement de 10 000 alevins en mésocosme après cycle complet est possible à condition de définir un protocole viable et durable. Ce rendement correspond à la demande faite par le producteur à l'écloserie territoriale, 3 fois par an.

4 Matériel et Méthode

Afin de répondre à cette problématique, 2 systèmes d'élevage seront étudiés et comparés à un élevage larvaire classique d'après le protocole utilisé par l'écloserie. Le premier système est un bassin de terre.

4.1 Milieu d'élevage

4.1.1 Bassin de terre

Le bassin de terre utilisé est un bassin d'une contenance de 400 000 L (Figure 1). Il mesure 40 m de longueur pour 10 m de largeur et enfin une profondeur moyenne de 1 m. Le sol est composé de « mamou » (nom tahitien pour désigner un ensemble de limon et d'argile). Ce bassin de terre est alimenté en eau via le pompage directement dans le lagon. Il est alimenté par un circuit d'aération permettant l'installation d'un bullage dans le bassin et ainsi limité la stratification de l'eau (Yvon C, 1984). Le bassin a été rempli en 3 jours, l'entrée d'eau est non filtrée, le bloom phytoplanctonique est favorisé grâce à de la fertilisation exogène (utilisation d'aliment pour aquaculture à hauteur de 1g/m² (Wurtz arlet J, 1980)). Le fond du bassin a été dynamisé pour permettre un meilleur équilibre bactérien. Le bassin a ensuite mûri 17 jours avant l'introduction des premiers copépodes obtenus via les pompes. Cette maturation permet la création de l'équilibre chimique de l'eau grâce aux bactéries. (Alliaume C.1987). L'incubation est faite à l'intérieur de 4 bacs cylindro conique de 600 L.

4.1.2 Bassin en béton

Le bassin en béton utilisé a une contenance de 14 000 l (Figure 1). De forme carrée, il mesure 3 m de côté et 1,5 m de profondeur. Il est alimenté en eau par le même système de pompage. Il est lui aussi équipé d'un système de bullage ainsi qu'une ombrière permettant de réguler la luminosité. Le même protocole d'évaluation du bloom phytoplanctonique et zooplanctonique, d'incubation, de transfert des larves, de suivis des concentrations de larves de proies vivantes et de paramètre a été réalisé.



Figure 1. photographie du bassin de terre à gauche et du bassin en béton à droite.

4.1.3 Suivis des paramètres abiotiques

Le suivi des paramètres de l'eau est assuré 2 fois par jour le matin à 8 h et l'après-midi à 15 h. Ces horaires correspondent aux valeurs maximales et minimales en termes de saturation en O₂ et de pH. Une sonde multi paramètre YSI PRO + nous permet de relever la température, la salinité, l'oxygène et le pH.

Le suivi des concentrations en matière azoté est assuré quotidiennement via les tests colorimétriques SERA©. Ces tests, destinés à l'aquariologie, ne sont pas d'une grande précision. Cependant, ils nous renseignent sur la présence ou non de matières azotées qui pourront être quantifiées par spectrophotométrie.

4.2 Apport extérieur de copépodes

Afin d'obtenir des copépodes sauvages quotidiennement et de manière « low-cost », l'équipe PROTEGE a mis au point un système de 5 pompes à planctons (Figure 2).

Ce système est entièrement alimenté par un panneau solaire et des batteries de 12 V.

Le système est composé de pièges lumineux actifs, contrairement aux pièges lumineux passifs qu'il est possible de trouver à la vente. Ces pompes respectent des critères « low-costs » et « low-tech » et sont adaptés au système complet d'élevage qui se veut être proposé en kit à l'issue du programme. Les pompes sont composées d'un cylindre dans lequel sont découpées des fenêtres pour laisser s'évacuer l'eau. La maille des fenêtres est de 130 à 150 µm afin de conserver les copépodes adultes. La maille d'entrée en 650 µm permet de ne laisser passer que les individus inférieurs au millimètre. Les mailles d'entrée sont disponibles en deux tailles différentes qui permettent une seconde sélection des copépodes à laisser passer. Enfin, le moteur de ce type de pompe est un « air-lift » à l'entrée duquel est fixée une lampe à LED immersive de 8W, faisant office de piège lumineux.

Le pompage en lui-même est réalisé de nuit. Les pompes sont allumées l'après-midi vers 16h et récoltées le lendemain matin à 8h. Les pompes s'effectuent la nuit pour que les copépodes ne soient attirés que par une unique source de lumière vers laquelle ils se dirigeront [Russell, 1926][Cushing, 1951].

Une fois les pompes relevées, l'intégralité de leur contenu est placée dans un bassin de 2 m³. Ce bassin sert à « rincer » les copépodes. L'apport d'eau qui y est fait est de l'eau bio-sécurisée.

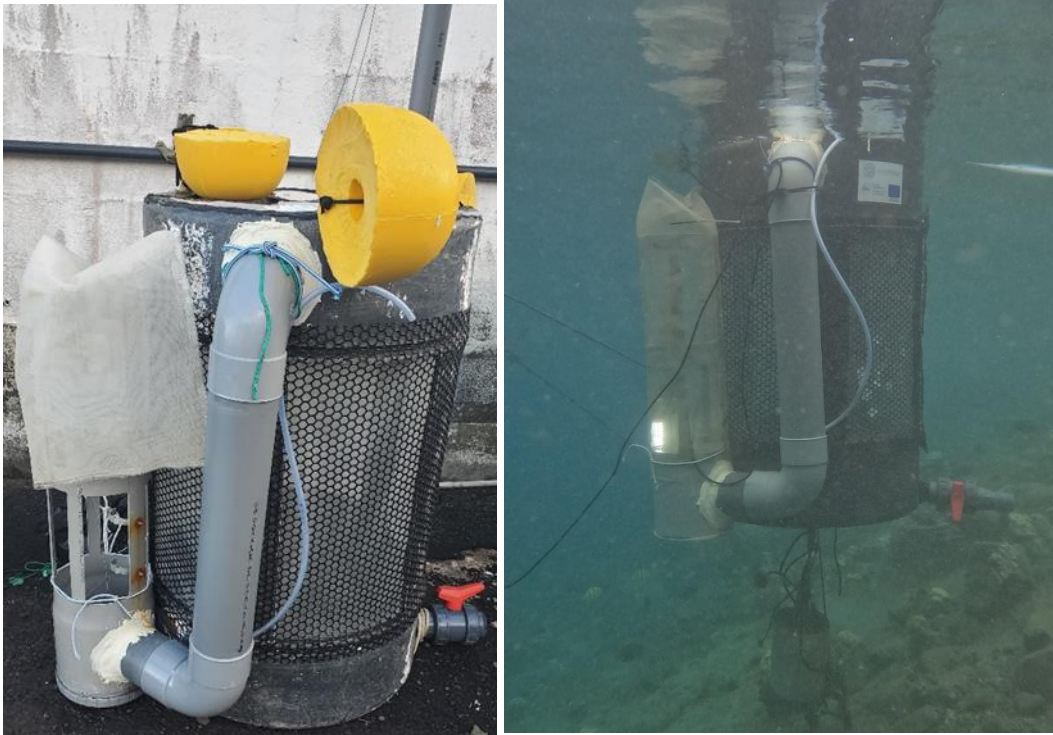


Figure 2. Photographies d'une pompe à plancton.



Figure 3. Bac de rinçage.

Cela permet de laisser décanter la matière minérale ainsi que la mortalité induite par la forte concentration dans les pompes (Figure 3). Pour finir, un comptage des copépodes obtenus par pompage est réalisé sur cuve de Dolfus.

Ainsi, nous pouvons délimiter 3 espèces de copépodes dominantes dans les récoltes des pompages :

- *Oithonas spp*: c'est la catégorie cible en début d'élevage larvaire et celle sur laquelle l'ensemble des expérimentations s'axe. C'est à partir des individus adultes de cette catégorie que les nauplii recherchés pour leur petite taille sont obtenus (Figure 4)
Taille moyenne : 120 μm .
- *Acartias spp* : il s'agit de la catégorie de taille intermédiaire dans laquelle l'échelle est donnée par le genre *Acartia* (Figure 4), deuxième plus représentée derrière les *Oithonas*.
Taille moyenne : 800 μm .
- *Labidocera spp* : c'est la catégorie de taille la plus grande dans laquelle on retrouve le troisième groupe le plus représenté sur site, le genre *Labidocera* (Figure 4). On y trouve aussi les larves de différents crustacés tels que les squilles ou les crevettes.
Taille moyenne : 1 mm

Le comptage en lui-même s'effectue à l'aide d'une cuve de Dollfus et sous une loupe binoculaire. Les différentes catégories sont dénombrées en parcourant la cuve. Le dénombrement se fait avec des compteurs manuels (Figure 5), afin d'optimiser le temps passé sur chaque comptage.

Une fois l'estimation réalisée, il est possible de prélever la quantité et le type de copépodes désiré en filtrant avec différentes mailles. Ces copépodes sont ensuite emmenés jusqu'au bac d'élevage

4.3 Matériel biologique

Les œufs de *Platax orbicularis* sont récoltés directement dans les installations de la DRM. Ils proviennent de différents lots de géniteur. Ils sont récoltés via surverse dans des paniers de 250 microns. Avant mise en incubation, le nombre d'œufs est compté, ainsi que le taux de fécondation. En dessous de 80 % de fécondité, la ponte n'est pas utilisée. L'unité choisie pour décrire le stade de développement des larves se calcule en additionnant la température moyenne de chaque jour. A noté que les 2 premier jour les larves ont été maintenu en incubateur avec une eau à 28°C.



Figure 4. Photographies de copépode *Oithona ovigera*, *Acartias* spp et *Labidocera* spp de gauche à droite respectivement

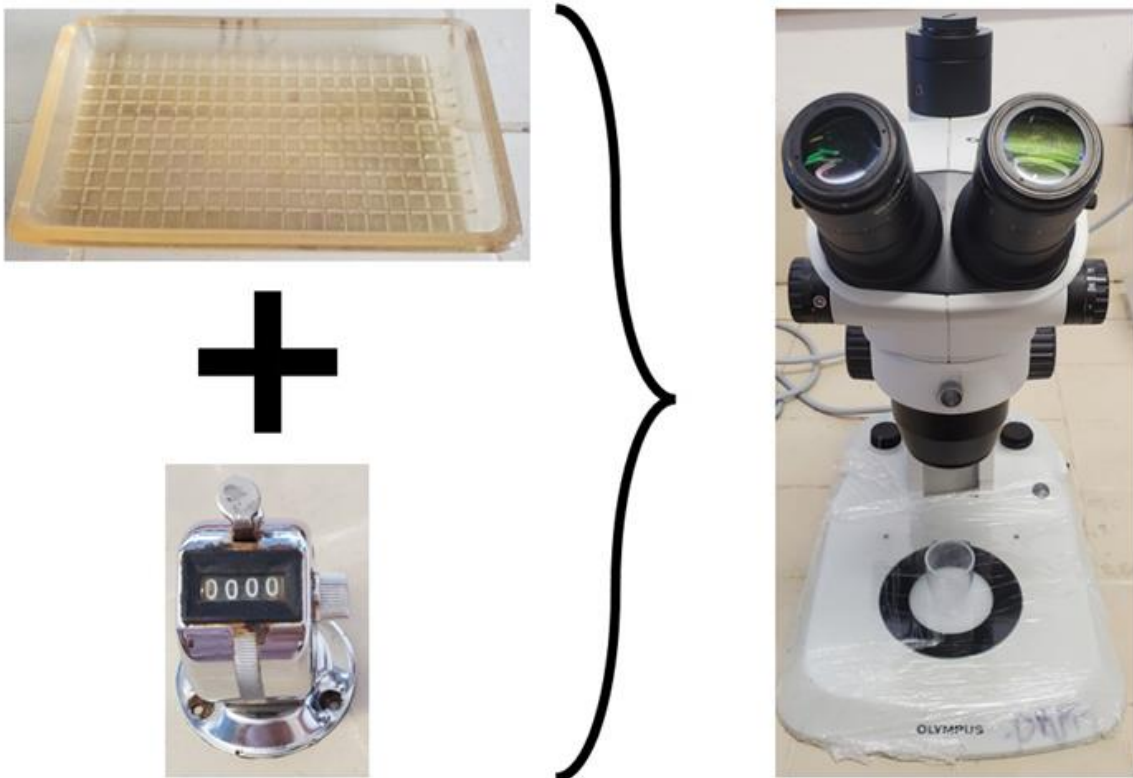


Figure 5. Matériel utilisé pour le comptage (cuve de Dolphus, compteur à main et loupe binoculaire).

4.4 Mise en élevage

L'incubation se fait à hauteur de 500 œufs/L. Une crépine de 150 µm est installée à la sortie du bassin de terre afin d'éviter l'aspiration des larves. Les larves sont ensuite transférées dans le bassin terre en fin d'après-midi pour éviter les fortes luminosités qui pourraient stresser les larves. Avant de les libérer, un prélèvement de 1 L est fait dans l'incubateur pour évaluer le taux d'éclosion. Quotidiennement, un prélèvement de 10 L est effectué afin de compter la concentration en larves et en zooplancton.

4.5 Traitement et analyses

L'objectif de cette étude est d'établir une liste des gammes de paramètres et plus largement des conditions optimales pour un cycle larvaire avec pour production minimum de 10 000 alevins. Les comptages quotidiens permettant de constituer les variables « nombre de larves de *Platax orbicularis* », « taux de survie des larves de *Platax orbicularis* » et « concentration en copépodes » sont réalisés grâce à un prélèvement de 10 L d'eau du bassin en question (bassin de terre ou bassin en béton). Le nombre de larve de *Platax orbicularis* est déterminé visuellement. Une filtration sur tamis de 40 µm puis une concentration dans un bécher de 100 mL sont ensuite réalisées afin de réaliser un comptage des copépodes sur 3 prélèvements de 1 mL sous loupe binoculaire. Une moyenne de ces 3 comptages est ensuite réalisée, elle constitue la valeur retenue par jour de cycle d'élevage.

Les résultats permettront de présenter une analyse quantitative dans laquelle la variabilité en termes de nombre de larves et taux de survie de *Platax orbicularis* ainsi que de nombre de copépodes sera analysée. Une analyse de corrélation entre les paramètres de l'eau du milieu d'élevage mesurés quotidiennement (température, pH, salinité, saturation en O₂) permettra de mettre en lumière ceux ayant le plus d'impact sur le nombre de larve estimé chaque jour pour chaque milieu d'élevage (bassin de terre, bassin en béton). Une analyse en composantes principales permettra d'illustrer les corrélations entre ces différents paramètres par rapport au nombre de larve.

Un test statistique de comparaison de moyenne de Wilcoxon Mann Whitney permettra de comparer et dégager une éventuelle différence entre les taux de survie moyens des larves de *Platax orbicularis* en bassin de terre et en bassin en béton. Enfin, une analyse de corrélation de

Pearson est réalisée entre le taux de survie des larves et la concentration en copépode apportés via les pompages dans le milieu d'élevage afin de déterminer si les valeurs de ces concentrations

ont un impact sur le bon développement des larves. L'interprétation de ces résultats complètera l'analyse descriptive présentée en discussion. Cette analyse permettra de croiser l'ensemble des observations relatives aux tests d'élevage larvaire en mésocosme de la présente étude. Ceci dans le but de conclure par une liste de recommandations regroupées par conditions environnementales.

L'interprétation de ces résultats complètera l'analyse descriptive présentée en discussion. Cette analyse permettra de croiser l'ensemble des observations relatives aux tests d'élevage larvaire en mésocosme de la présente étude. Ceci dans le but de conclure par une liste de recommandations regroupées par conditions environnementales.

5 Résultats :

Les variables réponses utilisées pour l'ensemble des analyses statistiques sont :

- Nombre de larves de *Platax orbicularis*
- Taux de survie des larves de *Platax orbicularis*
- Concentration de copépodes (nb / L)

La variable « nombre de larves » est estimée chaque jour selon la méthode évoquée en matériel et méthode mais il est important de la considérer comme une estimation journalière approximative du fait de différentes composantes qui seront évoquées en discussion.

Les taux de survie quotidiens sont estimés à partir du nombre de larves comptées par jour. Ils sont considérés comme prévisionnels du fait qu'actuellement, seul le taux de survie final de l'expérience d'élevage larvaire en bassin de terre n°1 est disponible. En raison des épisodes habituels et « normaux » de forte mortalité dans les 6 premiers jours de n'importe quel système d'élevage, les données relatives à la survie des larves sur cette période des 6 premiers jours ont été retirées des jeux de données pour les analyses.

5.1 Paramètres abiotiques

Les paramètres abiotiques mesurés par sonde quotidiennement tout au long des cycles d'expérimentation d'élevage en bassin de terre et en bassin de béton sont : la température, le pH, la salinité et la saturation en dioxygène dissous (Figure 6 et Figure 7). On observe des variations de température de 29 à 33,2 °C en bassin de terre et de 24,3 à 27,2 °C en bassin en béton. Le pH varie de 7,9 à 8,3 en bassin de terre contre 7 ;85 à 8,05 en bassin en béton. La salinité quant à elle est comprise entre 35,7 et 37,1 ‰ en bassin de terre et entre 33,9 et 37,8 ‰. Pour finir, la saturation en dioxygène dissous varie de 51 à 120 ‰ en bassin de terre et de 90 à 130 ‰ en bassin en béton.

5.2 Corrélation entre les paramètres abiotiques et le taux de survie des larves de *Platax orbicularis*

Une analyse de la corrélation entre les paramètres abiotiques mesurés quotidiennement dans le milieu d'élevage et le taux de survie des larves de *Platax orbicularis* est réalisée et illustrée par

l'analyse en composantes principales Figure 8. Les valeurs des coefficients de corrélation de Spearman sont données dans le Tableau 1 pour le bassin de terre et dans le Tableau 2 pour le

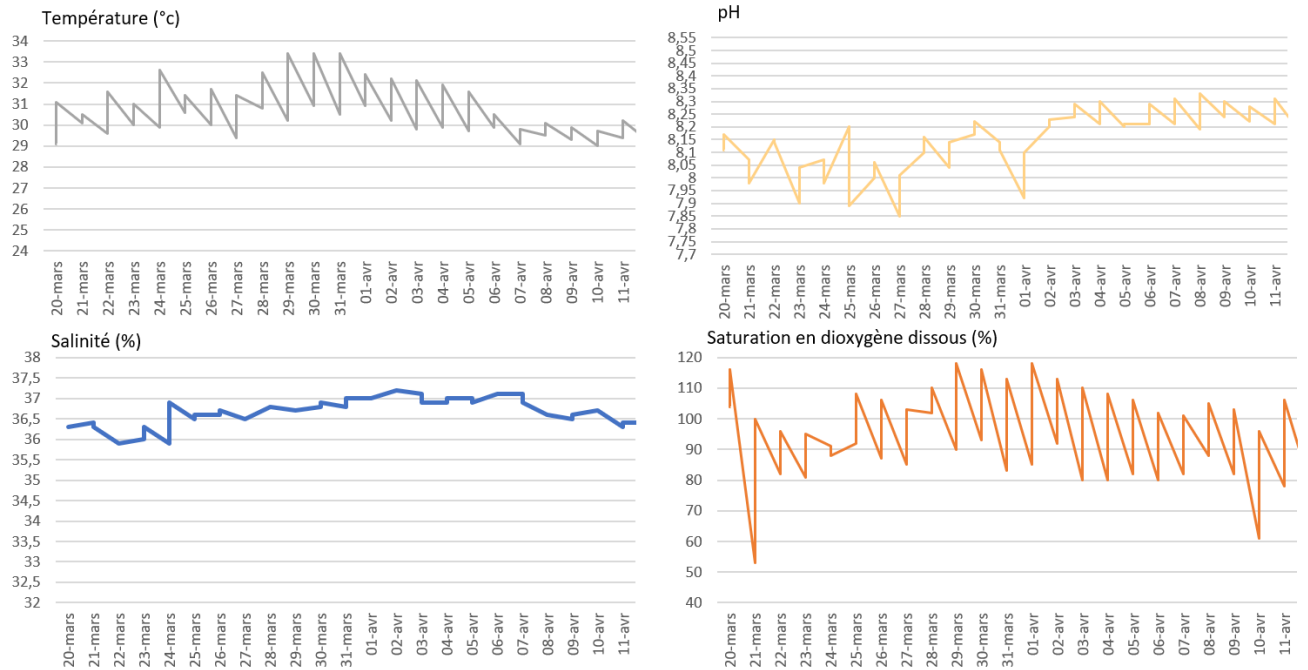


Figure 6. Variation de température (gris), pH (jaune), salinité (bleu) et saturation en oxygène dissous (orange) au cours du cycle d'élevage expérimentale n°1 en bassin de terre.

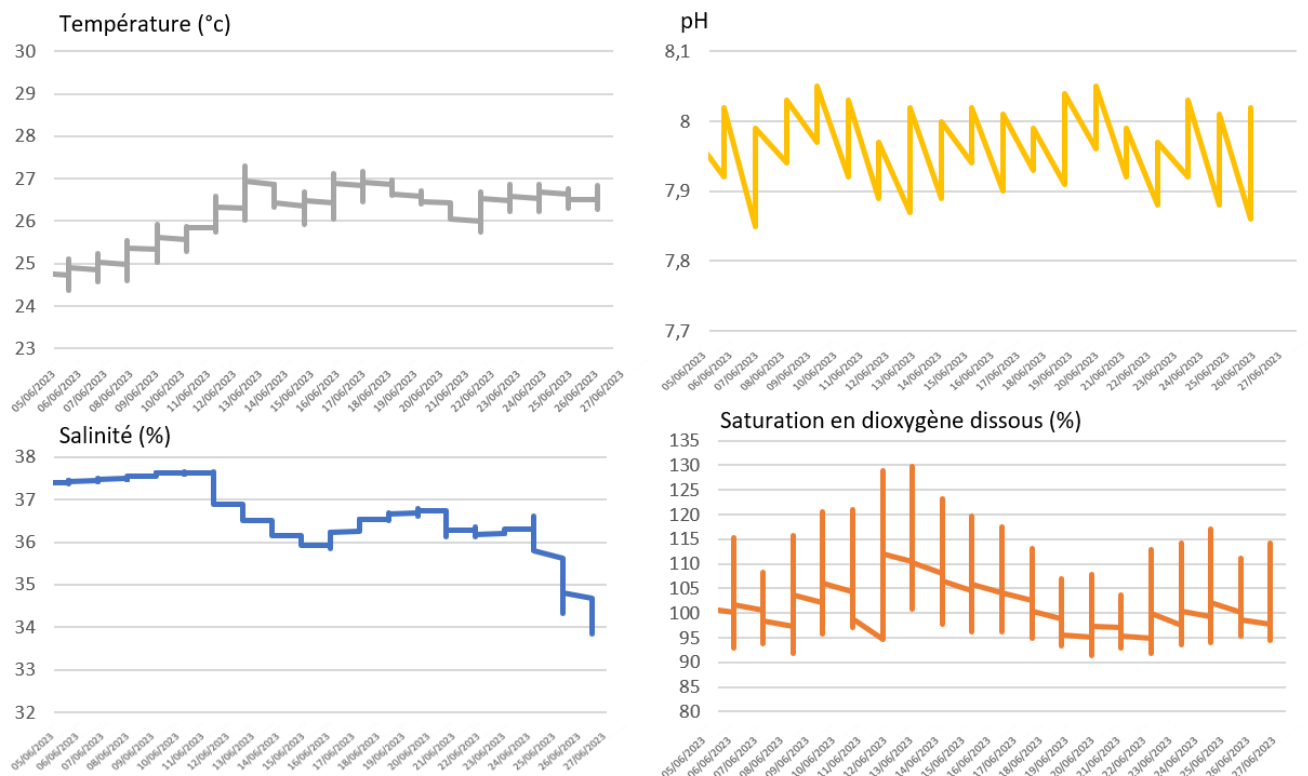


Figure 7. Variation de température (gris), pH (jaune), salinité (bleu) et saturation en oxygène dissous (orange) au cours du cycle d'élevage expérimentale n°2 en bassin de béton

bassin en béton. On remarque que le taux de survie est négativement corrélé à la salinité et au pH en bassin de terre. En revanche, il est négativement corrélé à la température lors de l'expérience en bassin en béton contrairement au bassin de terre où la survie et la température sont positivement corrélées.

Tableau 1. Matrice de corrélation de Spearman des paramètres abiotiques du milieu d'élevage et du taux de survie en bassin de terre.

	Salinité	Saturation	Température	pH	Survie
Salinité	1	-0,1144441	0,004327702	0,39623801	-0,4925212
Saturation	-0,1144441	1	0,854398915	0,04617234	0,25809161
Température	0,0043277	0,85439892	1	-0,1086323	0,29758402
pH	0,39623801	0,04617234	-0,108632269	1	-0,7182772
Survie	-0,4925212	0,25809161	0,297584016	-0,7182772	1

Tableau 2. Matrice de corrélation de Spearman des paramètres abiotiques du milieu d'élevage et du taux de survie en bassin en béton.

	Salinité	Saturation	Température	pH	Survie
Salinité	1	0,13885492	-0,403057407	0,19862084	0,66080089
Saturation	0,13885492	1	0,367676928	0,45650669	0,31680811
Température	-0,4030574	0,36767693	1	0,24015447	-0,4532263
pH	0,19862084	0,45650669	0,240154465	1	0,1766493
Survie	0,66080089	0,31680811	-0,453226253	0,1766493	1

5.3 Corrélation entre le taux de survie larvaire et la concentration en copépodes apportés via les pompages

La concentration en copépodes (nombre d'individus par mL) a été ramenée au volume de chaque type de bassin afin de pouvoir les comparer entre eux. Elle varie de 0,09 à 0,61 en bassin en béton et de 0,04 à 0,5 en bassin en terre (Figure 9).

On remarque Figure 10 que le taux de survie des larves de *Platax orbicularis* est positivement et significativement corrélée à la concentration en copépodes dans les 2 milieux d'élevage ($r = 0.6262925$, $p\text{-value} = 0,0094$ en bassin de terre et $r = 0.4898834$, $p\text{-value} = 0,054$ en bassin en béton).

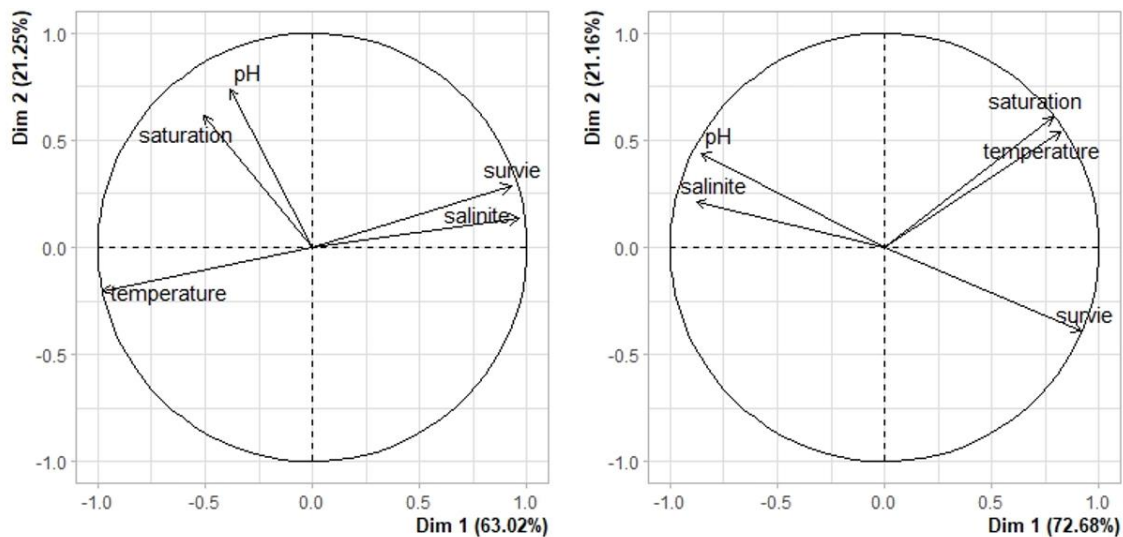


Figure 8. Analyses en composantes principales des paramètres abiotiques du milieu d'élevage bassin en béton à gauche et bassin de terre à droite.

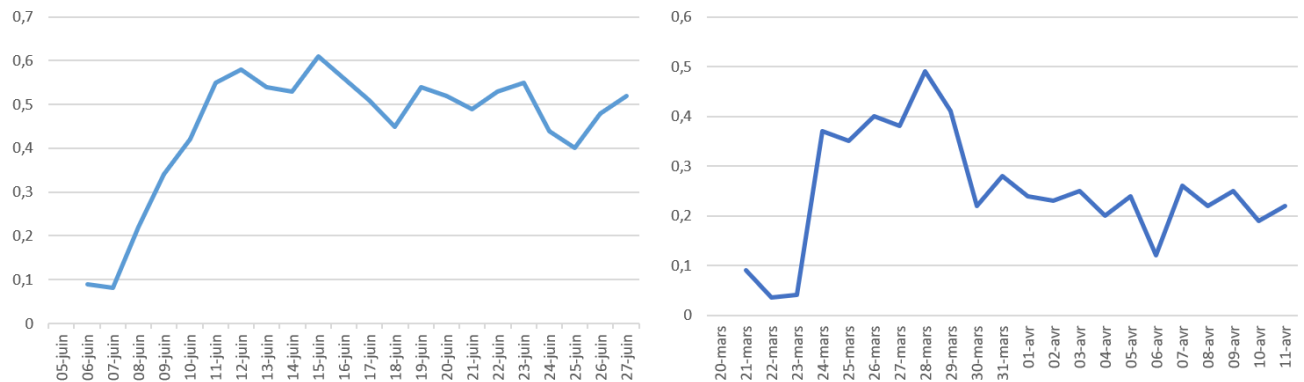


Figure 9. Evolution de la concentration en copépodes dans le milieu d'élevage au cours de l'expérimentation en bassin en béton à gauche et en bassin de terre à droite.

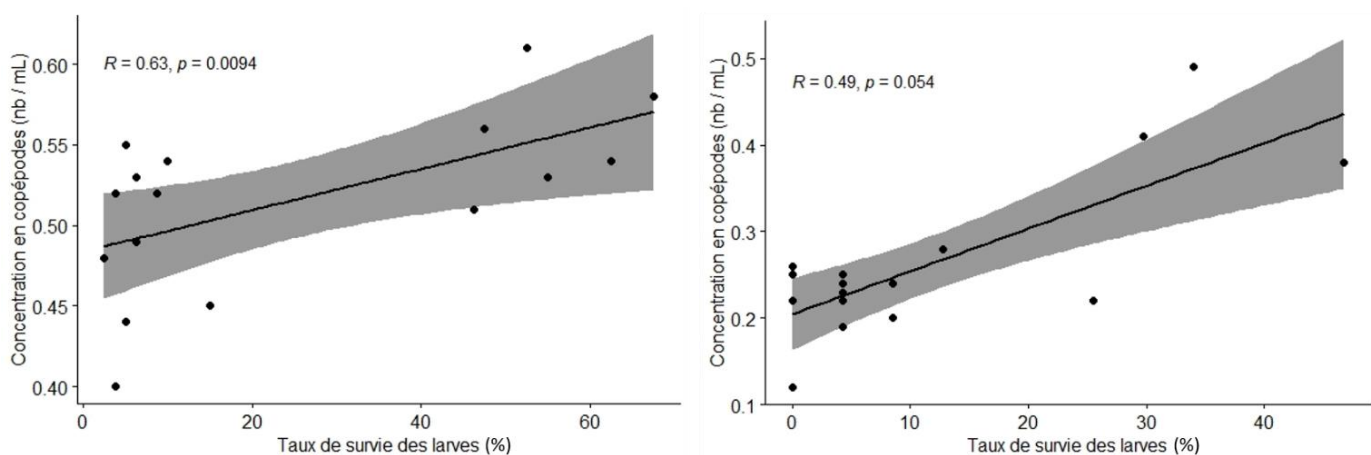


Figure 10. Corrélations entre le taux de survie des larves et la concentration en copépodes présente dans le milieu d'élevage pour l'expérimentation en bassin de terre à gauche et bassin en béton à droite.

5.4 Comparaison des taux de survie larvaire en bassin de terre et en bassin en béton

Dans les 2 systèmes d'élevages le taux de survie diminue au cours du temps de manière plus ou moins rapide (Figure 11). La différence entre les taux de survie des larves en bassin de terre et bassin en béton est peu significative (Test de Wilcoxon Mann Whitney, p-value = 0.06671).

6 Discussion

6.1 Analyse descriptive par condition

Des effets de différentes conditions environnementales sur le comportement et le développement des larves de *Platax orbicularis* ont pu être observés avec notamment les conditions de précipitations, d'éclairement, d'hydrodynamisme (bullage) et de renouvellement en eau du lagon. En effet, dans ce type de mésocosme, l'environnement extérieur influence grandement le système d'élevage et donc le comportement des larves. Des observations visuelles réalisées tout au long des expérimentations des effets de ces conditions sur les différents paramètres permettent d'évaluer comment leurs variations influencent le comportement des larves. Ces changements de comportement impactent directement le développement et la survie des larves.

6.1.1 L'éclairement

L'éclairement reçue par le mésocosme varie au cours de la journée. Lors du levé du jour (~ 6 :30), les larves se trouvent en grandes densités entre 30 cm de profondeur et la surface. Très actives, elles adoptent un comportement de chasse. Plus la luminosité augmente moins les larves sont présentes à la surface. En fin de journée, lorsque la luminosité baisse cette migration s'inverse (Papandroulakis, 2001) La présence d'une ombrière permet de limiter de trop fortes conditions d'éclairement. En effet dans le bassin béton, des températures extrêmement basses pour un élevage larvaire ont été observé (24°C). Les larves de ce bassin, ont accusé un retard de croissance tout le long de la durée de l'élevage. En bassin de terre, le taux de survie est négativement corrélé à la salinité et au pH ce qui suggère que de fortes valeurs de ces paramètres constituent des seuils létaux pour les larves. En bassin en béton, le taux de survie est négativement corrélé à la température car une période de forte baisse de température a probablement engendré un pic de mortalité des larves.

6.1.2 Le renouvellement

Le taux de renouvellement influence tous les paramètres du système d'élevage. L'eau permettant le renouvellement du bassin est obtenu via pompage dans le lagon à une profondeur

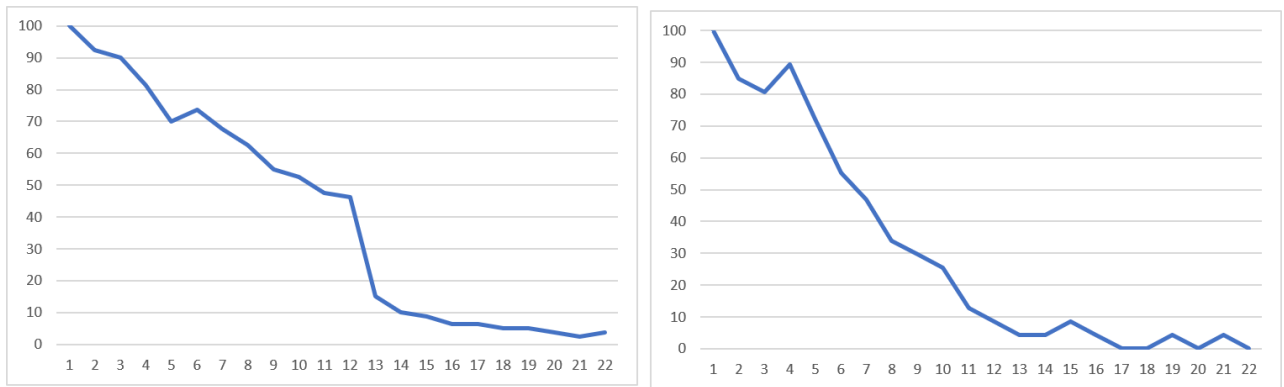


Figure 11. Evolution du taux de survie des larves au cours des 22 jours d'expérimentation dans les 2 milieux d'élevage, bassin en béton à gauche et bassin de terre à droite.

6.1.3

de 20 m. Les paramètres de cette eau sont relativement peu variables, la température est comprise entre 27 et 30°C toute l'année avec moins de 1 degré de variation journalière. La salinité oscille entre 36,4 et 36,8 ‰. Le pH est compris entre 7,90 et 8,1. Cette masse d'eau neuve permet donc de jouer sur les paramètres physico-chimiques du système d'élevage, mais aussi sur la présence de matière azotée en les diluant. Le renouvellement influence aussi les concentrations planctoniques du bassin. En effet les différents planctons phyto et zoos pélagiques se feront aspirer par la crépine.

6.1.4 L'hydrodynamisme

L'hydrodynamisme d'un milieu d'élevage dépend de la position, de la profondeur et de la puissance du bullage qui lui est ajouté. Afin de « dé-stratifier » les couches d'eau, un bullage a été ajouté au centre des 2 mésocosmes. Il permet également une meilleure homogénéisation des concentrations en copépodes dans le bassin. De plus, les larves l'utilisent pour chasser en se plaçant dans le courant ainsi créé. Enfin, il déstructure la nage des copépodes augmentant les chances de prise alimentaire pour les larves.

6.1.5 Les précipitations

Les précipitations influencent directement la température du bassin. L'eau de pluie en Polynésie Française a une température moyenne de 23°C. Le bassin de terre est le plus touché par ces variations, l'eau de ruissellement peut s'infiltrer en quantité dans le bassin ce qui abaisse la température, la salinité et le pH. L'arrêt du bullage permet une stratification de l'eau, l'eau douce se retrouvant à la surface du a sa densité moins faible. Cette couche d'eau peut alors être évacuée par surverse, limitant ainsi ces variations. Cet apport d'eau de ruissellement modifie aussi les concentrations en sels nutritifs en apportant des matières organiques dans le bassin.

Un bon équilibre bactérien est alors important pour tirer parti de cet évènement. Les matières azotées permettront un meilleur développement du phytoplancton si elles sont rapidement dégradées. Dans le cas contraire, elles prendront des formes ammoniacales qui, selon le pH, seront plus ou moins létales. Un pH supérieur à 8,3 est donc important à éviter surtout en période pluviale.

6.2 Développement larvaire et malformations

La période de formation de la vessie natatoire se situe entre J3 et J6 dans les 2 systèmes d'élevage. L'entrée en exotrophie (première alimentation des larves) en bassin de terre a été observée à J6 (152°J) contre J4 (112°j) en bassin béton et en élevage intensif. été observé lors

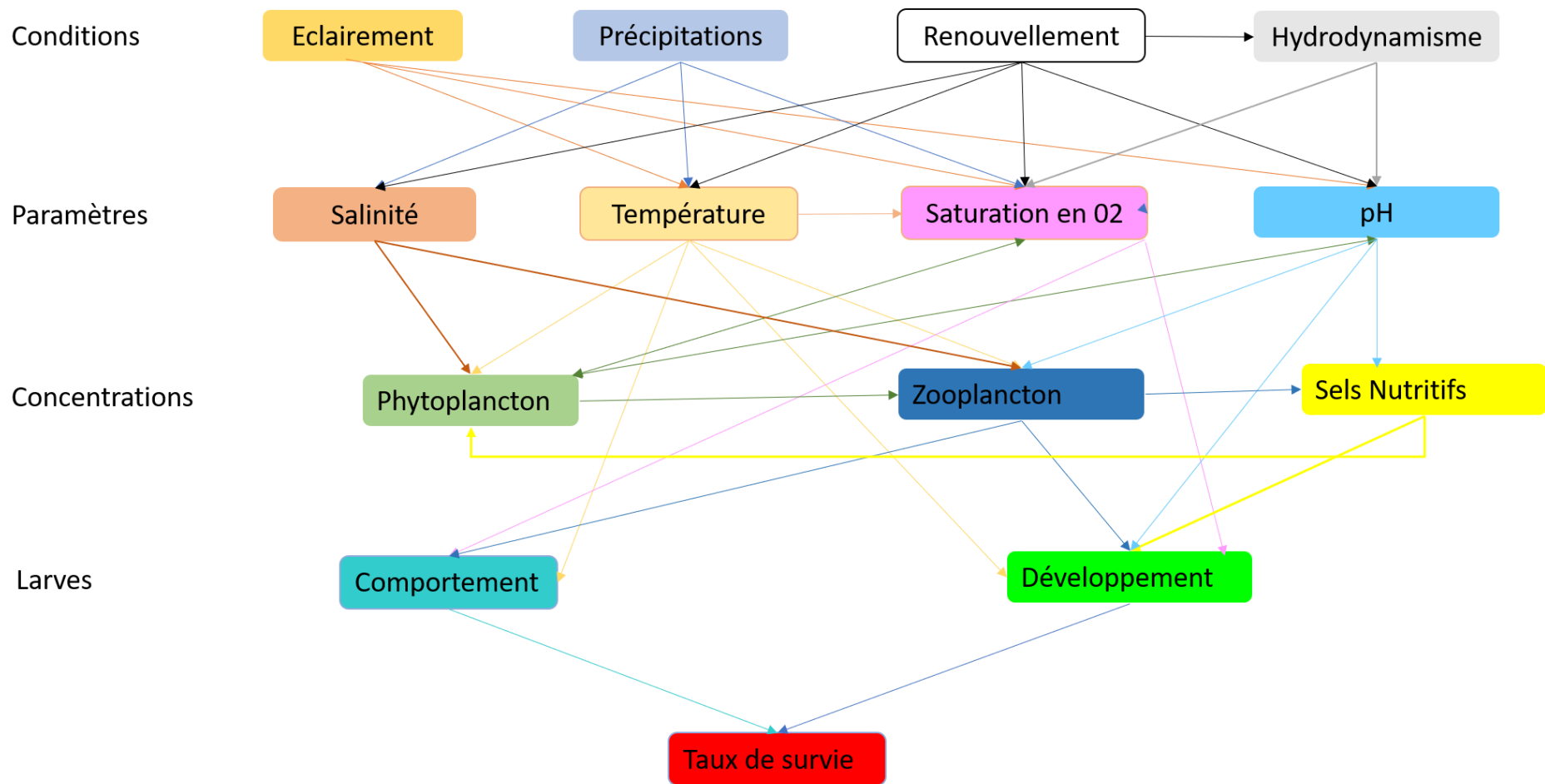


Figure 12. Schéma conceptuel représentatif de l'influence « en cascade » des variations de conditions environnementales sur toute la chaîne de paramètres, concentrations et observations individuelles des larves. Les flèches se dirigent dans le sens de l'influence de chaque composante (déterminée par sa couleur) sur une autre.

de la torsion de la notocorde à partir de J14(356°j) contre J10 (280°j) pour le systèmes intensif et bassin terre. La métamorphose étant la dernière étape de développement larvaire, elle a commencé son développement à partir de J20 (509°j) contre J12 en bassin terre (336°j) et J14 (392°j) en larvaire intensif.

Bien que la survie larvaire soit largement inférieure dans un système d'élevage de type mésocosme, il est important de noter que plus de 95% des larves élevées en mésocosme ne présentaient aucune malformation. Les larves sont toutes pourvues de vessie natatoire fonctionnelle. La malformation de cette dernière est la plus couramment rencontrée en écloserie territoriale. Ce taux de malformation varie de 10% à 30% et demande un tri « qualité » en sortie larvaire. De plus, aucune larve déformée n'a été observée. Les taux de déformation étant compris entre 2% et 8% suivant les cycles. Une analyse de pathogène réalisée par la cellule santé et bio sécurité est disponible en annexe 1.

6.3 Prise alimentaire

A l'issu des prélèvements quotidiens de 10 L et du comptage des larves s'y trouvant, des contenus stomacaux ont été observés. Ils permettent de savoir si la larve a réalisé sa prise alimentaire, quelles espèces de copépodes ont été consommées et en quelle quantité. La position du copépode dans le tube digestif indique aussi quand il a été consommé (Tableau 3. Analyse des contenus stomacaux des larves prélevées quotidiennement lors des cycles d'expérimentation en bassin de terre et bassin en béton.. Ainsi on constate que plus la larve grandit plus le nombre de copépodes présent dans le tube digestif augmente. De plus, plus sa taille sera élevée plus elle va consommer des copépodes de grosse taille. Les nauplii de copépodes et principalement de *Oithonas* spp permet la première prise alimentaire. En effet, sa petite taille d'environ 80µm est adapté à la taille de la bouche de la larve de *Platax orbicularis*. Les *Oithonas* adultes représentent ensuite la majeure partie des copépodes consommés jusqu'à la métamorphose (Figure 13. Contenu stomacal d'une larve de *Platax orbicularis*. Ils laissent place au genre des *Harcathia* spp et enfin l'apparition des *Labidocera* spp se fait en fin d'élevage. Plus la larve mange des formes planctoniques grosses moins elle consommera de copépodes. La présence d'algue du genre *Cladophora* a été observée, ces algues permettent le développement de familles de copépodes benthiques. Prélevées puis observées à la loupe binoculaire, elles ont révélé abriter une espèce de copépode de la famille des Harpacticoide. La consommation de ces copépodes bien que non révélée pendant l'étude des contenus stomacaux a été validée par des observation de chasse *in situ*.

Tableau 3. Analyse des contenus stomacaux des larves prélevées quotidiennement lors des cycles d'expérimentation en bassin de terre et bassin en béton.

Jours post éclosion	Bassin terre		Bassin Beton	
	nb de larves	nb de copépodes	nb de larves	nb de copépodes
J3	5	1,6 nauplii	5	0
J4	5	2,2 nauplii	5	0
J5	5	2,8 nauplii + 0,2 oithonas	5	0
J6	5	4,2nauplii + 0,5 oithonas	5	0
J7	5	1,8 nauplii + 1,4 oithonas	5	1,2 nauplii
J8	5	0,6 nauplii + 3,6 oithonas	5	1,8 nauplii
J9	5	6,2 oithonas	5	2,2 nauplii + 0,2 oithonas
J10	3	9,6 oithonas	5	3,4nauplii + 0,2oithonas
J11	2	14,5 oithonas	5	1,8 nauplii + 0,8 oithonas
J12	1	16 oithonas	5	0,6 nauplii + 1,8 oithonas
J13	1	16 oithonas	5	3,4 oithonas
J14	2	13,5 oithonas	5	6,6 oithonas
J15	1	10 oithonas + 2 acarthias	5	11,2 oithonas
J16	0		5	15,8 oithonas
J17	0		5	16,2 oithonas + 0,2 acarthias
J18	1	6 acarthias	4	15,5 oithonas + 0,75 acarthias
J19	0		4	13,25 oithonas + 1 acarthias
J20	1	4 acarthias + 2 labidoceras	3	7,3 oithonas + 2,66 acarthias
J21	0		2	3 oithonas + 4,5 acarthias
J22	1	1 acarthias + 6 labidoceras	2	0,5 oithonas + 6 acarthias

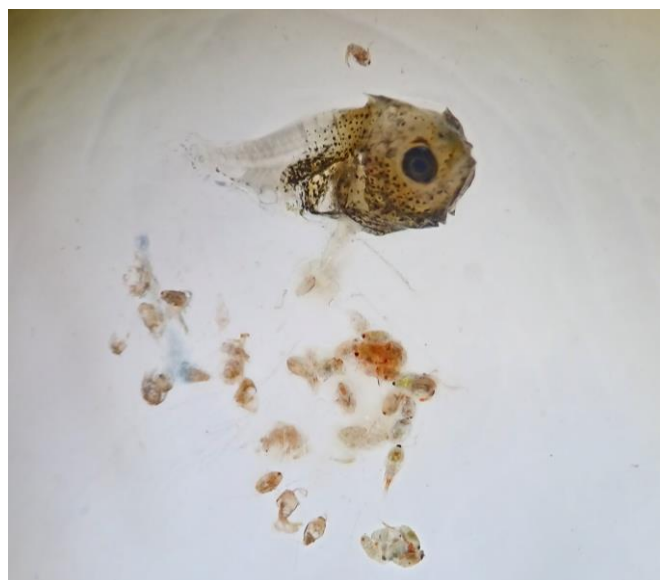


Figure 13. Contenu stomacal d'une larve de *Platax orbicularis*

La corrélation positive entre la survie des larves et la concentration en copépodes dans les 2 systèmes d'élevage confirme que de fortes concentrations en copépodes permettent d'optimiser la prise alimentaire et donc améliorer le taux de survie.

6.4 Rentabilité économique

Le système d'élevage mésocosme nécessite moins de personnel qu'un élevage intensif. Ce gain de main d'œuvre vient du peu de manipulation effectuée sur un mésocosme. Aucun siphonage ni tri n'est à réaliser ce qui limite ainsi le besoin de main d'œuvre. Le pompage de zooplancton naturel permet de s'émanciper de la production de proies vivantes habituelle (*Brachionus plicatilis* et *Artémia salina*). Cette production nécessite beaucoup de consommables : pâte d'algue pour les rotifères et œufs d'artémia pour la production de nauplii ainsi que du temps quotidien d'entretiens. Le mésocosme nécessitant aussi moins de technologies, de mains d'œuvre et de consommables les larves élevées sont donc moins chères à produire.

7 Conclusion

Afin de conclure le présent rapport, une réponse aux questions posées en introduction est proposée ci-après :

Comment préparer un bassin pour un mésocosme et comment favoriser le développement des différents planctons dans ce dernier ?

Une période d'environ 10 jours est nécessaire pour l'obtention d'un bloom phytoplanctonique naturel satisfaisant (~50 000 cellules / mL). Durant cette période, un apport quotidien de granulés est effectué à hauteur de 1g par m³ afin de libérer des sels nutritifs dans le milieu, ressource nécessaire au maintien du bloom phytoplanctonique. Au terme de cette période, les premiers apports en zooplancton naturel issu des pompages sont réalisés régulièrement jusqu'à la fin du cycle d'élevage larvaire. Ce dernier permet d'ajuster quotidiennement la concentration en copépodes du milieu d'élevage jusqu'à obtenir une concentration d'environ 0,05 / mL. Une fois cette dernière atteinte, les larves au stade J2 peuvent être transférées de l'incubateur au milieu d'élevage.

L'incubation en eau brute est-elle réalisable ?

En effet, l'incubation en eau brute à savoir non filtrée est réalisable à condition d'avoir des débits de renouvellement de l'incubateur supérieurs à 150 % par heure. L'entrée d'eau doit être filtrée via une chaussette filtrante de 25 µm pour éviter le passage de tout individu zooplanctonique. Une obscurité totale est à privilégier pour la période d'incubation à savoir 24h

d'éclosion des œufs et 24h post-éclosion (stade J1). La salinité ne doit pas descendre en dessous de 35 ‰.

- La stabulation des copépodes issus de pompage naturel est-elle possible en grand volume ?

La stabulation des copépodes issus de pompage naturel est possible en grand volume (> 10 m³). Une concentration adéquate en phytoplancton comme évoqué précédemment est recommandée pour une valeur nutritionnelle optimale. Un pic de concentration en nauplii est observée 48h après le transfert des copépodes.

Quelles sont les meilleures gammes de paramètres abiotiques pour un élevage optimal ?

L'ensemble des recommandations en termes de gamme de paramètres et réglages relatifs aux différentes conditions environnementales régulant le mésocosme est présenté dans le Tableau 4. Ensemble des gammes de valeurs et réglages des paramètres influencés par les différentes conditions environnementales recommandés pour un élevage larvaire en mésocosme du *Platax orbicularis* optimal. Le détail de l'influence des conditions environnementales prises en compte sur les concentrations en phytoplancton, zooplancton et sels nutritifs est présenté en

Tableau 4. Ensemble des gammes de valeurs et réglages des paramètres influencés par les différentes conditions environnementales recommandés pour un élevage larvaire en mésocosme du *Platax orbicularis* optimal.

Condition	Paramètres	Gamme de valeurs	Réglages
Eclaircement	Température	26°C- 30°C	Le soleil augmente la température du bassin
	Saturation	> 70%	Augmente la production de phytoplancton et donc d'O ₂ dissous
	pH	7,9 - 8,2	Plus la concentration en phytoplancton est grande plus le pH est élevé
Précipitation	Température	26°C- 30°C	Diminue car l'eau de pluie a une température de 23°C
	Salinité	33 - 37,5	Diminue car l'eau de pluie a une salinité de 0 %
Renouvellement	Température	26°C- 30°C	Eau neuve à 27,5°C
	Saturation	> 70%	Eau neuve à 100%
	pH	7,9 - 8,2	Eau neuve à 8,0
	Salinité	33 - 37,5	Eau neuve à 36,4 %
Hydrodynamisme	Température	26°C- 30°C	Homogénéisation de la température dans le bassin
	Saturation	70% - 120%	Augmentation de la saturation avec une plus grande surface d'échange entre l'air et l'eau

Tableau 5.

L'ensemble de ces premiers essais d'élevage larvaire de *Platax orbicularis* en mésocosme présenté ici ont permis la production de 4209 et 6389 alevins en bassin en béton et bassin de terre respectivement. Le prochain essai en bassin de terre permettra éventuellement d'atteindre l'objectif des 10 000 alevins en sortie d'élevage larvaire.

Tableau 4. Ensemble des gammes de valeurs et réglages des paramètres influencés par les différentes conditions environnementales recommandés pour un élevage larvaire en mésocosme du *Platax orbicularis optimal*.

Condition	Paramètres	Gamme de valeurs	Réglages
Eclairément	Température	26°C- 30°C	Le soleil augmente la température du bassin
	Saturation	> 70%	Augmente la production de phytoplancton et donc d'O ₂ dissous
	pH	7,9 - 8,2	Plus la concentration en phytoplancton est grande plus le pH est élevé
Précipitation	Température	26°C- 30°C	Diminue car l'eau de pluie a une température de 23°C
	Salinité	33 - 37,5	Diminue car l'eau de pluie a une salinité de 0 %
Renouvellement	Température	26°C- 30°C	Eau neuve à 27,5°C
	Saturation	> 70%	Eau neuve à 100%
	pH	7,9 - 8,2	Eau neuve à 8,0
	Salinité	33 - 37,5	Eau neuve à 36,4 %
Hydrodynamisme	Température	26°C- 30°C	Homogénéisation de la température dans le bassin
	Saturation	70% - 120%	Augmentation de la saturation avec une plus grande surface d'échange entre l'air et l'eau

Tableau 5. Détail de l'influence des conditions environnementales prises en compte sur les concentrations en phytoplancton, zooplancton et sels nutritifs.

Conditions	Concentrations	Influence
Eclairément	Phytoplancton	Augmente la production de phytoplancton et donc de O ₂ dissous
	Zooplancton	Concentre les copépodes et permet de meilleures interfaces de chasse
Précipitation	Phytoplancton	Augmente la production grâce à l'apport de sels nutritifs
	Sels nutritifs	Apport par ruissèlement
Renouvellement	Zooplancton	Dilution de la concentration
	Phytoplancton	Dilution de la concentration
	Sels nutritifs	Dilution des concentration
Hydrodynamisme	Phytoplancton	un bullage important favorise le développement de petites formes
	Zooplancton	Homogénéisation de la concentration dans le bassin
	Sels nutritifs	Homogénéisation de la concentration dans le bassin

8 Bibliographie

- Ben Khemis, Ines. « Larval rearing and weaning of *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) with mesocosm technology », 1997.
- Ben Khemis, Ines, KAMOUN F., Dora Zouiten, et Raouf Besbes. « CROISSANCE COMPAREE DES LARVES DU MULET LIPPU (*CHELON LABROSUS*) ELEVEES EN CONDITIONS SEMI-EXTENSIVES EN MESOCOSMES ET INTENSIVES EN ECLOSERIE », 2004.
- Ben Khemis, Ines, Enric Gisbert, Carles Alcaraz, Dora Zouiten, Raouf Besbes, A. Zouiten, Ahmed Masmoudi, et Chantal Cahu. « Allometric growth patterns and development in larvae and juveniles of thick-lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions », 2012.
- Ben Khemis, Ines, Dora Zouiten, Raouf Besbes, et F Kamoun. « Larval rearing and weaning of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semi-extensive technology ». *Aquaculture* 259 (1 septembre 2006): 190. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.05.007>.
- Chaitanawisuti, N, et A Kritsanapuntu. « Growth and Production of Hatchery-Reared Juvenile Spotted Babylon *Babylonia Areolata* Link 1807 Cultured to Marketable Size in Intensive Flowthrough and Semi-Closed Recirculating Water Systems ». *Aquaculture Research* 31, n° 5 (2000): 415-19. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00425.x>.
- Divanach, P., N. Papandroulakis, P. Anastasiadis, G. Koumoundouros, et M. Kentouri. « Effect of Water Currents on the Development of Skeletal Deformities in Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax* L.) with Functional Swimbladder during Postlarval and Nursery Phase ». *Aquaculture* 156, n° 1 (14 octobre 1997): 145-55. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00072-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00072-0).
- Meeren, Terje van der, et Torbjørn Lønøy. « Use of Mesocosms in Larval Rearing of Saithe [*Pollachius Virens* (L.)], Goldsinny [*Ctenolabrus Rupestris* (L.)], and Corkwing [*Crenilabrus Melops* (L.)] ». *Aquacultural Engineering* 17, n° 4 (1 juin 1998): 253-60. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(98\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00020-X).
- P. Divanach et kentouri. « Larval technique for diversification », s. d.
- Papadakis, Ioannis, Pascal Divanach, et Constantinos Mylonas. « DEVELOPMENT OF THE VISION AND DIGESTIVE SYSTEMS OF MEAGRE *Argyrosomus regius* (ASSO, 1801) REARED USING THE MESOCOSM METHOD », 2012.
- Papadakis, Ioannis E., Maroudio Kentouri, Pascal Divanach, et Constantinos C. Mylonas. « Ontogeny of the Digestive System of Meagre *Argyrosomus Regius* Reared in a Mesocosm, and Quantitative Changes of Lipids in the Liver from Hatching to Juvenile ». *Aquaculture* 388-391 (15 avril 2013): 76-88. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.01.012>.
- Papandroulakis, N., P. Divanach, P. Anastasiadis, et M. Kentouri. « The Pseudo-Green Water Technique for Intensive Rearing of Sea Bream (*Sparus Aurata*) Larvae ». *Aquaculture International* 9, n° 3 (1 mai 2001): 205-16. <https://doi.org/10.1023/A:1016813623122>.
- Papandroulakis, N., C. C. Mylonas, E. Maingot, et P. Divanach. « First Results of Greater Amberjack (*Seriola Dumerili*) Larval Rearing in Mesocosm ». *Aquaculture* 250, n° 1 (14 novembre 2005): 155-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.036>.
- Papandroulakis, Nikos, Konstada Lika, Tore Kristiansen, Frode Oppedal, Pascal Divanach, et Michail Pavlidis. « Behaviour of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., in cages - impact of early life rearing conditions and management ». *Aquaculture Research* 45 (1 janvier 2013). <https://doi.org/10.1111/are.12103>.
- Papandroulakis, Nikos, Eric Maingot, et P. Divanach. « Mesocosm: A Reliable Technology for Larval Rearing of *Diplodus puntazzo* and *Diplodus sargus sargus* ». *Aquaculture International* 12 (1 juillet 2004): 345-55. <https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000042134.21211.ab>.

- Philippe Dhert, P. Divanach, M. Kentouri and Patrick Sorgeloos. « REARING TECHNIQUES FOR Difficult Marine Fish Larvae », s. d.
- Plaza, Julian, Yanett Leyton, Camila Sayes, Cristian Mejías, et Carlos Riquelme. « *Seriola lalandi* Larviculture with Probiotic Supplements in Mesocosm Systems ». *Journal of Fisheries Sciences.com* 11 (1 janvier 2017). <https://doi.org/10.21767/1307-234X.1000131>.
- Richard, M., J.T. Maurice, A. Anginot, F. Paticat, M.C.J. Verdegem, et J.M.E. Hussenot. « Influence of Periphyton Substrates and Rearing Density on *Liza Aurata* Growth and Production in Marine Nursery Ponds ». *Aquaculture* 310, n° 1-2 (décembre 2010): 106-11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.023>.
- Richard, Marion, Julien-Thomas Maurice, Aurore Anginot, Francois Paticat, M. C. J. Verdegem, et J. M. E. Hussenot. « Influence of periphyton substrates and rearing density on *Liza aurata* growth and production in marine nursery ponds ». *Aquaculture* 310, n° 1-2 (2010): 106-11.
- Shields, R. J. « Larviculture of Marine Finfish in Europe ». *Aquaculture, Advanced Biotechnology in Hatchery Production*, 200, n° 1 (15 août 2001): 55-88. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00694-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00694-9).
- Suquet, Marc, Pascal Divanach, Jerome Hussenot, Denis Coves, et Christian Fauvel. « Marine Fish Culture of New Species Farmed in Europe ». *Cahiers Agricultures* 18, n° 2 (1 avril 2009): 148-56. <https://doi.org/10.1684/agr.2009.0301>.
- Suquet, Marc, Pascal Divanach, Hussenot Jerome, Coves Denis, Christian Fauvel, et Chemin Maguelone. « Pisciculture marine de « nouvelles especes » d'elevage pour l'Europe ». *Cahier Agriculture* 18 (1 janvier 2009).
- Van Der Meeren, T, et K E Jørstad. « Growth and Survival of Arcto-Norwegian and Norwegian Coastal Cod Larvae (*Gadus Morhua* L.) Reared Together in Mesocosms under Different Light Regimes ». *Aquaculture Research* 32, n° 7 (2001): 549-63. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00578.x>.
- Yúfera, M., J. B. Ortiz-Delgado, T. Hoffman, I. Siguero, B. Urup, et C. Sarasquete. « Organogenesis of Digestive System, Visual System and Other Structures in Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus Thynnus*) Larvae Reared with Copepods in Mesocosm System ». *Aquaculture* 426-427 (20 avril 2014): 126-37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.031>.
- Zaiss, Mario M., Ioannis E. Papadakis, Eric Maingot, Pascal Divanach, et Constantinos C. Mylonas. « Ontogeny of the Digestive Tract in Shi Drum (*Umbrina Cirrosa* L.) Reared Using the Mesocosm Larval Rearing System ». *Aquaculture* 260, n° 1 (29 septembre 2006): 357-68. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.001>.
- . « Ontogeny of the Digestive Tract in Shi Drum (*Umbrina Cirrosa* L.) Reared Using the Mesocosm Larval Rearing System ». *Aquaculture* 260, n° 1 (29 septembre 2006): 357-68. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.001>.
- Zouiten, Dora, Ines Ben Khemis, Ahmed Slaheddin Masmoudi, Christine Huelvan, et Chantal Cahu. « Comparison of Growth, Digestive System Maturation and Skeletal Development in Sea Bass Larvae Reared in an Intensive or a Mesocosm System ». *Aquaculture Research* 42, n° 11 (2011): 1723-36. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02773.x>.

10 Annexes

10.1 Analyse des pathogènes

10.2 Diagnostic Nodavirus

Des prélèvements de copépodes provenant du lagon et du bassin terre TS3 (mésocosme) ont été réalisés. Les échantillons de copépodes notés « ' » et « '' » sont des échantillons doublons pour la bancarisation, ils seront analysés en cas de besoin.

Des prélèvements de cerveaux ont également été réalisés sur 30 alevins du bassin terre TS3. Ceux-ci ont été regroupés par pool de 5 cerveaux par échantillons (tab.1). L'ensemble des échantillons ont été conservés en RNAlater à -80°C après une incubation à température ambiante d'environ 24 heures, jusqu'à leur analyse.

Tableau 1 : Liste des échantillons pour la réalisation du diagnostic

Date de prélèvement	Nature du prélèvement	Age	Nombre de Pool	Identification de l'échantillon	Poids (mg)
05/05/2023	Copépode entier du lagon		3	Cop lag 1	35,2
				Cop lag 1'	40
				Cop lag 1''	22,5
	Copépode entier du bassin terre		2	Cop BT 1	24,8
				Cop BT 1'	13,5
10/05/2023	Cerveau	Alevin	6	PP1	
				PP2	
				PP3	
				PP4	
				PP5	
				PP6	

Une extraction d'ARN est d'abord réalisée à l'aide d'un Kit RNeasy (Qiagen) selon le protocole fourni (Annexe 1). La quantité et la qualité (ou pureté) des ARN extraits sont évalués au spectrophotomètre Nanodrop 1000.

Une rétrotranscription est ensuite réalisée à l'aide d'un Kit First cDNA Synthesis Kit selon le protocole fourni (Annexe 2). Pour chaque échantillon, 500ng d'ARN sont rétro transcrit pour obtenir de l'ADNc.

Le diagnostic est enfin établi à l'aide d'un kit Mini-array commercial Diag4zoo Nodavirus (Acobiom) en deux étapes : une PCR (Annexe 3) réalisée avec le mélange réactionnel fourni dans le Kit et une révélation (Annexe 4) dont les réactifs sont aussi fournis dans le Kit.

10.3 Diagnostic : *Tenacibaculum maritimum*

Pour diagnostiquer *Tenacibaculum maritimum*, des prélèvements de frottis tégumentaires ont été réalisés sur l'ensemble des 30 poissons. Les frottis sont regroupés par pools de 5 individus par frottis (tab.2). Ceux-ci sont réalisés sur un seul flanc au moyen d'écouvillon stériles en utilisant un même

écouvillon par pool. Le frottis se fait au niveau des tâches. Les échantillons sont ensuite broyés dans 600µl de Buffer RLT à l'aide de 3 billes de broyage stériles pendant 3 minutes à 30 battements par seconde puis conservés à -80°C jusqu'à leur analyse.

Tableau 1 : Liste des échantillons pour la réalisation du diagnostic

Date de prélèvement	Nature du prélèvement	Age	Nombre de Pool	Identification de l'échantillon
10/05/2023	Frottis tégumentaire	Alevin	6	PP F1
				PP F2
				PP F3
				PP F4
				PP F5
				PP F6

Une extraction d'ARN (Annexe 1) et une rétrotranscription (Annexe 2) sont réalisées de la même façon que pour le diagnostic du nodavirus. Les ADNc obtenus après rétrotranscription sont ensuite dilués au 100^{ème}.

Le diagnostic de *Tenacibaculum maritimum* est enfin établi par qPCR en deux temps. Dans un premier temps on réalise une qPCR en chimie Sybr green afin de quantifier la charge en bactérie totale et ainsi vérifier l'intégrité des ADNc (Annexe 5). Dans un second temps, on réalise une qPCR en chimie Taqman afin de diagnostiquer *Tenacibaculum maritimum* (Annexe 6). Les amorces utilisées pour les deux qPCR sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Séquences des amorces utilisées pour la quantification en bactérie totale et en *Tenacibaculum maritimum*

	Bactérie totale	<i>T.maritimum</i>
Amorces sens	CGGTCCAGACTCCTACGGG	TGCCTTCTACAGAGGGATAGCC
Amorces anti-sens	TTACCGCGGCTGCTGGCAC	CTATCGTTGCCATGGTAAGCCG
Sonde	Aucune	CACTTTGGAATGGCATCG
Bibliographie	Lee et <i>al.</i> , 1996	Schichorski et <i>al.</i> , 2013

11 Résultats

11.1 Nodavirus

11.1.1 Extraction d'ARN : quantification et qualification

Les résultats de quantification et de qualification des ARN extraits repris dans 30µl d'eau nuclease-free sont présentés ci-dessous (tab.3).

Tableau 3 : Résultats de quantification et de qualification des ARN extraits

Echantillons	Volume (µL)	Concentrations des ARN en ng/µl	Ratio 260/280	Ratio 260/230
Cop BT1	30	991,28	2,11	2,46
Cop lag1	30	142,78	2,09	1,68
PP1	30	371,68	2,05	1,26
PP2	30	699,53	2,1	1,92
PP3	30	456,59	2,03	2,25
PP4	30	305,71	2,06	0,95
PP5	30	151,87	2,06	0,74
PP6	30	95,26	2,04	0,53

Les résultats montrent que l'ensemble des échantillons sont en quantité et sont de qualité suffisante pour le diagnostic du nodavirus. En effet les concentrations sont supérieures à 50ng/µl et le ratio 260/280 est bien compris entre 1,9 et 2,1. Le ratio 260/230 est un autre indicateur de pureté des acides nucléiques, celui-ci est considéré comme acceptable lorsqu'il est supérieur à 1,8. Ici, seuls les échantillons Cop BT1, PP2 et PP3 ont un ratio 260/230 acceptable.

11.1.2 Diagnostic

Les contrôles négatifs et positifs de PCR sont conformes pour l'ensemble des échantillons et les tests sont donc interprétables (Annexe 4). De plus tous les échantillons sont négatifs au Nodavirus (tab.4).

Tableau 4 : Résultats du diagnostic Nodavirus obtenus au Kit Diag4zoo

Echantillon	Nature de l'échantillon	Origine	Contrôle interne	Résultat diagnostic Kit Diag4zoo
Cop BT1	Copépodes	Bassin terre TS3 (mésocosme)	Conforme	Négatif
Cop lag1		Lagon	Conforme	Négatif
PP1	Cerveau	Bassin terre TS3 (mésocosme)	Conforme	Négatif
PP2			Conforme	Négatif
PP3			Conforme	Négatif
PP4			Conforme	Négatif
PP5			Conforme	Négatif
PP6			Conforme	Négatif

11.2 *Tenacibaculum maritimum*

L'ensemble des échantillons sont de qualité pour un diagnostic par qPCR. Tous les échantillons sont négatifs au diagnostic *Tenacibaculum maritimum* (tab.5).

Tableau 5 : Résultats des analyses par qPCR *T.maritimum* des échantillons analysés

Date de prélèvement	Bac	Echantillon	Résultats	
			qPCR bactot	qPCR T.mar
10/05/2023	Bassin terre TS3 (mésocosme)	PP F1	Positif	Négatif
		PP F2	Positif	Négatif
		PP F3	Positif	Négatif
		PP F4	Positif	Négatif
		PP F5	Positif	Négatif
		PP F6	Positif	Négatif

12 Conclusion

Les copépodes et les poissons analysés sont indemnes de nodavirus et de *Tenacibaculum maritimum*.

13 Résumé

Ce document relate deux essais d'élevage larvaire en système d'élevage mésocosme. 2 types de bassin ont été utilisés : un bassin en béton de 14 000 L et un bassin de terre de 400 000 L. Un bloom phytoplanctonique naturel a été favorisé par amendement. L'apport en copépodes est réalisé via des pompages d'eau du lagon. L'incubation a été réalisée en eau brute non filtrée. Plusieurs paramètres ont été suivis durant le cycle d'élevage (température, salinité, saturation, pH). De plus les concentrations de copépodes ont été suivis durant le cycle d'élevage. 4209 et 6389 alevins ont été produits. L'absence de malformations et de pathogènes associée à un coût de production « low cost » rend ce système d'élevage très concurrentiel avec la méthode intensive utilisée à ce jour en éclosérie territoriale. L'objectif de 10 000 alevins semble réalisable.

14 Summary

This document is a report on two trials of larval rearing in mesocosms. 2 types of tank were used: a 14,000 L concrete tank and a 400,000 L earthen pound. A natural phytoplankton bloom was encouraged by amendment. Copepods were added by pumping. Incubation was carried out in unfiltered raw water. Several parameters were monitored during the rearing cycle (temperature, salinity, saturation, pH). Copepod concentrations were also monitored during the rearing cycle. 4209 and 6389 juvenile were produced. The absence of malformations and pathogens, combined with low production costs, make this farming system very competitive with other systems. The objective of 10,000 fry seems achievable.