

---

## **Influence de la salinité sur la croissance et la composition de la cuticule de la pȳ crevette à pattes blanches (Penaeus vannamei) en con circuit expérimental à eau recirculée**

**Auteur :** Joly, Emilie

**Promoteur(s) :** Rougeot, Carole; Compère, Philippe

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

**Année académique :** 2024-2025

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/23838>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

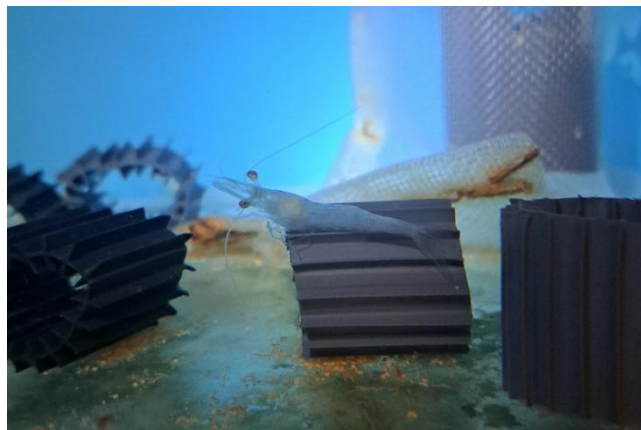


Université de Liège

Faculté des Sciences

Département de Biologie, Ecologie et Evolution

**Influence de la salinité sur la croissance et la composition de la cuticule de la crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*) en conditions d'élevage en circuit expérimental à eau recirculée**



Emilie Joly

Mémoire réalisé dans le cadre de l'obtention du grade de master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

Août 2025

Promotrice : Carole Rougeot (Unité de Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture)

Co-promoteur : Philippe Compère (Laboratoire de morphologie fonctionnelle et évolutive)

## Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à ma promotrice, Carole Rougeot, pour son accompagnement tout au long de ce mémoire, ainsi que ses précieux conseils durant la rédaction.

Je remercie également Jiri Bossuyt pour son encadrement durant la phase expérimentale de ce projet et pour sa patience à répondre à mes nombreuses questions, ainsi que toute l'équipe du laboratoire de l'UGERAA de Tihange pour son accueil chaleureux au cours de cette année.

Mes remerciements vont aussi à mon co-promoteur, Philippe Compère, pour son accueil durant la phase d'observation des échantillons, sa guidance en microscopie et l'aide apportée lors de la rédaction.

Merci à Sarah Smeets pour son aide et ses explications lors de la préparation des échantillons pour la microscopie.

Enfin, merci à ma famille et mes amis pour leur soutien tout au long de ce projet. Un merci particulier à mes parents d'avoir sacrifié une partie de leurs week-ends pour m'accompagner lors des gardes. Un grand merci à ma maman également pour le temps et l'investissement consacrés à la relecture de ce mémoire.

# **Influence de la salinité sur la croissance et la composition de la cuticule de la crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*) en conditions d'élevage en circuit expérimental à eau recirculée**

Emilie Joly - Promotrice : Carole Rougeot - Co-promoteur : Philippe Compère

Encadrant : Jiri Bossuyt - Unités d'accueils : Unité de Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture ; Laboratoire de morphologie fonctionnelle et évolutive – Année : 2024 - 2025

## **Résumé**

La crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*) est une espèce aquacole d'importance mondiale. Originaires des côtes tropicales occidentales de l'Amérique latine, elle est principalement produite en élevages extensifs et semi-intensifs en Equateur et en Asie avant d'être importée en Europe. Dans ces pays, les conditions d'élevage ne sont pas écologiquement durables (forte utilisation d'antibiotiques et de traitements médicamenteux). Dernièrement, afin de pallier l'importation de ces crevettes produites dans des conditions moins bonnes, la production de la crevette à pattes blanches a commencé à se développer dans nos régions, dans des systèmes à eau recirculée. L'un des problèmes de ces élevages éloignés des côtes est l'utilisation d'eau salée qui entraîne d'importants coûts de production et d'entretien des infrastructures, en plus d'exercer un impact environnemental via les rejets d'eaux salées. Réduire la salinité pourrait permettre de diminuer les coûts économiques et écologiques de l'aquaculture de crevettes.

L'objectif de ce mémoire était donc d'évaluer la possibilité d'élever *P. vannamei* à de faibles salinités en maintenant un taux de survie et de croissance satisfaisant, ainsi qu'une qualité optimale de la cuticule des crevettes, cette dernière jouant un rôle important dans leur survie et leur bien-être. Dans cette optique, des juvéniles ont été élevées à trois salinités différentes (5, 10 et 20 g/L) durant 50 jours. Des mesures de qualité d'eau étaient prises quotidiennement (température, taux de saturation en oxygène dissous, pH, salinité, conductivité) et hebdomadairement (concentrations en ammoniac, nitrites, nitrates, sulfates, potassium, phosphates, zinc, fer, cuivre, alcalinité et dureté totale). L'influence de la salinité sur la croissance a été évaluée sur base de données de poids, longueurs et surfaces prises en début, milieu et fin d'expérimentation.

Les résultats ont montré des différences dans les taux de survie dépendants de la température mais non de la salinité. Aucune différence de croissance ou d'organisation générale de la cuticule n'a été observée entre les trois traitements salins. Les données obtenues concernant la minéralisation de la cuticule laissent entrevoir un possible effet de la salinité, mais le nombre d'échantillons, insuffisant, ne permet aucune conclusion et des analyses complémentaires seraient nécessaires. Cette étude suggère que l'élevage de juvéniles de *P. vannamei* à une salinité abaissée jusqu'à 5 g/L permettrait de maintenir un taux de survie et de croissance satisfaisant et ne nuit pas à la structuration de la cuticule.

## Table des matières

1. Introduction .....	1
1.1. Contexte général .....	1
1.2. Situation de la production de <i>P. vannamei</i> en aquaculture .....	1
1.3. Les différents systèmes d'élevages de crevettes .....	3
1.3.1. Aquaculture extensive / semi-intensive .....	3
1.3.2. Aquaculture en système à eau recirculée .....	4
1.3.3. Aquaculture en système Biofloc .....	5
1.3.4. Comparaison de l'utilisation des systèmes en RAS et en Biofloc en crevetticulture .....	5
1.4. Croissance de <i>P. vannamei</i> .....	6
1.4.1. Croissance et mue .....	6
1.4.2. Influence de la salinité sur la croissance .....	8
1.4.2. Importance de la composition ionique de l'eau .....	9
1.4.3. Ions principaux et rôles dans la physiologie de <i>P. vannamei</i> .....	10
1.4.4. Impact de la salinité sur la résistance aux stress et aux maladies .....	11
1.5. Objectifs de l'étude .....	11
2. Matériel et méthodes .....	12
2.1. Description générale de l'espèce étudiée .....	12
2.1.1. Taxonomie et morphologie de l'espèce .....	12
2.1.2. Ecologie et cycle de vie .....	13
2.2. Design expérimental .....	14
2.2.1 Matériel biologique .....	14
2.2.2. Système expérimental .....	14
2.2.3. Aquariums contrôles .....	16
2.3. Mesures et analyses de la qualité de l'eau .....	16
2.3.1. Suivi quotidien des paramètres physico-chimiques .....	16
2.3.2. Mesures des paramètres chimiques .....	17
2.4. Mesures de croissance des individus .....	17
2.5. Analyses de la structure et de la minéralisation de la cuticule .....	17
2.5.1. Prélèvement des échantillons .....	17
2.5.2. Microscopie électronique à balayage .....	17
2.5.3. Microscopie électronique à transmission .....	18
2.5.4. Microscopie optique .....	18
2.6. Analyses statistiques et traitements des données .....	18
2.6.1. Paramètres physico-chimiques .....	18
2.6.2. Taux de survie .....	19

2.6.3. Croissance .....	19
3. Résultats .....	20
3.1. Suivi quotidien des paramètres physico-chimiques .....	20
3.1.1. Température .....	20
3.1.2. Taux d'oxygène dissous .....	20
3.1.3. pH.....	21
3.1.4. Salinité et conductivité .....	21
3.2. Analyse de la qualité chimique .....	22
3.2.1. Ammoniaque, nitrite et nitrate .....	22
3.2.2. Dureté totale.....	24
3.2.3. Concentration en sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ).....	25
3.2.4. Concentration en phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ).....	26
3.2.5. Alcalinité .....	26
3.2.6. Potassium .....	27
3.2.7. Zinc, Fer cuivre .....	27
3.3. Effet de la salinité sur la survie .....	28
3.4. Effet de la salinité sur la croissance .....	28
3.5. Structure et minéralisation de la cuticule .....	30
3.5.1 Structure générale de la cuticule .....	30
3.5.2. Minéralisation de la cuticule.....	32
4. Discussion.....	38
4.1. Taux de survie .....	38
4.1.1. Effet de la salinité ?.....	38
4.1.2. Effet de la température ? .....	39
4.1.3. Effet du taux d'oxygène dissous ? .....	39
4.1.3. Effet du pH ? .....	39
4.1.4. Effet des composés azotés ?.....	40
4.1.5. Effet de la dureté et de l'alcalinité ?.....	41
4.1.6. Effet du potassium ?.....	41
4.1.7. Présence et ratios des minéraux essentiels .....	42
4.1.8. Rôle des paramètres biologiques .....	42
4.2. La croissance.....	42
4.3. Structures et minéralisation de la cuticule .....	43
5. Conclusion .....	45
6. Bibliographie .....	
Annexes .....	

# 1. Introduction

## 1.1. Contexte général

L'aquaculture est un domaine de production en expansion, ayant atteint en 2022 un pic de 130,9 millions de tonnes produites (algues comprises), surpassant ainsi pour la première fois la pêche de capture. Les principaux pays producteurs sont la Chine avec 53 millions de tonnes d'animaux aquatiques produits en 2022, suivie de l'Inde (10 millions de tonnes) et de l'Indonésie (5 millions de tonnes) (FAO, 2024). Parmi les environs 730 espèces animales et végétales élevées en aquaculture, certaines sont particulièrement prisées, comme la crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*). Cette espèce a vu sa production atteindre 6,8 millions de tonnes en 2022, ce qui en fait la première espèce animale produite au monde et une composante majeure de la production (FAO, 2024).

A l'heure actuelle, la crevette à pattes blanches est élevée en culture extensive ou semi-intensive dans les régions côtières tropicales. Le développement de ces systèmes n'apporte pas que des bénéfices car il cause la destruction d'écosystèmes de hautes valeurs écosystémiques et biologiques comme les mangroves (Noguera-Muñoz et al., 2021). En Asie du Sud-est, par exemple, les mangroves ont enregistré une perte de plus de 100 000 hectares de forêt entre 2000 et 2012, dont 30% sont imputables à l'aquaculture de poissons et de crevettes tels que *P. vannamei* (Richards & Friess, 2016). Une alternative proposée pour limiter cet impact environnemental est le développement de cultures plus intensives mais en systèmes contrôlés, qui permettent de diminuer la pression infligée à l'environnement (Noguera-Muñoz et al., 2021).

## 1.2. Situation de la production de *P. vannamei* en aquaculture

Les principaux pays producteurs de crustacés sont la Chine, le Vietnam et l'Equateur (FAO, 2024). La crevette à pattes blanches du Pacifique est produite principalement de manière intensive en Asie de l'Est et du Sud-Est et en Amérique latine (Fig.1) (FAO, 2022). On retrouve cette production dans de nombreux pays : la Chine, la Thaïlande, l'Indonésie, le Brésil, l'Equateur, le Mexique, le Venezuela, le Honduras, le Guatemala, le Nicaragua, le Belize, le Vietnam, la Malaisie, Taiwan (province de Chine), les Îles Pacifiques, le Pérou, la Colombie, le Costa Rica, le Panama, le Salvador, les États-Unis d'Amérique, l'Inde, les Philippines, le Cambodge, le Suriname, Saint Kitts, la Jamaïque, Cuba, la République Dominicaine, et les Bahamas (Briggs, 2009). L'élevage de *P. vannamei* dans ces pays producteurs s'effectue principalement en élevages extensifs et semi-intensifs, entraînant de nombreux impacts environnementaux : déforestation des mangroves, pollution chimique et organique des nappes souterraines et des côtes par les effluents aquacoles, ainsi que des risques sanitaires pour l'homme et l'environnement liés à l'utilisation massive de pesticides et d'antibiotiques destinés à lutter contre les pathogènes (Nguyen Van Cong, 2017).

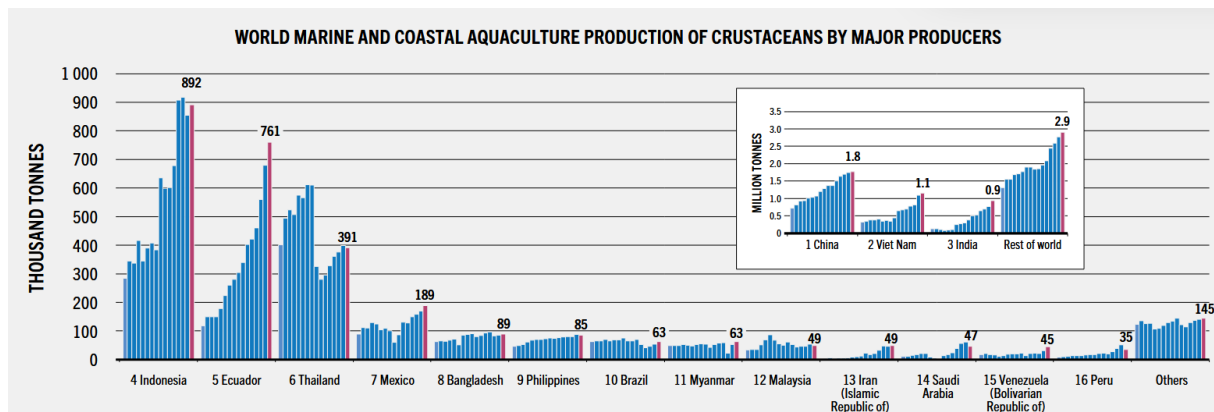


Figure 1: Répartition de la production mondiale des crustacés entre 2005 et 2020 (FAO, 2022).

Parmi les plus grands consommateurs de crevettes figurent l'Amérique du Nord, le Japon et l'Europe. L'importation en Europe d'espèces tropicales telles que *Penaeus vannamei* provient principalement d'Asie et d'Amérique latine, l'Europe étant le principal importateur de crevettes à pattes blanches en provenance de l'Equateur (FAO, 2022 ; FAO, 2024). Depuis peu, certains pays européens (Royaume-Uni, Allemagne, Autriche, Suisse, Espagne, Bulgarie, Belgique, France, Slovaquie, Lettonie, Norvège, Lituanie et Suède) ainsi que plusieurs régions méditerranéennes, se sont également lancés dans l'élevage de crevettes de différentes espèces comme *Penaeus stylirostris*, *Marsupenaeus japonicus* et *Penaeus vannamei* (euroshrimp, 2021). Si en Asie et Amérique latine l'élevage de crevettes à pattes blanches se fait principalement en étangs le long des côtes, cela n'est pas possible en Europe à cause des conditions climatiques très différentes des optimums thermiques pour l'espèce. Les fermes de crevettes en Europe sont donc presque exclusivement des installations intérieures en systèmes fermés. Les types de systèmes utilisés le plus couramment sont l'aquaculture en recirculation (Recirculating Aquaculture System, RAS) et le biofloc (Gamberoni et al., 2025).

En Wallonie, dans le cadre du projet de diversification aquacole financé par le Fonds européen pour les affaires maritimes, la pêche et l'aquaculture, un projet d'étude nommé WalliCrevette a été mis en place (*Liste Des Opérations Sélectionnées FEAMPA*, n.d.). Ce projet vise à développer une production wallonne de crevettes à pattes blanches. Cette production locale, en plus de favoriser le développement de l'aquaculture en Belgique, pourrait contribuer à diminuer l'importation des crevettes depuis l'étranger et par conséquent, à réduire l'empreinte écologique de notre consommation.

L'établissement d'une production wallonne de crevettes permettrait de mieux contrôler l'impact environnemental ainsi que la qualité des produits, par rapport à ceux issus de l'importation. Cependant, des contraintes techniques se posent pour pouvoir élever cette crevette dans notre région. En effet, les crevettes à pattes blanches étant des organismes marins et non d'eau douce, leur élevage s'est d'abord développé en eau salée. Or en Wallonie, il n'existe pas d'accès direct à une zone côtière comme c'est le cas dans des pays comme l'Equateur ou le Vietnam. Cependant, *P. vannamei* est une espèce euryhaline capable de tolérer des salinités allant de 1 à 40 g/L (Saoud et al., 2003; Liao & Chien, 2011).

Bien que la survie soit possible dans ce large éventail de salinités, la valeur optimale pour la croissance et le bien-être de *P. vannamei* se situe généralement autour de 20 à 25 g/L (Li et al.,



2017). Compte tenu du coût élevé lié à l'utilisation d'eau salée, ainsi que de la nécessité de limiter l'impact environnemental des rejets d'eau, il est pertinent d'évaluer la possibilité d'élever ces crevettes à des salinités inférieures à l'optimum, sans compromettre la productivité de l'élevage ni le bien-être des organismes.

### 1.3. Les différents systèmes d'élevages de crevettes

#### 1.3.1. Aquaculture extensive / semi-intensive

Les systèmes extensifs sont principalement mis en œuvre dans les pays latino-américains. Ils sont généralement implantés dans les zones de marées. Les post-larves de crevettes y sont introduites à une densité de 4 à 10 individus/m<sup>2</sup> dans des étangs de formes irrégulières, d'une superficie maximale de 30 ha et d'une profondeur comprise entre 0,7 m et 1,2 m. La gestion de ce type de système requiert peu de moyens financiers et humains : les étangs situés en zones de marées ne nécessitent qu'un apport minimal en oxygène et le renouvellement de l'eau est assuré naturellement par les marées. Les crevettes se nourrissent principalement des aliments naturels présents dans l'étang. Elles sont récoltées après cinq mois de grossissement, lorsqu'elles atteignent une masse d'environ 11g. Dans les systèmes extensifs, le rendement par récolte est compris entre 150 et 500 kg/ha (Hambrey, 2003; Briggs, 2009).

Les systèmes semi-intensifs permettent d'augmenter le rendement tout en réduisant la surface utilisée. Ils sont présents en Amérique latine mais également en Asie (Briggs, 2009; Araujo et al., 2025). Les étangs, d'une superficie de 1 à 5 ha et d'une profondeur d'environ 1m, sont mis en charge à une densité de 10 à 30 post-larves par m<sup>2</sup>. La gestion de ce type d'élevage requiert des moyens plus importants que les systèmes extensifs en raison de la nécessité d'un renouvellement régulier de l'eau et d'un apport alimentaire complémentaire, généralement sous forme d'aliments formulés. Le rendement en système semi-intensif pour une récolte est de 500 à 2 000 kg/ha, avec deux récoltes par an (Briggs, 2009; Emerenciano et al., 2022).

Les systèmes en élevage extensifs ou semi-intensifs sont souvent privilégiés par les petits producteurs car ils sont moins coûteux. Cependant, ce type d'élevage ne présente pas que des avantages et exerce une pression environnementale notable. En effet, l'expansion de l'aquaculture a entraîné la déforestation des mangroves pour la construction de nouveaux étangs, causant ainsi une perte de biodiversité ainsi qu'une diminution des services écosystémiques rendus par ces milieux : protection du littoral contre les inondations lors des tempêtes, production de bois, augmentation de la sédimentation, réduction de l'érosion des sols, sans oublier leur rôle de nurseries pour de nombreuses espèces de poissons et crustacés.

La disparition des mangroves n'est cependant pas le seul impact environnemental des élevages de crevettes. L'utilisation d'eau douce dans les systèmes semi-intensifs pour compenser l'évaporation et maintenir une salinité proche de 20g/L, jugée optimale pour les crevettes, dépend d'un pompage depuis les nappes souterraines. Cela peut entraîner des conséquences comme l'affaissement des sols dû à la perte d'eau souterraine, ainsi que l'intrusion d'eau salée dans les nappes. La perte des mangroves et l'affaissement des sols augmentent les risques d'inondations lors des tempêtes, mettant ainsi en danger les populations.

Le rejet des eaux d'élevages dans les zones côtières est également un risque pour l'environnement car elles sont très riches en nutriments et en matières organiques issues des déchets alimentaires, des produits métaboliques et des fertilisants parfois utilisés pour stimuler la production de plancton, base de l'alimentation naturelle des crevettes. Ces concentrations élevées modifient les taux de sédimentation, accélèrent l'eutrophisation du milieu et entraînent une déplétion en oxygène. La dégradation de cette matière organique excessive provoque aussi une augmentation de la concentration en éléments toxiques pour la vie marine, tels que les composés sulfurés et l'ammoniac.

Une autre source de pollution des eaux côtières et de l'environnement réside dans l'utilisation massive d'antibiotiques pour prévenir les maladies, ainsi que dans l'emploi d'autres composés chimiques, tels que les pesticides, qui se retrouvent dans l'environnement (Hambrey, 2003; Nguyen Van Cong, 2017; Clapano et al., 2022).

Pour limiter ces impacts environnementaux, des méthodes alternatives d'élevage ont été développées, comme le système à eau recirculée ou le système en biofloc.

### 1.3.2. Aquaculture en système à eau recirculée

Le RAS est un système de production basé sur la filtration et la recirculation de l'eau. L'eau issue des bassins d'élevage, contenant les déchets métaboliques des crevettes ainsi que les restes alimentaires, est traitée par différents systèmes de filtration avant d'être réutilisée.

Un premier filtre mécanique permet d'éliminer les déchets solides de matière organique constitués des fèces et des aliments non consommés (Sun et al., 2023). Ensuite, un filtre biologique convertit les composés fortement toxiques en composés non toxiques ou faiblement toxiques : l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) est ainsi oxydé en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) puis en nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) par les bactéries des genres *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*.

L'ammoniac provient de l'accumulation et de la décomposition des aliments ainsi que des fèces des crevettes (Ray et al., 2017; Nugraha et al., 2023; Sun et al., 2023). Ce composé est une source de stress pour les organismes aquatiques et est présent dans l'eau sous forme de  $\text{NH}_3$  et  $\text{NH}_4^+$ . La forme  $\text{NH}_3$  est la plus toxique car, étant fortement lipophile, elle peut traverser la membrane cellulaire et causer des lésions dans les tissus de divers organes, tels que les branchies ou l'hépatopancréas. Le métabolisme de la crevette est également affecté et son taux de croissance est ralenti. Une exposition prolongée au  $\text{NH}_3$  entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO, aussi appelées ROS en anglais) qui vont induire un stress oxydatif susceptible de conduire à l'apoptose des cellules. Ce stress rend aussi les crevettes plus vulnérables à d'autres facteurs, notamment aux pathogènes. Une exposition chronique ou une concentration élevée en ammoniac peut provoquer la mort des crevettes.

Pour ces raisons, l'eau d'élevage passe par un processus de nitrification dans le biofiltre afin d'oxyder le  $\text{NH}_3$  (extrêmement toxique) en nitrites (toxiques) puis en nitrates (peu toxiques) (Y.-C. Lin & Chen, 2003; Schuler et al., 2010; L. Lin et al., 2024). Certains systèmes de RAS sont également pourvus d'un système de stérilisation de l'eau, tel qu'une lampe UV ou l'ajout d'ozone, pour éliminer les pathogènes comme les bactéries et les virus. L'ozone peut également

permettre de décomposer par oxydation les molécules larges de matières organiques en plus petites molécules biodégradables.

Le système d'aquaculture en recirculation permet un élevage à une haute densité de population (500 post-larves/m<sup>3</sup>) et présente divers avantages, tels qu'une réduction du taux de renouvellement d'eau (maximum 10% du volume total est remplacé quotidiennement), une amélioration de la qualité de l'eau ainsi qu'une diminution des risques de maladies infectieuses (Ray et al., 2017; Nugraha et al., 2023; Sun et al., 2023).

### 1.3.3. Aquaculture en système Biofloc

Le second système fréquemment utilisé en crevetticulture est le système en biofloc. Il est employé dans les étangs semi-intensifs et les élevages intensifs. Ce système présente des avantages économiques et environnementaux car il nécessite peu ou pas de renouvellement d'eau et permet de réduire l'apport en aliments artificiels dans les bassins grâce à la production de protéines d'origine microbienne. Dans ce système, la qualité de l'eau est maintenue grâce à la création de floccs microbiens (les biofloccs) dans le bassin.

Les biofloccs sont produits par l'ajout dans l'eau de matières azotées (aliments ou engrais uréiques) et de carbone organique sous forme de composés riches en sucres, comme la mélasse ou l'amidon, afin de maintenir un ratio carbone/azote supérieur à 10. Lorsque le ratio carbone/azote a été ajusté, une aération importante est fournie au système afin d'activer les bactéries hétérotrophes, capables d'absorber le carbone et l'azote nécessaires à la synthèse des protéines, donc à la production de biomasse bactérienne. Les autres micro-organismes présents dans l'eau se fixent alors sur ces bactéries pour s'en nourrir et cette agrégation forme les biofloccs. Pour faciliter la création de ces biofloccs, de l'argile tamisée peut également être ajouté au système pour servir de support aux micro-organismes et favoriser l'agrégation des floccs.

Les biofloccs ainsi formés sont constitués d'un ensemble de micro-organismes : des microalgues, des bactéries, des ciliés, des protozoaires, des rotifères, des copépodes, des nématodes et des champignons. La présence des différents groupes d'organismes dépend de divers facteurs dont la source de carbone, la salinité de l'eau et les espèces élevées dans le bassin ou l'étang. L'ensemble des micro-organismes présents dans le biofloc contribue au recyclage de la matière organique présente dans le système. L'assimilation de l'ammoniac par les bactéries hétérotrophes, en réponse à leurs besoins en azote inorganique, joue également un rôle essentiel dans le maintien de la qualité de l'eau.

Enfin, les biofloccs constituent une source de nourriture pour les crevettes, ce qui permet de réduire les coûts d'élevage en réduisant l'apport d'aliments artificiels (Khanjani & Sharifinia, 2020).

### 1.3.4. Comparaison de l'utilisation des systèmes en RAS et en Biofloc en crevetticulture

Le système d'aquaculture à eau recirculée et la technologie biofloc sont couramment utilisés et étudiés dans la littérature, mais un consensus n'a pas été atteint pour déterminer lequel est le plus performant pour l'élevage de *P. vannamei*. Certaines études, comme celle de Pimentel et al. (2025), ont montré une croissance hebdomadaire et un poids final plus élevés dans les

systèmes en biofloc que dans le RAS, tandis que d'autres ont obtenu des résultats opposés (Ray et al., 2017; Tierney & Ray, 2018).

## 1.4. Croissance de *P. vannamei*

### 1.4.1. Croissance et mue

Chez les crustacés comme les crevettes, la croissance est rendue possible par un processus de mues successives. L'exosquelette rigide, nommé cuticule, est périodiquement abandonné, puis remplacé par un nouvel exosquelette plus grand, sécrété par l'épiderme situé sous l'ancien, lequel est rejeté lors de l'exuviation (ecdysis) et abandonné sous forme d'exuvie.

Le cycle de mue joue un rôle essentiel dans la physiologie des crevettes car la plupart des fonctions métaboliques et endocriniennes en dépendent. Ce cycle va être divisé en 3 étapes principales subdivisées en stades selon un code alphabétique et définies par rapport à l'ecdysis (stade E, Drach & Ttchernigovtzeff, 1967; Corteel *et al.*, 2012; Lemos & Weissman, 2021). Ces étapes sont : la postmue (metecdysis ou postecdysis) subdivisée en stades précoces et tardifs A<sub>1-2</sub>, B<sub>1-2</sub> et C<sub>1-3</sub>; l'intermue (anecdysis, stade C<sub>4</sub>) ; et la prémue (proecdysis, stades D<sub>0-4</sub>).

La prémue est la phase la plus longue du cycle. Il est possible d'identifier dans quel stade du cycle se trouve une crevette par l'observation au microscope optique de l'épiderme et du développement des matrices des soies par transparence en bordure des uropodes (figure 2) (Gao et al., 2015). Durant le stade A, des cellules de l'épiderme sont présentes dans la lumière des soies. Au stade B, l'épiderme se retire mais est toujours présent à la base des soies. Au stade C, l'épiderme est sous la base des soies. Au stade D<sub>0</sub>, l'ancienne cuticule se sépare de l'épiderme (apolyse), dégageant un espace translucide ; au stade D<sub>2</sub>, la nouvelle cuticule et les nouvelles soies sont devenues visibles. Enfin, lors de l'ecdysis, l'ancienne cuticule est rejetée (Corteel et al., 2012).

Juste après l'ecdysis, au début de la phase de la postmue, la crevette est dans une phase critique car elle est fortement exposée à l'environnement et possède un exosquelette mou. C'est également à ce moment que sa taille est déterminée jusqu'à la mue suivante par l'absorption d'un certain volume d'eau à travers l'épiderme, les branchies et l'intestin, avant que l'exosquelette ne se rigidifie. Cette eau est progressivement remplacée par de la masse tissulaire au cours du cycle, entre les stades A et D (Lemos & Weissman, 2021).

La durée totale du cycle dépend de différents facteurs, dont l'âge des individus, les individus plus jeunes muant plus fréquemment. La température va également exercer une influence : plus la température est élevée, plus le cycle est court (Corteel et al., 2012).

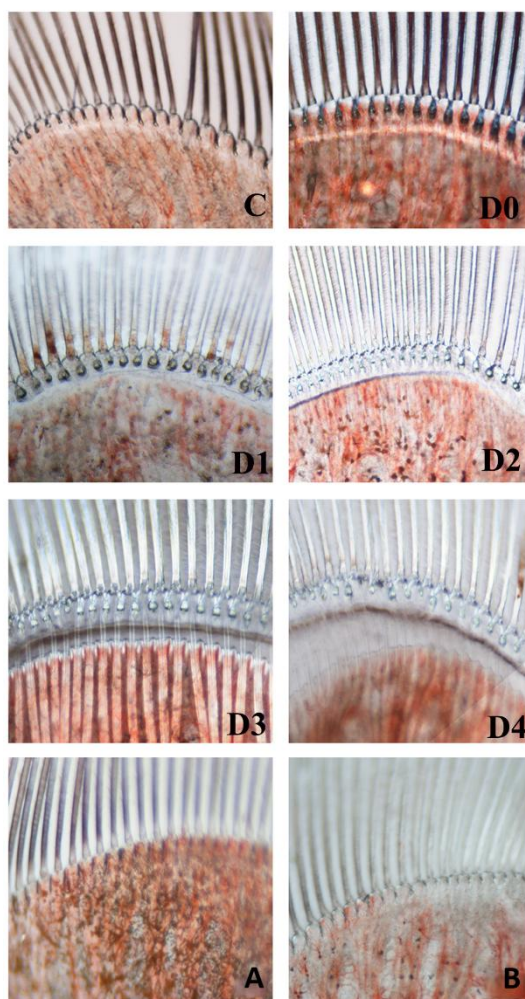


Figure 2: Modifications morphologiques des uropodes de *Penaeus vannamei* au cours des stades de mue, observées au microscope optique (grossissement  $\times 400$ ). Les caractéristiques morphologiques observées sont :

(1) **Stade intermue (C)** : matrices sétigères matures et épiderme entièrement étalé.

(2) **Stade prémue (D)** :

- **D0** : marge nette de l'épiderme à la base des cônes sétaux
  - **D1** : fine zone claire entre les cônes sétaux et l'épiderme
  - **D2** : zone claire élargie avec bord ondulé de l'épiderme
  - **D3** : zone claire plus large, bord très ondulé et fine couche blanche à la périphérie de l'épiderme
  - **D4** : zone claire bien marquée, bords dentelés, couche blanche réfléchissante et bandes parallèles dans l'épiderme.
- (3) **Stade postmue (P)** :

- **A** : soies molles et délicates, absence de cônes sétaux
- **B** : apparition de jeunes cônes sétaux

(source : (Gao et al., 2015))

En tant qu'exosquelette, la cuticule des arthropodes, et donc des crustacés, assure le soutien, la rigidité et l'imperméabilité du revêtement externe de l'organisme (Rocha et al., 2012). Elle est constituée de 2 couches subdivisées en sous-couches : l'épicuticule, fine couche complexe et imperméabilisante et la procuticule fibreuse (fibres chitino-protéiques), elle-même subdivisée en exocuticule et en endocuticule. La partie la plus interne de cette dernière est appelée la couche membraneuse (Compère et al., 2004; Luquet & Marin, 2004). A l'exception de la couche membraneuse, toutes les autres couches de la cuticule sont minéralisées.

La couche la plus externe, l'épicuticule est la plus mince, quelques microns seulement. Elle est déposée au début du stade de prémue. Il s'agit d'une couche multilaminaire, composée essentiellement de lipoprotéines tannées, dont la partie interne peut être imprégnée de sels de calcium. Cette dernière est traversée par de minces canalicules verticaux perpendiculaires à la surface.

Juste en-dessous, la procuticule est formée de lits de fibres chitinoprotéiques horizontales (parallèles à l'épiderme et entre elles dans chaque lit) organisées en un contre-plaqué hélicoïdal qui lui donne une apparence lamellaire. Chaque lamelle correspond à une rotation de l'orientation des fibres de  $180^\circ$  dans le plan horizontal.

L'exocuticule se distingue par sa mise en place durant le proecdysis et par la présence de mucopolysaccharides acides impliqués dans la minéralisation. L'exocuticule est



mécaniquement renforcée par un tannage quininique ou une sclérotisation, ainsi que par le dépôt de carbonate de calcium/magnésium sous forme de calcite ou amorphe. Une proportion de phosphate est également souvent observée.

La dernière des couches minéralisées, l'endocuticule est la plus épaisse et souvent la plus calcifiée chez les décapodes benthiques. Elle se forme durant le stade de postmue et est complétée en intermue, lorsque la couche membraneuse devient bien distincte. Celle-ci est une couche non minéralisée, formée en fin de postmue. Elle reste en contact avec l'épiderme durant toute l'intermue (Travis, 1963; Roer & Dillaman, 1984; Compère et al., 2004).

La cuticule est donc une matrice organique minéralisée contenant différents sels de calcium et de magnésium dont les principaux sont le carbonate de calcium ( $\text{Ca/MgCO}_3$ ) et le phosphate de calcium (sous forme d'apatite,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{Cl}, \text{F})$  ou  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}, \text{Cl}, \text{F})_2$ ).

Lors de la prémue, une partie des constituants organiques et minéraux est activement récupérée de l'ancienne cuticule par une action enzymatique (chitinase et protéase) à pH acide (5.0). Une fois libérés, les sels minéraux et nutriments vont être réabsorbés par l'épiderme, et certains sont transportés dans l'hémolymph afin d'être réutilisés dans la synthèse de la nouvelle cuticule. Chez *P. vannamei*, c'est l'hémolymph qui sert de réservoir principal pour les minéraux et certains nutriments (acides aminés, caroténoïdes). Pour améliorer la récupération de ces éléments, l'ancienne cuticule est ensuite mangée par les crevettes, à l'exception de la partie la plus coriace, la « carapace » (partie dorsale et rigide de l'exosquelette recouvrant le céphalothorax) (Compère et al., 2004; Truong et al., 2023).

#### 1.4.2. Influence de la salinité sur la croissance

De nombreuses études ont tenté de déterminer la salinité idéale pour l'élevage de la crevette à pattes blanches (*P. vannamei*) ainsi que les conséquences d'une diminution de la salinité sur sa croissance et sa santé, mais les résultats restent variables. Certaines études ont permis d'observer une diminution des performances de croissance lorsque la salinité est basse et d'autres ne relèvent aucune différence significative.

Ainsi en 2020, Khanjani et al., ont observé une amélioration de la croissance lorsque la salinité est plus élevée en comparant des individus élevés dans des eaux à 32 et à 10 g/L (Khanjani et al., 2020). Cependant, la salinité la plus haute n'est pas toujours celle apportant les meilleurs résultats. Dans une étude publiée en 2007, Li et Chen, ont étudié les performances de croissance de juvéniles de *P. vannamei* à 3, 17 et 32 g/L. Ils n'ont pas observé de différences significatives entre 3 et 32 g/L, en revanche le gain de poids des individus à 17 g/L était significativement supérieur à celui observé à 3 g/L. Selon les auteurs, les performances de croissance plus faibles à basse salinité pourraient s'expliquer par une dépense d'énergie accrue pour l'osmorégulation. Ils ont également observé un taux de survie plus bas à 3 ppt comparé aux salinités plus élevées. (Li et al., 2007). Par contre, des résultats différents ont été observés par Esparza-Leal et al (2019) qui ont comparé les performances de croissances de *P. vannamei* à des salinités de 1, 10, 15, 25 et 35 g/L sans observer de différences significatives.

Il est à noter que la capacité des crevettes à tolérer une faible salinité est dépendante du stade de vie et de la taille des individus étudiés. Ainsi, Laramore et al. (2001) ont étudié l'effet d'une

salinité faible sur la croissance et la survie de post-larves et de juvéniles de *P. v annamensis*. Les salinités testées étaient de 0.5, 1, 1.5, 2 ou 3 g/L. En dessous de 2 g/L, la survie s'est révélée impossible aussi bien pour les post-larves que pour les juvéniles. A 2 g/L, les juvéniles avaient un taux de survie de 100% alors que le taux de survie des post-larves n'était que de 20%, les capacités osmorégulatrices dépendant du stade de développement. Dans une autre étude, McGraw et al. (2002) ont étudié l'influence de l'âge des post-larves, comparant des PL de 10, 15 et 20 jours à divers degrés de salinité. Ils ont observé qu'en-dessous de 4 g/L, la survie des PL10 était significativement moins importante que celle des PL plus âgées, confirmant ainsi l'effet de la taille sur la tolérance à la salinité.

#### 1.4.2. Importance de la composition ionique de l'eau

La salinité de l'eau est la concentration totale en sels dissous dans l'eau. Elle est souvent déterminée par le chlorure de sodium qui représente le plus haut pourcentage des sels dissous. Cependant, les autres composants ioniques de l'eau de mer et leur impact sur les organismes aquatiques ne sont pas négligeables (Galkanda-Arachchige et al., 2021).

Les ratios ioniques de l'eau de mer ne sont pas les mêmes que ceux retrouvés dans l'eau des puits utilisés dans les élevages, ce qui peut entraîner un ralentissement de la croissance et une augmentation de la mortalité (Roy et al., 2010). Dans le cas de *P. vannamei*, il est important de surveiller la composition ionique pour le potassium ( $K^+$ ), le magnésium ( $Mg^{2+}$ ), le Calcium ( $Ca^{2+}$ ) et le sodium ( $Na^+$ ) ainsi que pour les chlorures ( $Cl^-$ ) et sulfates ( $SO_4^{2-}$ ) (Suguna, 2020; Galkanda-Arachchige et al., 2021).

Le calcium et le magnésium jouent un rôle essentiel lors de la mue et de la formation du nouvel exosquelette. De plus, les rapports entre les différents ions principaux (Na : K et Mg : Ca) interviennent dans divers processus physiologiques (Suguna, 2020). Il a été montré que le développement des organismes est meilleur lorsque l'eau d'élevage présente des ratios similaires à ceux de l'eau de mer, comparé aux conditions où ces ratios s'en écartent. Cela souligne l'importance de la proportion relative des ions pour la croissance des crevettes (Valenzuela Madrigal et al., 2019).

En cas de déséquilibre ionique dans l'eau d'élevage, la santé des crevettes est affectée menant à des symptômes visibles tels que le blanchiment de la queue, des crampes ou la mortalité (Suguna, 2020). Dans les élevages utilisant de l'eau de puits, il est parfois nécessaire d'ajuster les ratios ioniques pour se rapprocher de ceux de l'eau marine, en apportant artificiellement les minéraux manquants, soit dans l'eau directement, soit par l'alimentation. Les concentrations exactes nécessaires sont difficiles à quantifier et varient en fonction de la salinité souhaitée, mais il a été établi que l'idéal est d'obtenir des ratios ioniques se rapprochant aux maximum de ceux retrouvés dans l'eau de mer diluée à la même salinité que celle de l'élevage (Boyd, 2018; Suguna, 2020). Les ratios à maintenir pour assurer la survie et le développement des crevettes seraient donc 28 : 1 pour Na : K, 3.4 : 1 pour Mg : Ca et 1 : 1 pour Ca : K (Suguna, 2020).

### 1.4.3. Ions principaux et rôles dans la physiologie de *P. vannamei*

#### *Magnésium*

Le magnésium est un cofacteur de l'enzyme  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase impliquée dans les mécanismes d'osmorégulation de *P. vannamei*, mais aussi un élément important pour la minéralisation de la carapace, partie de l'exosquelette protégeant le céphalothorax (Galkanda-Arachchige et al., 2021). Les crevettes peuvent absorber le magnésium par les branchies, mais aussi par ingestion et absorption intestinale (K.-M. Cheng et al., 2005). Il a été établi que la régulation du magnésium dans l'organisme est assurée par la glande antennaire, mais les mécanismes permettant son inclusion dans l'exosquelette ne sont pas encore connus (Clayton, 2024). Galkanda-Arachchige et al. (2021) ont étudié l'effet de la concentration en  $\text{Mg}^{2+}$  dans une eau à faible salinité sur la croissance de *P. vannamei*. Leurs résultats montrent une diminution des performances de croissance des crevettes lorsque la concentration en magnésium est inférieure ou égale à 55 mg/L.

#### *Calcium*

Le calcium est un élément essentiel pour les crevettes, dont le rôle principal est la calcification et la solidification de la cuticule. Il intervient également dans la coagulation du sang, la contraction musculaire, la transmission nerveuse et l'osmorégulation, et agit comme un cofacteur enzymatique dans divers processus physiologiques (Hou et al., 2012). De plus, il participe au maintien de l'homéostasie. Les besoins en calcium sont couverts par trois sources : l'environnement externe, l'ancienne cuticule rejetée lors de la mue et reconstituée par la crevette et l'alimentation. Le calcium environnemental est absorbé par les branchies, puis transféré à l'épiderme cuticulaire ou stocké dans l'hémolymph, l'hépatopancréas ou d'autres tissus. La régulation du calcium (absorption, transport, stockage) et sa distribution dans certains tissus sont liées aux cycles de mue et varient selon le stade (S.-Y. Cheng & Li, 2012).

#### *Potassium*

Le potassium est le principal cation intracellulaire chez les animaux et possède de nombreux rôles. Il contribue à la régulation ionique, à l'équilibre acido-basique et au métabolisme de base. C'est aussi un facteur clé de l'osmorégulation, jouant un rôle déterminant dans l'adaptation des crevettes à un environnement hyposalin (Liu et al., 2014). Il intervient également lors du processus de la postmue et influence le taux de survie des crevettes à pattes blanches du Pacifique (Supono et al., 2023).

#### *Sodium*

Le sodium intervient dans les mécanismes d'osmorégulation des crevettes. Il joue un rôle essentiel dans l'échange d'ions avec l'environnement comme l'ont démontré Huong et al. (2010). Dans une étude concernant la capacité d'osmorégulation de *P. vannamei*, ils ont mesuré la concentration en ions sodium dans l'hémolymph des crevettes après une baisse importante de la salinité sans période d'acclimatation. Lorsque la salinité était de 0,5g/L ou 1 g/L, la concentration en  $\text{Na}^+$  dans l'hémolymph a diminué drastiquement, ce qui a entraîné la perte des capacités de régulation ionique des organismes et provoqué une mortalité.



#### 1.4.4. Impact de la salinité sur la résistance aux stress et aux maladies

La possibilité d'élever *P. vannamei* à une salinité inférieure à l'idéal pour l'espèce (situé aux alentours de 20 g/L) a été démontrée par de nombreuses études. Cependant, bien que les crevettes soient capables de survivre, des conditions de salinité sous-optimales ne sont pas sans conséquences. Plusieurs études se sont penchées sur la corrélation entre le stress osmotique causé par une faible salinité et la résistance au stress et aux maladies.

Dans leur étude sur l'impact de la salinité, Li et al. (2007) ont analysé l'effet de ce paramètre sur la survie des crevettes pénéides exposées à un stress environnemental. Ce stress était représenté par l'ammoniac, un facteur qui peut s'avérer toxique pour les organismes aquatiques lorsqu'il est présent en concentrations trop élevées. L'étude a montré une diminution du taux de survie dans les aquariums avec une salinité à 3 g/L. Li et al. émettent alors l'hypothèse qu'une faible salinité rendrait les crevettes plus vulnérables à d'autres facteurs de stress.

La salinité influence également la composition de la communauté microbienne de l'eau. Or, certaines espèces microbiennes peuvent être néfastes pour le bien-être de la crevette à pattes blanches. Une étude de Bauer et al. (2021) a comparé les communautés des bactéries du genre *Vibrio* présentes dans un élevage de *P. vannamei* à 15 g/L et à 30 g/L. Ils ont découvert un nombre d'espèces de *Vibrio* potentiellement pathogènes pour *P. vannamei* (*V. parahaemolyticus*, *V. owensii* et *V. campbellii*) plus important à 15 g/L qu'à 30 g/L. Selon eux, réduire la salinité pourrait donc accroître le risque d'épidémie dans les élevages et entraîner des conséquences dramatiques pour les consommateurs.

### 1.5. Objectifs de l'étude

L'objectif général de cette étude est d'évaluer la possibilité d'élever des crevettes à pattes blanches (*P. vannamei*) à de faibles salinités, tout en maintenant un taux de survie et de croissance satisfaisant, ainsi qu'un développement optimal de la cuticule. Dans ce cadre, la question scientifique posée est la suivante : la salinité influence-t-elle la croissance et la qualité de la cuticule des crevettes ?

Pour y répondre, des juvéniles de *P. vannamei* ont été élevés sous trois conditions de salinité différentes (5g/L, 10g/L, 20g/L). Les paramètres de croissance ont été mesurés, et les paramètres physico-chimiques de l'eau suivis afin de détecter d'éventuelles différences de qualité de l'eau entre les traitements. Enfin, des analyses de l'exosquelette ont été réalisées afin de déterminer si la salinité influe sur la composition et la structure de la cuticule, élément essentiel à la croissance, à la protection et à la survie des crevettes.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Description générale de l'espèce étudiée

#### 2.1.1. Taxonomie et morphologie de l'espèce

*Penaeus vannamei*, aussi appelée crevette à pattes blanches du Pacifique, est un crustacé de l'ordre des décapodes appartenant à la famille des Pénéides. Sa classification taxonomique est la suivante (Dugassa & Gaetan, 2018; WoRMS - *World Register of Marine Species* - *Penaeus Vannamei* Boone, 1931, n.d.) :

- Domaine : Eukaryota
- Royaume : Animalia
- Phylum : Arthropoda
- Sous-phylum : Crustacea
- Classe : Malacostraca
- Ordre : Decapoda
- Sous-ordre : Dendrobranchiata
- Famille : Penaeidae
- Genre : *Penaeus*
- Espèce : *Penaeus vannamei*

La crevette à pattes blanches possède une coloration blanche translucide, qui peut cependant changer en fonction du substrat, de l'alimentation et de la turbidité de l'eau. Elle peut atteindre jusqu'à 23 cm de long. Son rostre est de taille moyenne et compte entre 7 et 10 dents dorsales ainsi que 2 à 4 dents ventrales (Briggs, 2009).

Comme les autres crevettes pénéides, son corps est constitué de 19 paires de segments, séparant le corps en différentes parties. D'abord, le céphalon (5 paires de segments) qui est fusionné avec le thorax (8 paires de segments) pour former le céphalothorax (péréon). L'exosquelette du céphalothorax permet de couvrir et protéger les branchies. Ensuite, vient l'abdomen (pléon) constitué de six paires de segments. Les pléopodes se trouvent sur les 5 premières paires de segments abdominaux, la dernière paire formant l'éventail caudal. Ce dernier constitué de deux paires d'uropodes et du telson permet à la crevette de se propulser rapidement en arrière en cas de danger (Dugassa & Gaetan, 2018).

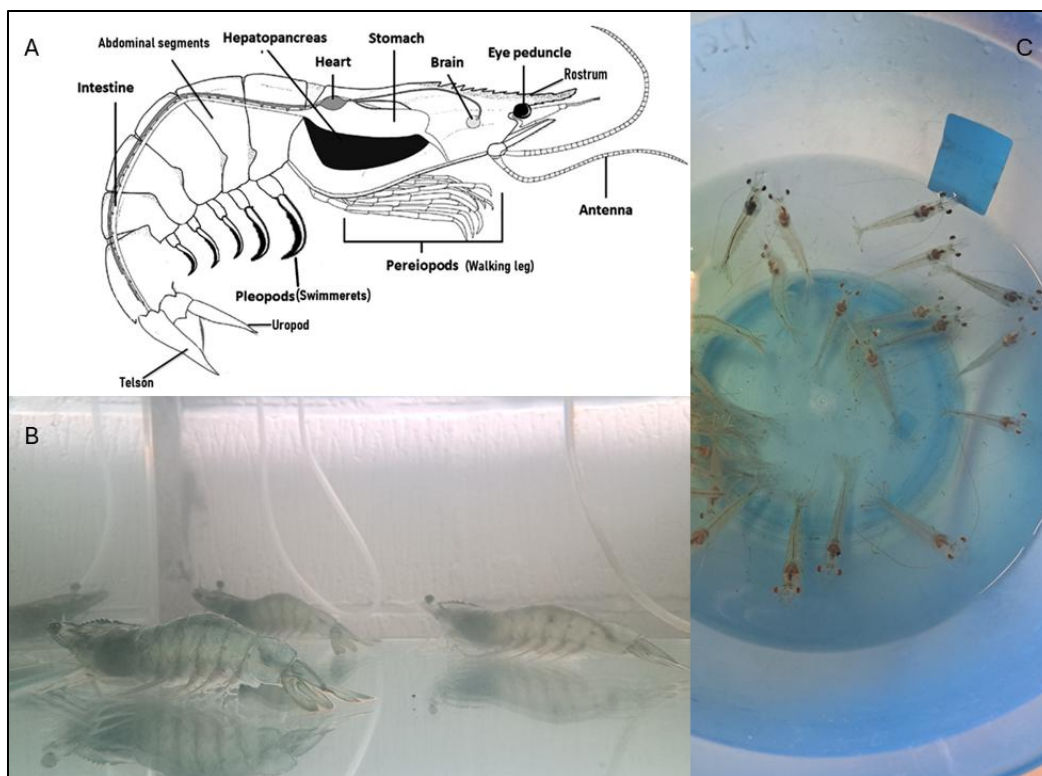


Figure 3 : Morphologie de *P. vannamei* : schéma annoté illustrant la morphologie et anatomie externe de *P. vannamei* (Mogalekar et al., 2025) (A), ainsi que des photos de *P.vannamei* adultes (B) et juvéniles (C) (photo : Joly E.).

### 2.1.2. Ecologie et cycle de vie

La crevette à pattes blanches du Pacifique est originaire de la côte tropicale occidentale de l'Amérique latine. On la retrouve du sud du Mexique jusqu'au nord du Pérou, entre les latitudes 32°N et 23°S (Liao & Chien, 2011). Cette espèce apprécie les zones dans lesquelles la température de l'eau reste supérieure à 25°C toute l'année (Dugassa & Gaetan, 2018), en eau marine ou saumâtre selon son stade de vie (Briggs, 2009).

Au cours de son cycle de vie, la crevette passe par différents stades larvaires (6 stades nauplius, 3 stades protozoëa et 3 stades mysis) avant d'évoluer en post-larves (Kitani, 1986), puis en juvéniles, subadultes et adultes. La crevette à pattes blanches est un organisme benthique durant la majeure partie de son cycle, à l'exception des premiers stades larvaires, qui sont planctoniques. La ponte a lieu en mer où les œufs sont relâchés dans la colonne d'eau (Clayton, 2024). Après l'éclosion des œufs, les larves nauplii se développent en mer jusqu'au stade de post-larves avant de migrer vers les estuaires côtiers, les mangroves et les zones lagunaires pour poursuivre leur maturation. Une fois adultes, elles rejoignent la mer pour la reproduction (Briggs, 2009a; Dugassa & Gaetan, 2018).

Au cours de leur cycle de vie, les crevettes adoptent différents régimes alimentaires. Au stade nauplii, les larves sont entièrement dépendantes de leurs réserves vitellines. Elles deviennent ensuite planctophages, se nourrissant d'abord de phytoplancton, puis de zooplancton. A partir du stade post-larves, lorsqu'elles adoptent un mode de vie benthique le long des côtes, elles changent de régime et deviennent détritivores et carnivores : elles consomment des débris benthiques, des vers, des bivalves et des crustacés présents sur le fond marin (Briggs, 2009b; Iba et al., 2014).

## 2.2. Design expérimental

### 2.2.1 Matériel biologique

Les juvéniles de *Penaeus vannamei* sont obtenus auprès de CreveTec. Lors de leur arrivée le 31 mars 2025, les crevettes sont anesthésiées à l'eugénol, puis triées selon leur taille. Elles sont ensuite réparties dans les 10 aquariums expérimentaux, d'une capacité de 50L, maintenus à une salinité de 20 g/L. Les aquariums font partie d'un circuit en recirculation et la densité de population est de 35 crevettes par aquarium. Les crevettes sont nourries avec l'aliment MeM (BernAqua) de manière régulière entre 8h et 20h (Tableau 1). La taille des pellets est augmentée en accord avec la croissance estimée des crevettes au cours de l'expérience : d'abord des pellets de 300 à 500 µm, ensuite 500 à 800 µm et enfin 800 à 1200 µm.

A la suite d'une suspicion de la présence de *Vibrio sp.* (blanchiment de l'abdomen et mortalité), des probiotiques (Bactosafe H, ADM) sont apportés quotidiennement pour aider au renforcement de l'immunité des crevettes. Ces probiotiques contiennent les bactéries suivantes : *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus acidophilus* et *Saccharomyces cerevisiae*.

Les crevettes sont élevées sous une photopériode contrôlée de 13 heures de lumière et 11 heures d'obscurité.

Tableau 1: ration journalière optimale estimée en fonction de la croissance attendue

Semaine	Date	Poids individuel (g)	Longueur (mm)	Croissance journalière (g/j)	Quantité d'aliment par individu par jour (g/ind/j)	Granulométrie de l'aliment (mm)
0	14/04	1,26	62	0,08	0,12	0,8 – 1,2
1	21/04	1,81	70	0,09	0,14	0,8 – 1,2
2	28/04	2,46	78	0,11	0,17	0,8 – 1,2
3	05/05	3,24	85	0,13	0,19	2,00
4	12/05	4,15	93	0,15	0,22	2,00
5	19/05	5,19	100	0,17	0,25	2,00
6	26/05	6,37	107	0,19	0,28	2,00
7	02/06	7,70	114			

### 2.2.2. Système expérimental

Les 7 aquariums de 50L, remplis à 46,5 L (29 cm x 33 cm x 48,6 cm), sont chacun connectés à un biofiltre (X Pro 2000, SuperFish) (figure 4) afin de former 6 systèmes en recirculation indépendants les uns des autres. Les caractéristiques du biofiltre utilisé sont présentées en annexe 1. Chaque aquarium est également équipé d'un écumeur (EVO 501, Aqua Medic).

Les aquariums sont remplis avec de l'eau à 20g/L pendant une semaine d'acclimatation. Le sel utilisé est le DJM Finest Sea Salt. Ensuite, la salinité est progressivement diminuée de 20 g/L à

10 ou 5 g/L par ajout d'eau osmosée dans les aquariums expérimentaux entre le 8 et le 11 avril 2025. La salinité finale dans chaque aquarium est attribuée de manière aléatoire (Tableau 2). La phase de test a débuté le 14 avril et s'est terminée le 3 juin 2025.

Chaque jour, 5% du volume d'eau, soit environ à 3 litres par aquarium, est renouvelé. A partir du 19 mai, à la suite d'une forte diminution de la dureté dans certains aquariums, le taux de renouvellement est augmenté à 10%, soit, 6 litres par aquarium. De l'eau à 5 g/L et à 10 g/L est préparée par ajout de sel dans l'eau osmosée pour remplacer l'eau siphonnée.

Tableau 2: Répartition des différents traitements

Aquariums	Aq2	2q3	Aq5	Aq6	Aq7	Aq19	Aq20	Aq22	Aq23	Aq26
Salinités (g/L)	10	10	20	20	20	5	5	5	10	10

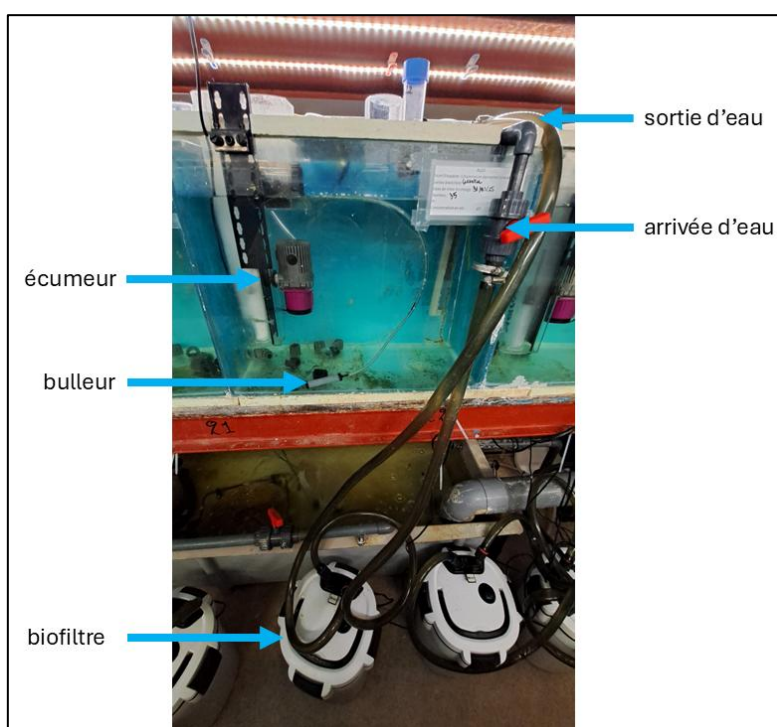


Figure 4 : système expérimental en recirculation (photo : Joly E.)

### 2.2.3. Aquariums contrôles

Trois aquariums contrôles de 50L alimentés en eau en circuit recirculé (Figure 5) sont maintenus à une salinité de 20 g/L. La densité de population dans ces aquariums est également de 35 crevettes par aquarium.

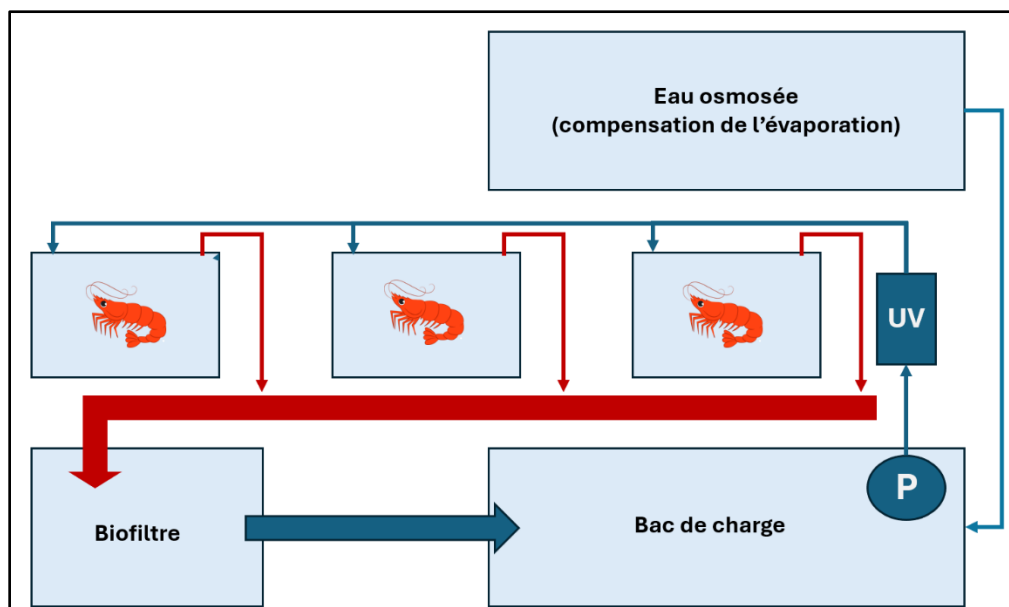


Figure 5 : Représentation schématique du système d'aquaculture en recirculation des aquariums contrôles : P=pompes, UV=lampes UV, flèche bleue = arrivée d'eau, flèche rouge = sortie d'eau.

## 2.3. Mesures et analyses de la qualité de l'eau

### 2.3.1. Suivi quotidien des paramètres physico-chimiques

Chaque jour, le taux d'oxygène et la température sont mesurés dans tous les aquariums à l'aide d'un oxymètre (Oxyguard Polaris C). Le pH est mesuré avec un pH mètre portable (pHep de Hanna instruments), la conductivité avec un multimètre (HQ30d flexi) et la salinité avec un réfractomètre.

Les différents paramètres sont ajustés si nécessaire pour rester dans les marges de valeurs présentées dans le tableau 4, correspondant aux conditions optimales pour *P. vannamei*.

Tableau 3: Températures, oxygène dissous et pH désirés lors de l'expérience pour l'élevage de *P. vannamei* à différentes salinités.

Paramètres physico-chimiques de l'eau	Valeurs visées durant l'expérience
Température	> 28°C
Taux en oxygène dissous	> 80%
pH	7 à 8

### 2.3.2. Mesures des paramètres chimiques

Les concentrations en ammoniacque et en nitrite sont mesurées trois fois par semaine afin de contrôler la qualité de l'eau. Au début de chaque semaine d'expérience, un échantillon d'eau est prélevé dans chaque aquarium expérimental, ainsi que dans le bac de charge du circuit recirculé contrôle, afin de procéder à l'analyse des paramètres chimiques suivants : la dureté, l'alcalinité totale, l'alcalinité P, ainsi que les concentrations en ammoniac, nitrite, nitrate, sulfates, phosphates, potassium, cuivre, fer et chlorures. Les analyses sont réalisées à l'aide d'un photomètre (MD 610, Lovibond).

### 2.4. Mesures de croissance des individus

Trois pêches contrôles sont effectuées au cours de l'expérience les 15 avril, 7 mai et 3 juin 2025, afin de suivre l'évolution du poids (g), de la taille (mm) et de la surface latérale (mm<sup>2</sup>) des individus dans les différents traitements. Cinq à six individus sont prélevés par aquariums et anesthésiés à l'eugénol 10% (1 mL d'eugénol 10% pour 1 L d'eau). Les crevettes sont ensuite pesées et prises en photo afin d'estimer ultérieurement leur taille et leur surface latérale à l'aide du logiciel ImageJ. Une fois la manipulation terminée, chaque crevette est placée dans un bac de réveil contenant de l'eau à la même salinité que son aquarium d'origine, puis relâchée dans ce dernier.

### 2.5. Analyses de la structure et de la minéralisation de la cuticule

#### 2.5.1. Prélèvement des échantillons

Lors de l'arrivée des post-larves provenant de chez CreveTec, 10 crevettes sont placées dans de l'éthanol 100% afin de réaliser ultérieurement des analyses de la structure et de la minéralisation de la cuticule à l'aide d'un microscope électronique à balayage.

Durant les semaines 3 et 7 de l'expérience, une crevette de chacun des 9 aquariums est pêchée, euthasiée et un prélèvement est effectué dans la cuticule au niveau du céphalothorax (dans la lame branchiostège) de chaque côté de l'organisme. Un échantillon du céphalothorax est fixé par immersion dans du glutaraldéhyde pour la microscopie électronique à transmission, et l'autre est conservé dans de l'éthanol à 100% pour la microscopie électronique à balayage.

#### 2.5.2. Microscopie électronique à balayage

Les lames branchiostèges prélevées sont fixées dans l'éthanol à 100% puis soumises à un traitement à l'acétone avant d'être incluses dans un moule rempli de résine époxy (Epofix resin kit, Struers Inc., Allemagne). Elles sont ensuite placées à l'étuve à 60°C pendant trois jours pour polymériser. Les échantillons obtenus sont coupés transversalement et les surfaces exposées sont polies à l'aide de papiers abrasifs en carbure de silicium (SiC) de grain décroissant (P80, P200, P1200 et P4000). Le polissage est affiné sur un velours à l'aide d'une suspension diamantée de 1 µm (MIC-1PS, ESCIL). Les échantillons sont ensuite montés à l'aide d'une colle à chaud sur un support en aluminium, pointés à la peinture à l'argent et métallisés au carbone.

Pour chaque date de prélèvement et chaque salinité, deux échantillons de lames branchiostèges sont sélectionnés et observés au moyen d'un microscope électronique à balayage à canon à émission de champ (FEG-SEM, TESCAN Clara, Brno, République tchèque) muni d'un détecteur d'électrons rétrodiffusés à 4 secteurs. Les électrons rétrodiffusés, dépendant du Z des éléments,



fournissent des images en contraste de Z. La méthode utilisée est l'imagerie de surface de blocs polis ou « blok-face imaging ».

Une analyse élémentaire aux rayons X est ensuite effectuée sur l'un des échantillons afin de vérifier la minéralisation de la cuticule. L'équipement est un détecteur SDD (« silicon-drift detector ») Bruker 129eV. Les spectres de rayons X et les cartographies élémentaires sont acquis avec le logiciel Quantax Esprit 2.1 (Bruker, Allemagne).

Les spectres sont enregistrés dans 4 zones de la cuticule, délimitées par des rectangles. Les analyses élémentaires semi-quantitatives issues de ces spectres sont corrigées à l'aide de la matrice ZAF sans standard. Ces données sont utilisées pour estimer les rapports C/P et C/Cl dans les différentes zones traitées. Etant donné la métallisation au carbone (C) et l'inclusion en résine organique, la quantité de C mesurée n'est pas représentative du C de la matrice organique de la cuticule. On considère toutefois, pour ces analyses, que l'épaisseur de la couche de C déposée est constante d'un échantillon à l'autre. Par ailleurs, le Cl présent dans la résine peut être utilisé comme référence, sa valeur dépendant de la quantité de résine ayant pénétré la cuticule.

### 2.5.3. Microscopie électronique à transmission

Les lames branchiostèges sont fixées dans du glutaraldéhyde 2,5% puis rincées dans un tampon cacodylate avant d'être décalcifiées dans de l'EDTA (0,2 mol/L, pH 8,0). Après une semaine, les échantillons sont rincés à l'eau milliQ, post-fixés dans du tétroxyde d'osmium (OsO<sub>4</sub>) à 1% dans l'eau pendant une heure, puis de nouveau rincés. Ils sont ensuite déshydratés par une série de bains d'éthanol (30%, 50%, 70%, 90%, 100%), imprégnés de résine époxy via l'époxypropane (2 fois 30 minutes), puis dans un mélange époxypropane/résine (1 :1, 2h30) avant d'être incorporés dans de la résine épon (Agar 100) qui est polymérisée à l'étuve à 60°C pendant trois jours.

Les coupes ultra-fines (80 nm) sont réalisées à l'aide d'un ultramicrotome Reichert (Ultracut E) muni d'un couteau de diamant, et contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Elles sont ensuite observées au microscope électronique à transmission (TEM-STEM Tecnai G2 Twin).

### 2.5.4. Microscopie optique

Des coupes semi-fines (1-2 µm) sont également réalisées à l'aide d'un couteau de diamant au départ des mêmes échantillons inclus en résine AGAR 100, colorées au bleu de toluidine (pH 9.0). Ces coupes sont observées au microscope optique (CX21, Olympus, Japon) et des images sont acquises avec le logiciel Motic Image Plus 3.0 à l'aide d'une caméra motic cam 10+.

## 2.6. Analyses statistiques et traitements des données

Les différentes analyses statistiques nécessaires à l'interprétation des résultats (ANOVA, modèles linéaires mixtes, calcul des moyennes) sont réalisées avec le logiciel R sous l'environnement RStudio ou avec Excel. Les graphiques sont générés de la même manière.

### 2.6.1. Paramètres physico-chimiques

Les moyennes et écarts-types sont calculés pour chacun des paramètres environnementaux. Afin de déceler d'éventuelles différences dans les paramètres physico-chimiques entre les différents aquariums et salinités, des tests ANOVA sont réalisés. Lorsque les critères de normalité



et d'homogénéité des variances ne sont pas respectés, des tests Kruskal-Wallis suivis de tests de Wilcoxon sont appliqués.

### 2.6.2. Taux de survie

Les taux de survie pour chaque aquarium sont calculés à partir des effectifs initiaux et finaux. Une ANOVA est ensuite réalisée pour déterminer d'éventuelles différences entre les groupes.

Afin d'étudier l'effet des différents paramètres environnementaux sur la mortalité, en particulier celui de la salinité, le taux de mortalité quotidien est calculé à partir du nombre d'individus vivants et morts par jour, après un ajustement permettant de tenir compte des décès potentiellement masqués par le cannibalisme des crevettes et d'assurer la cohérence entre les effectifs initiaux et finaux. Les données initiales utilisées pour ce calcul incluent, pour chaque aquarium, le nombre initial de crevettes lors de la mise en charge, le nombre de morts observés quotidiennement et le nombre final de survivants.

Les effets des paramètres environnementaux (température, taux en oxygène dissous, pH, salinité) sur la mortalité quotidienne sont ensuite évalués à l'aide d'un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) avec distribution binomiale, intégrant un effet aléatoire lié aux aquariums afin de prendre en compte les mesures répétées dans un même aquarium. Ce modèle est choisi car il est adapté à l'analyse de proportions issues de comptages. Les variables environnementales sont standardisées (centrées-réduites) au préalable pour faciliter l'interprétation et améliorer la convergence du modèle.

### 2.6.3. Croissance

Les moyennes et écarts-types des poids, longueurs et surfaces latérales sont calculés sous R. Le gain de poids est calculé selon la formule : gain de poids = poids final – poids initial.

La même formule est adaptée pour calculer le gain en longueur et en surface. Des modèles linéaires mixtes sont utilisés pour étudier l'effet de la salinité sur ces variables (annexe 2).

Le SGR (Specific Growth Rate) est calculé entre le premier jour (T0) et le dernier jour (T2) de l'expérience selon la formule :  $SGR = (\log(T2) - \log(T0)) / 49 * 100$ .

Une ANOVA est ensuite réalisée pour tester les différences entre groupes.

## 3. Résultats

### 3.1. Suivi quotidien des paramètres physico-chimiques

#### 3.1.1. Température

Dans les aquariums expérimentaux, la température minimale observée était de 28,4°C (aquarium 19) et la température maximale de 37,8°C (aquarium 5) (figure 6). La température moyenne des différents aquariums a varié entre 31,9°C et 32,7°C (tableau 5). La réalisation d'un test de Kruskal-Wallis suivie d'un test de Wilcoxon a montré une différence significative de température entre les aquariums à 20g/L (aquariums 5, 6 et 7) et ceux à 5g/L (aquariums 19,20 et 22), avec une *p-value* de 0,0073. Le graphique (figure 6) montre que la température était plus élevée dans les aquariums à haute salinité (20 g/L) pendant la majeure partie de l'expérience.

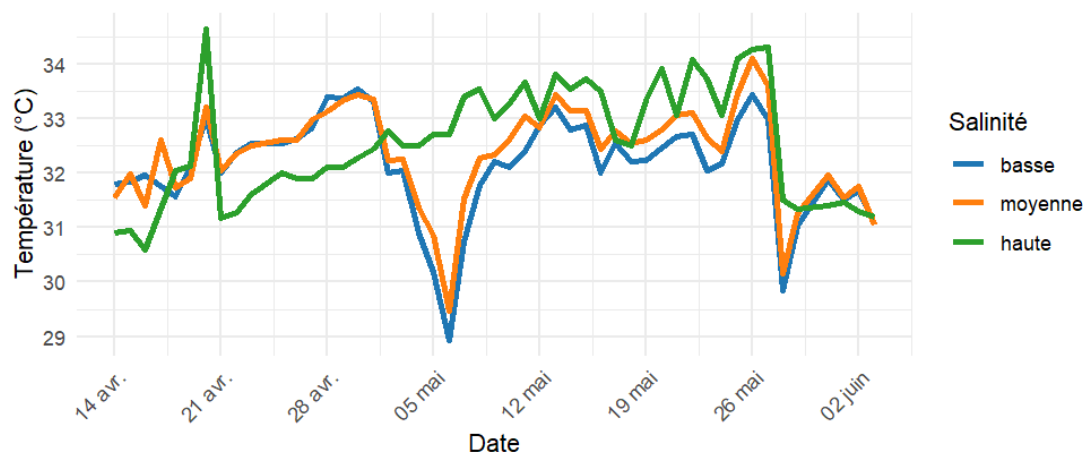


Figure 6 : Evolution de la température moyenne par salinité au cours du temps dans les aquariums de *P. vannamei* : basse = 5 g/L ; moyenne = 10 g/L ; haute = 20 g/L.

#### 3.1.2. Taux d'oxygène dissous

La valeur maximale mesurée pour le taux d'oxygène dissous était de 7,5 mg/L et la valeur minimale de 5,1 mg/L. Le taux d'oxygène dissous moyen, calculé sur l'ensemble des aquariums entre le 14 avril et le 3 juin, était de 6,3 mg/L (tableau 5). Les moyennes du taux d'oxygène dissous ont varié entre 6 mg/L et 6,8 mg/L. La réalisation d'un test de Kruskal-Wallis, suivie d'un test de Wilcoxon sur les données en regroupant les aquariums par classe de salinité, a montré que la concentration en oxygène dissous diffère significativement entre tous les niveaux de salinité avec une fluctuation importante (Figure 7).

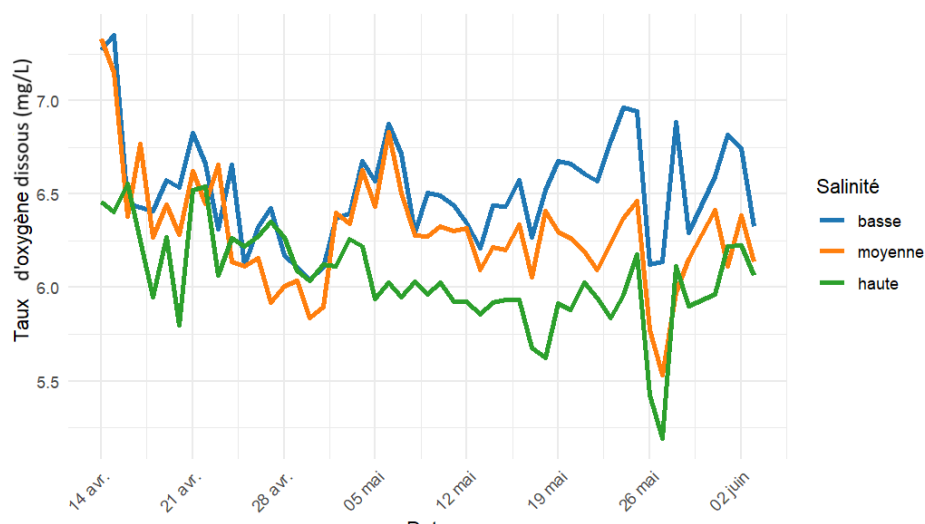


Figure 7 : Evolution du taux d'oxygène dissous moyen au cours du temps par salinité dans les aquariums de *P. vannamei* : basse = 5 g/L ; moyenne = 10 g/L ; haute = 20g/L.

### 3.1.3. pH

Le pH minimal mesuré lors des 7 semaines d'expérience a été de 6,9 et le pH maximal de 7,9. Le pH moyen total, calculé sur l'ensemble de l'expérience, était de 7,38 (tableau 5), restant ainsi dans la gamme de tolérance de l'espèce. Un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test de Wilcoxon a montré que le pH différait significativement entre toutes les classes de salinité.

### 3.1.4. Salinité et conductivité

La salinité moyenne réelle (Tableau 5) dans les différents aquariums montre peu de différence avec la salinité visée (Tableau 2), bien qu'il y ait parfois eu de légères fluctuations durant les semaines de tests.

La conductivité minimale observée était de 8,25 mS/cm et la maximale de 33,5 mS/cm avec une moyenne de 18,9 (Tableau 5). La relation entre la conductivité de l'eau et la salinité est illustrée dans la figure 8.

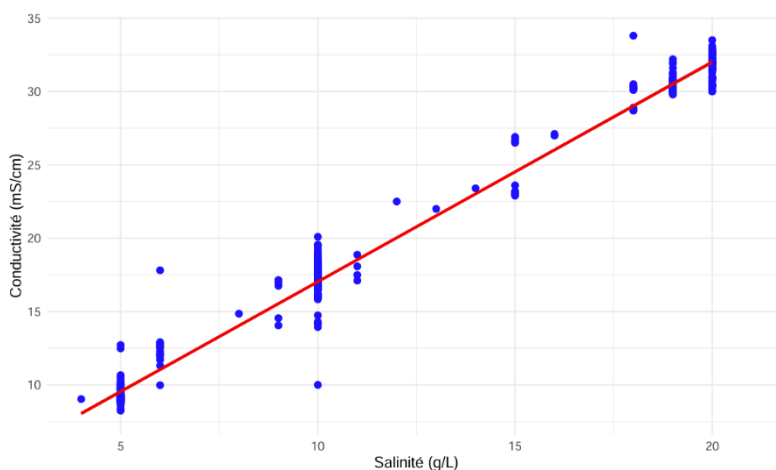


Figure 8 : Relation entre la salinité (g/L) et la conductivité de l'eau (mS/cm) sur base des données quotidiennes recueillies durant l'expérience pour l'ensemble des aquariums

Tableau 5 : Moyennes et écarts-types des principaux paramètres physico-chimiques pour chaque aquarium de *P.vannamei* durant l'expérience.

Aquarium	Salinité (g/L)	Température (°C)	O2 (mg/L)	pH	Conductivité (mS/cm)
Aq5	19,4 ± 1	32,7 ± 1,3	6,0 ± 0,3	7,5 ± 0,2	30,9 ± 1,3
Aq6	19,4 ± 1	32,7 ± 1,3	6,0 ± 0,3	7,5 ± 0,2	30,9 ± 1,3
Aq7	19,4 ± 1	32,7 ± 1,2	6,1 ± 0,3	7,5 ± 0,2	31,1 ± 1,6
Aq2	9,9 ± 0,4	32,5 ± 0,9	6,4 ± 0,4	7,4 ± 0,2	17,0 ± 0,2
Aq3	10,0 ± 0,2	32,5 ± 1,0	6,1 ± 0,4	7,2 ± 0,3	17,1 ± 1,2
Aq23	9,9 ± 0,3	32,4 ± 0,9	6,3 ± 0,3	7,1 ± 0,2	16,8 ± 0,5
Aq26	9,8 ± 0,9	31,9 ± 1,1	6,5 ± 0,4	7,3 ± 0,2	17,8 ± 0,4
Aq19	5,0 ± 0,2	31,9 ± 1,0	6,8 ± 0,3	7,5 ± 0,2	9,3 ± 0,3
Aq20	5,0 ± 0,3	32,2 ± 0,9	6,4 ± 0,4	7,3 ± 0,2	9,0 ± 0,3
Aq22	5,0 ± 0,1	32,4 ± 0,9	6,4 ± 0,3	7,3 ± 0,2	9,0 ± 0,3

## 3.2. Analyse de la qualité chimique

### 3.2.1. Ammoniaque, nitrite et nitrate

Les mesures des concentrations en ammoniac ( $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ ), en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) et en nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) ont permis de suivre la qualité de l'eau au cours de l'expérience. L'examen des graphiques (Figures 9, 10, et 11) montre une tendance générale à la diminution de la concentration en  $\text{NH}_4$  entre le début et la fin de l'expérience, bien que des pics soient parfois apparus. La concentration en nitrite est restée inférieure à 5 mg/L N- $\text{NO}_2$  dans la majorité des aquariums à l'exception de l'aquarium 26 (10 g/L), où la concentration en  $\text{NO}_2$  a atteint jusqu'à 25 mg/L de N- $\text{NO}_2$ . Ce fort pic en  $\text{NO}_2$  a malheureusement causé le décès des crevettes présentes dans cet aquarium.

Le taux de  $\text{NO}_3$  a augmenté durant les premières semaines de l'expérience, le  $\text{NO}_3$  provenant de la transformation de l'ammoniaque par les bactéries nitrifiantes du biofiltre. Ensuite, la concentration en  $\text{NO}_3$  s'est stabilisée, comme illustré sur le graphique. La valeur maximale pour la concentration en  $\text{NO}_3$  était de 90,5 mg/L N- $\text{NO}_3$ , tandis que celle pour la concentration en ammoniac était de 0,85 mg/L.

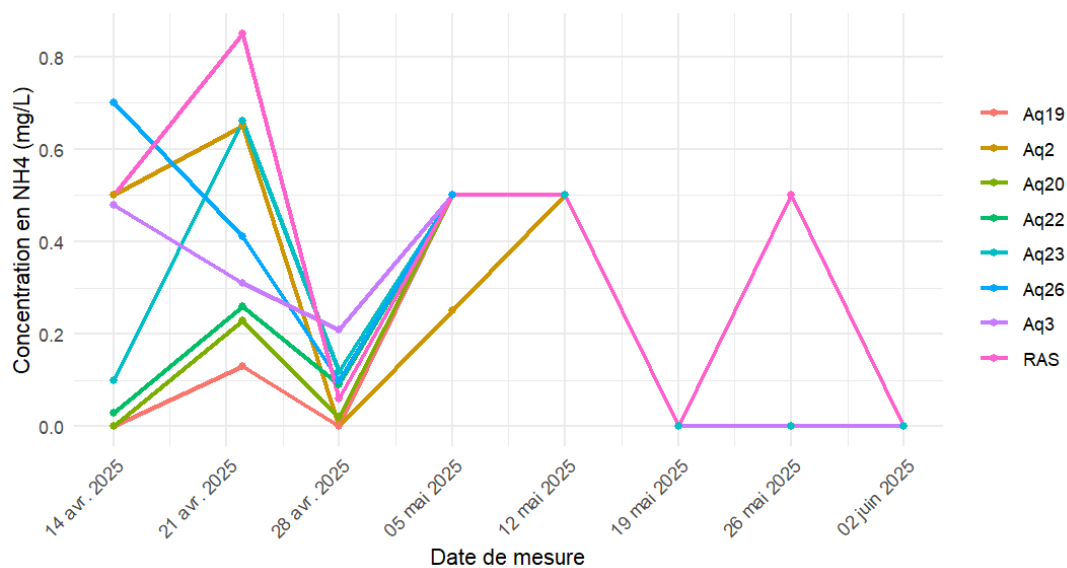


Figure 10 : Evolution de la concentration en ammoniac (mg/L N/NH<sub>4</sub>) au cours du temps dans les aquariums de *P. vannamei*. RAS= système d'aquaculture en recirculation à 20 g/L (aquariums contrôles = aquariums 5, 6 et 7). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20, Aq22 = 5 g/L.

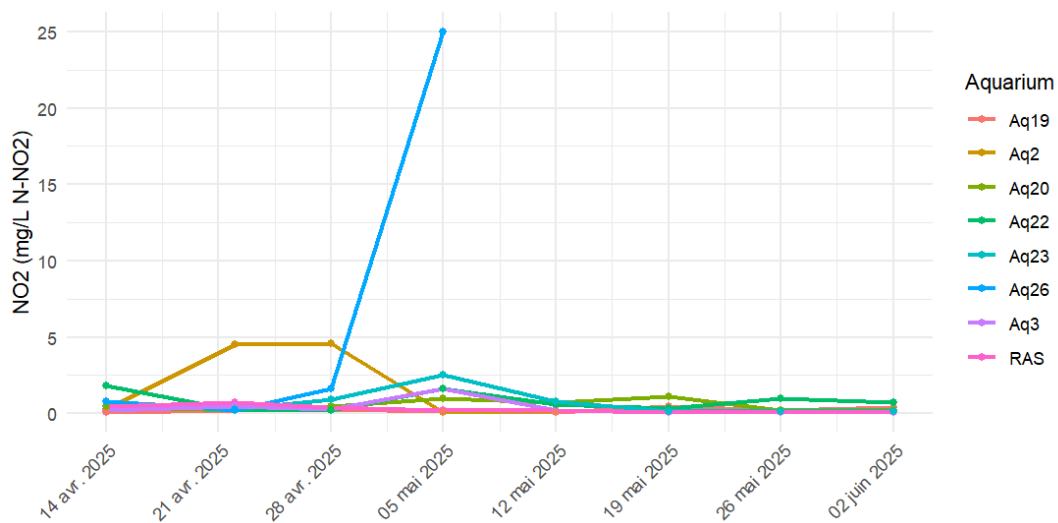


Figure 31 : Evolution de la concentration en nitrite (mg/L N-NO<sub>2</sub>) au cours du temps dans les aquariums de *P. vannamei*. RAS= système d'aquaculture en recirculation à 20 g/L (aquariums contrôles : aquariums 5, 6 et 7). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20 et Aq22 = 5 g/L.

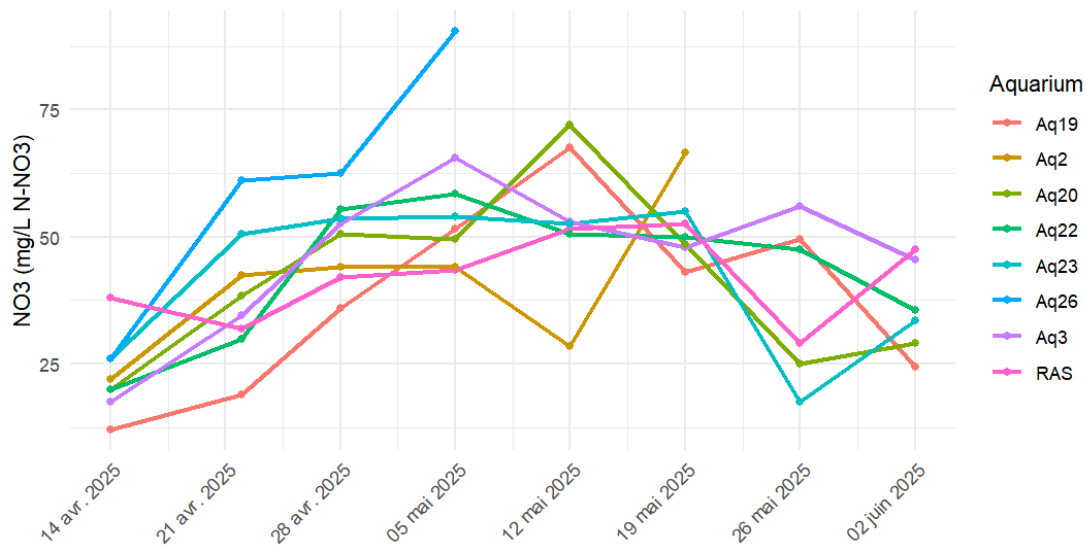


Figure 12 : Evolution de la concentration en nitrate (mg/L N-NO<sub>3</sub>) au cours du temps dans les aquariums de *P. vannamei*. RAS= système d'aquaculture en recirculation à 20 g/L (aquariums contrôles). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20, Aq22 = 5 g/L.

### 3.2.2. Dureté totale

À la suite de problèmes d'incohérence lors des tests sur le calcium, seule la dureté totale a pu être mesurée. Elle a varié entre 34 (Aq23) et 510 mg/L CaCO<sub>3</sub> (Aq 22) avec une moyenne de 258,2 mg/L CaCO<sub>3</sub>. Un test de Kruskal-Wallis a été réalisé pour comparer la dureté totale dans chaque aquarium au cours de l'expérience et n'a révélé aucune différence significative entre les aquariums ( $p = 0,09155$ ). Le même test, appliqué cette fois pour comparer la dureté entre les différentes salinités testées a donné un résultat similaire ( $p = 0.06854$ ). Il est cependant important de tenir compte de la différence dans le nombre de données, une seule mesure générale sur le système ayant été effectuée par semaine pour les aquariums contrôles (20 g/L). Cette différence pourrait conduire à une estimation biaisée. La distribution globale de la dureté totale pour chaque salinité est illustrée figure 13.

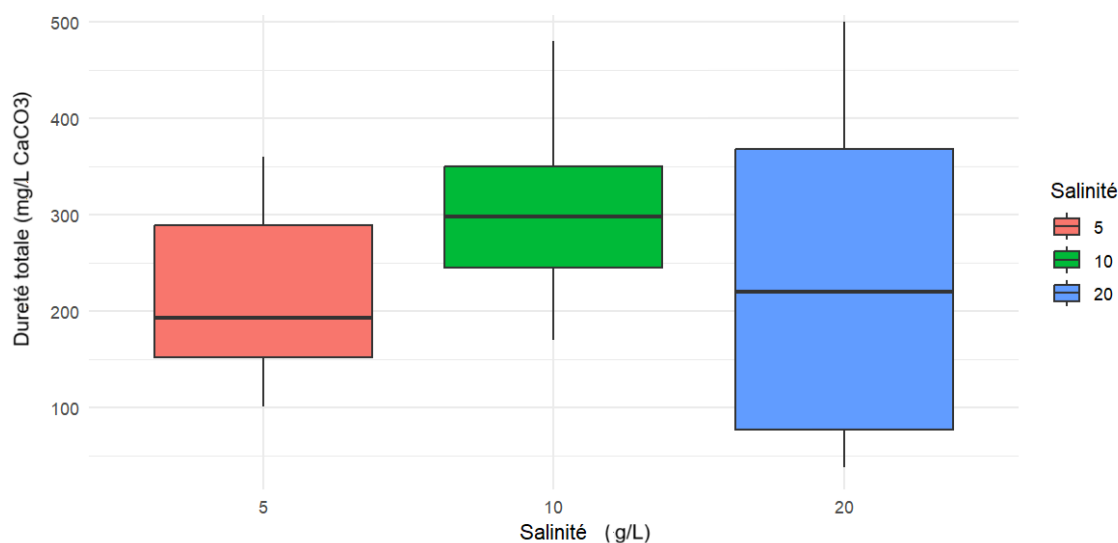


Figure 13 : Distribution globale de la dureté (mg/L CaCO<sub>3</sub>) sur l'ensemble de l'expérience par salinité (g/L) dans les aquariums de *P. vannamei*. RAS= système d'aquaculture en recirculation à 20 g/L (aquariums contrôles : aquariums 5, 6 et 7). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20, Aq22 = 5 g/L.

### 3.2.3. Concentration en sulfate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)

Les concentrations en sulfate ont varié entre 520 (Aq20) et 2750 mg/L SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (RAS) avec une moyenne de 943,7 mg/L. Un boxplot a été réalisé pour évaluer la variation de la concentration en sulfates dans les différents aquariums de l'expérience (Figure 14). Ce graphique met en évidence trois catégories de valeurs selon la salinité (5 g/L, 10 g/L et 20 g/L) : plus la salinité est élevée, plus la concentration en sulfate est forte. Cette observation a été confirmée par un test de Kruskal-Wallis (p-value = 5,72 x 10<sup>-11</sup>).

Un test post-hoc de Dunn a ensuite été réalisé afin d'identifier les différences entre les groupes de salinité. Les résultats confirment que la concentration en sulfate dépend de la salinité : 610 ± 46,8 mg/L SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pour 5 g/L (rouge), 961 ± 114 mg/L SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pour 10 g/L (bleu) et 1891 ± 362 mg/L SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pour 20 g/L (vert) (figure 14).

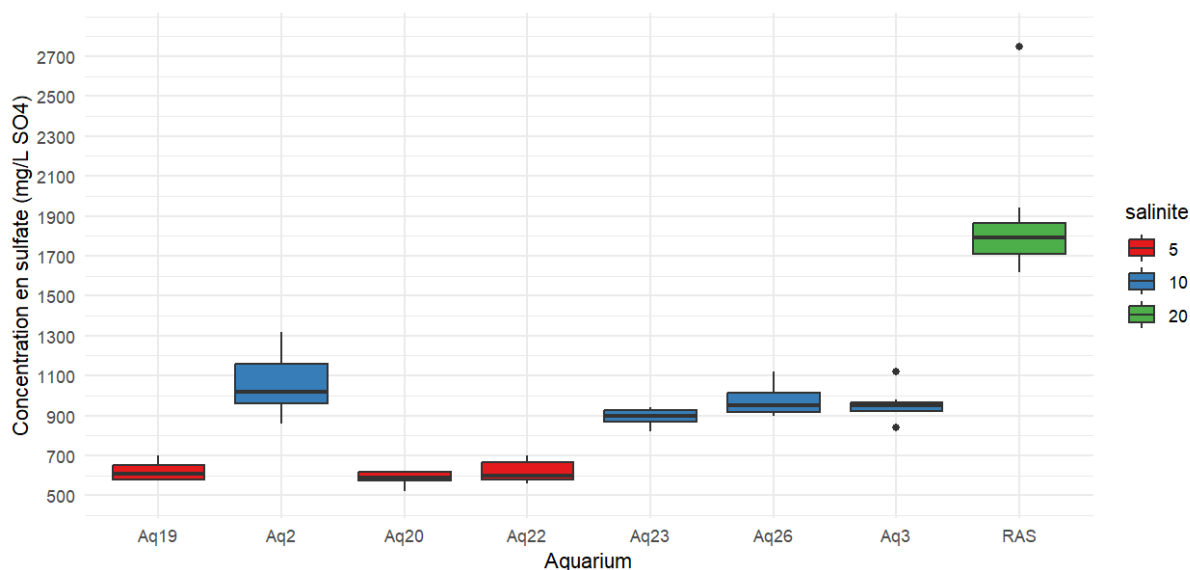


Figure 14 : Distribution de la concentration en sulfates ( $\text{mg/L SO}_4^{2-}$ ) par aquarium en fonction de la salinité ( $\text{mg/L}$ ). RAS= système d'aquaculture en recirculation à 20 g/L (aquariums contrôles : aquariums 5, 6 et 7). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20, Aq22 = 5 g/L.

### 3.2.4. Concentration en phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

La concentration en phosphate dans l'eau a varié sur l'ensemble des aquariums au cours de l'expérience avec un minimum de 0,4 et un maximum de 7,8  $\text{mg/L PO}_4^{3-}$  (Aq3) avec une moyenne de 3,4  $\text{mg/L PO}_4^{3-}$ . Une ANOVA a été réalisée sur l'ensemble des aquariums et n'a montré aucune différence significative entre les différentes conditions de salinité ( $p = 0,36$ ).

### 3.2.5. Alcalinité

L'alcalinité a montré des variations importantes durant les semaines d'expérience avec un minimum de 27  $\text{mg/L CaCO}_3$  (Aq22) et un maximum de 315  $\text{mg/L CaCO}_3$  (RAS) pour l'alcalinité-m. La valeur moyenne sur l'ensemble des aquariums était de 146,6  $\text{mg/L CaCO}_3$ . Une ANOVA a également été réalisée et n'a révélé aucune différence statistiquement significative entre les différents aquariums ( $p = 0,64$ ). L'ANOVA entre les différentes salinités confirme également l'absence de différences au niveau de l'alcalinité ( $p = 0,09$ ) lorsque les différents niveaux sont traités comme des facteurs.

La proportion des formes alcalines présentes a été calculée sur base des valeurs mesurées pour l'alcalinité-m et l'alcalinité-p, conformément au protocole du test (Tintometer Group, 2025, pp. 46–47, annexe 2). Dans le cadre de cette étude, l'alcalinité-m est restée supérieure à deux fois l'alcalinité-p pour toute la durée de l'expérience et aucune forme hydroxyde n'a donc été détectée. Les proportions moyennes par aquarium sur l'ensemble de l'expérience ont été calculées et sont illustrées dans la figure 15. La forme alcaline majoritaire pour l'ensemble des aquariums était le bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ).



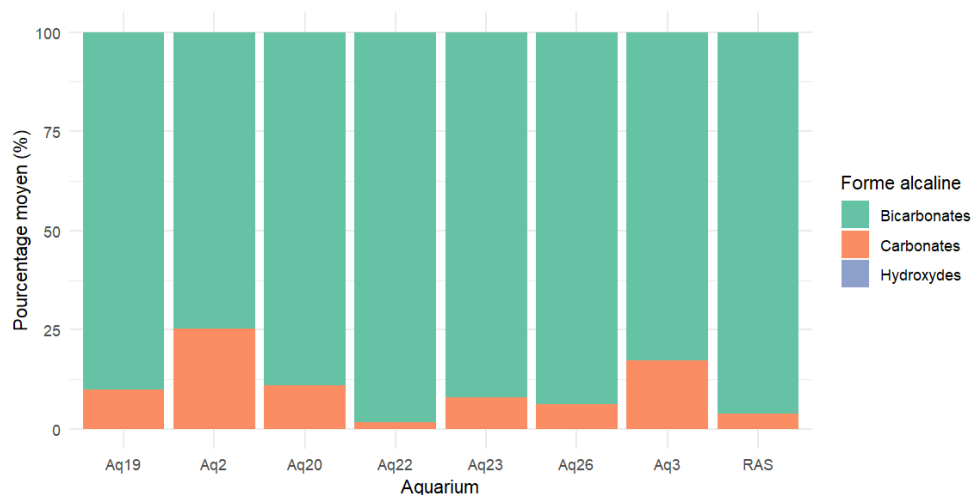


Figure 15 : Répartition moyenne des formes alcalines dans les différents aquariums. RAS = système d'aquaculture en recirculation à une salinité de 20g/L (aquariums contrôles : aquarium 5, 6 et 7). Aq2, Aq3, Aq23, Aq26 = 10 g/L. Aq19, Aq20, Aq22 = 5 g/L.

### 3.2.6. Potassium

La concentration en potassium ( $K^+$ ) a varié entre 60 mg/L  $K^+$  (Aq20) et 400 mg/L  $K^+$  (RAS) avec une moyenne de 147,2 mg/L  $K^+$ . Une augmentation de la concentration en potassium avec la salinité a été observée (Figure 16). Un test de Kruskal-Wallis ( $p = 1,206 \times 10^{-5}$ ), suivi d'un test post-hoc de Dunn, permettant confirmer que la concentration en potassium est significativement différentes entre chacune des trois salinités (figure 16) :  $112,8 \pm 5,3$  mg/L  $K^+$  à une salinité de 5 g/L,  $148,4 \pm 57,1$  mg/L  $K^+$  à 10 g/L et  $246,8 \pm 75,7$  mg/L à 20 g/L.

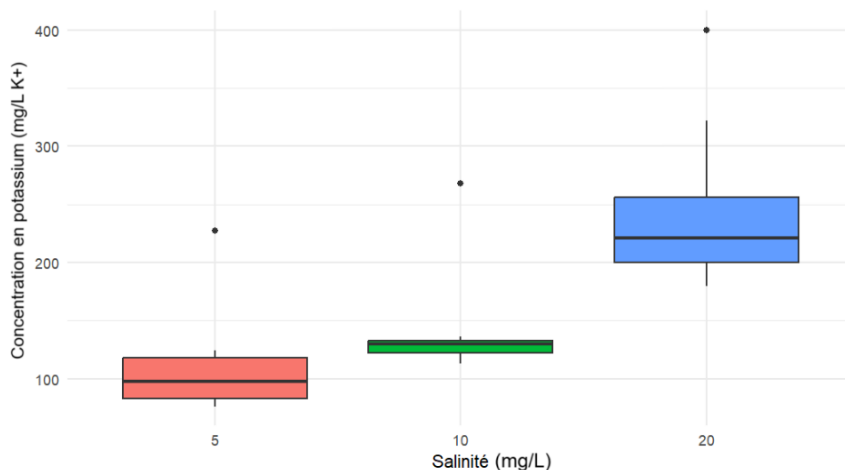


Figure 16 : Distribution de la concentration en potassium ( $K^+$ ) sur l'ensemble de l'expérience en fonction de la salinité. 20 g/L = RAS= système d'aquaculture en recirculation (aquariums contrôles : Aq5, Aq6, Aq7) 10 g/L = Aq2, Aq3, Aq23, Aq26. 5 g/L = Aq19, Aq20, Aq22.

### 3.2.7. Zinc, Fer cuivre

Les concentrations de zinc et de fer étaient trop faibles pour en détecter la présence par le photomètre, ces mesures ont donc été abandonnées. Le cuivre était présent en très faible

quantité, avec une concentration maximale de 2,36 mg/L et une concentration moyenne calculée sur l'ensemble des aquariums de 0,80 mg/L.

### 3.3. Effet de la salinité sur la survie

Les taux de survie sont répertoriés dans le tableau 6. L'ANOVA réalisée sur ceux-ci a permis d'identifier une différence significative entre les aquariums dont la salinité était de 20 g/L et ceux à 5 g/L, avec une p-value de 0,0405. Le taux de survie moyen était de 33,33 % pour les aquariums à 20 g/L et de 12,38% pour les ceux à 5 g/L.

Le modèle final retenu pour étudier l'effet des paramètres environnementaux utilisait la mortalité comme variable dépendante et incluait comme effets fixes la température, la salinité, le taux d'oxygène dissous et le pH, ainsi qu'un effet aléatoire liés aux aquariums afin de prendre en compte la structure répétée des données et d'éviter les pseudo-répliques. Parmi ces variables, seule la température a montré un effet statistiquement significatif ( $p = 0,0055$ ), avec un coefficient négatif (estimate = - 0,373), indiquant qu'une hausse de la température est associée à une baisse du taux de mortalité. La salinité présente une tendance semblable (estimate = - 0,214), suggérant qu'une salinité plus élevée pourrait réduire la mortalité, bien que cet effet ne soit pas significatif statistiquement ( $p = 0,072$ ). Le pH ( $p = 0,987$ ) et le taux d'oxygène dissous ( $p = 0,924$ ) n'ont montré aucun effet significatif sur la mortalité dans le cadre de cette étude.

Tableau 6 : Taux de survie par aquarium de *P. vannamei*. T0=arrivée dans les aquariums, Tf=fin de l'expérience.

Aquarium	Salinité	Nombre d'individus T0	Nombre d'individus Tf	Taux de survie (%)
7	20	35	8	22,9
6	20	35	16	45,7
5	20	35	11	31,4
3	10	35	8	22,9
23	10	35	7	20,0
19	5	35	4	11,4
20	5	35	5	14,3
22	5	35	4	11,4

### 3.4. Effet de la salinité sur la croissance

La croissance des crevettes a évolué de manière similaire dans les différentes conditions de salinité, aussi bien au niveau du poids (de  $1,5 \pm 0,7$  g à  $8,0 \pm 1,9$  g), que de la longueur (de  $63,7 \pm 10,1$  mm à  $111,0 \pm 9,2$  mm) et de l'aire de la face latérale des individus (de  $440,0 \pm 142$  mm<sup>2</sup> à  $1451,0 \pm 237$  mm<sup>2</sup>) (figures 17, 18 et 19).



Figure 17 : Box plot de l'évolution de la masse (g) des individus par salinité au cours du temps pour les aquariums de *P. vannamei*.

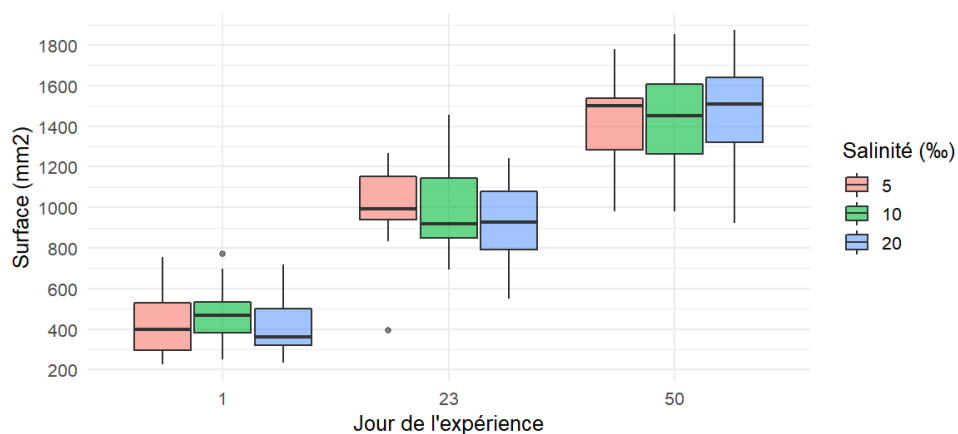


Figure 18 : Box plot de l'évolution de la surface latérale (mm²) des individus par classe de salinité au cours du temps pour les aquariums de *P. vannamei*.

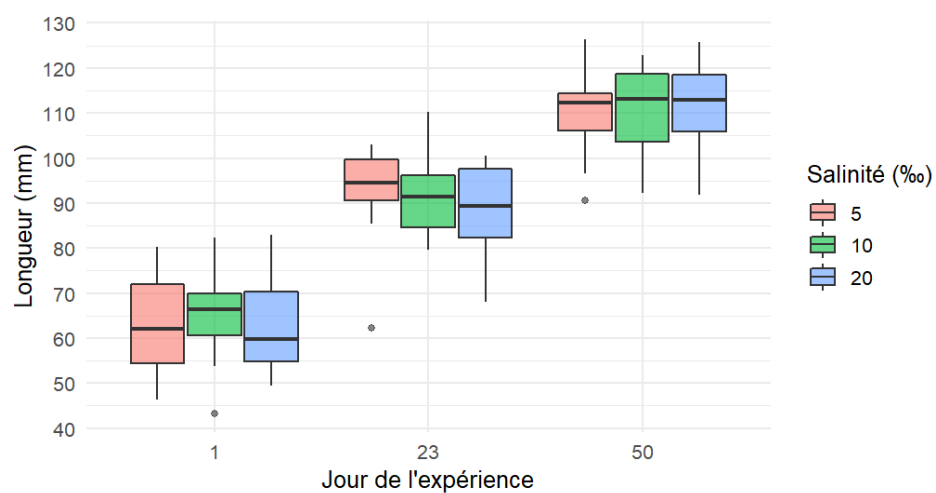


Figure 19 : Box plot de l'évolution de la longueur (mm) des individus par classe de salinité au cours du temps pour les aquariums de *P. vannamei*.

Un modèle linéaire mixte a été réalisé pour étudier l'effet de la salinité sur le poids à un moment donné, et un modèle linéaire simple a été adopté pour analyser l'effet de celle-ci sur le gain de poids, choisi pour illustrer la croissance. Les deux modèles ont donné des p-values supérieures à 0,05 ce qui semble donc indiquer que la salinité n'influence pas la croissance pondérale. Les mêmes types de modèles ont été appliqués aux données de longueur et de surface et ont conduit à la même conclusion. Ces modèles et leurs p-values sont présentés en annexe (annexe 2).

Le taux de croissance spécifique (SGR) a également été calculé pour chaque salinité avec en moyenne un SGR de 3,61 %/jour pour les aquariums à 5 g/L, de 3,29 %/jour pour ceux à 10 g/L de salinité et de 3,69 %/jour pour ceux à 20 g/L. Une ANOVA a été réalisée pour tester l'effet de la salinité, donnant une p-value de 0.712, ce qui confirme l'absence d'effet significatif de la salinité sur ce facteur.

### 3.5. Structure et minéralisation de la cuticule

#### 3.5.1 Structure générale de la cuticule

Les observations au microscope optique ainsi qu'aux microscopes électroniques à balayage (MEB) et à transmission (MET) ont permis de décrire l'organisation générale de la cuticule de la lame branchiostège chez *P. vannamei*. Aucune différence structurale n'a été observée entre les crevettes élevées à 20 g/L, 10g/L ou 5 g/L (figures 21 et 22). Pour toutes, 3 couches cuticulaires ont été identifiées, de la plus externe à la plus interne : l'épicuticule, l'exocuticule, l'endocuticule. L'endocuticule des crevettes en intermue (stade C4) est subdivisée en deux parties : une partie minéralisée et une partie ou couche membraneuse (figures 21 et 22). Chez les individus en mue, le nombre de couches cuticulaires présentes et leur épaisseur dépendaient du stade de mue. Au stade A à B, peu après l'ecdysis, l'endocuticule minéralisée était en début de formation et l'endocuticule membraneuse était absente (figure 20).

Les images obtenues en microscopie électronique à transmission (MET) et à balayage (MEB) ont permis d'observer, d'une part, la structure des différentes couches, et d'autre part, la distribution du minéral. En intermue, l'épicuticule apparaît comme une matrice compacte et uniforme d'environ 4,6  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (figure 22 C). En postecdysis, l'épicuticule présente une zone compacte supérieure et une zone inférieure plus épaisse parcourue par de fines lacunes verticales claires aux électrons et séparée par de minces cloisons. Les lacunes sont interprétées comme des zones vides après décalcification, potentiellement minéralisées. Les cloisons donnent à la zone inférieure un aspect fibreux (figure 20 C).

L'exocuticule et l'endocuticule présentent toutes deux une apparence lamellaire (figure 21 A et 21 B), plus marquée dans l'endocuticule. La transition entre l'endocuticule minéralisée et l'endocuticule membraneuse est visible par une diminution abrupte de l'épaisseur des lamelles qui se réduit encore à mesure que l'on se rapproche de l'épiderme (Figure 21 B-D).

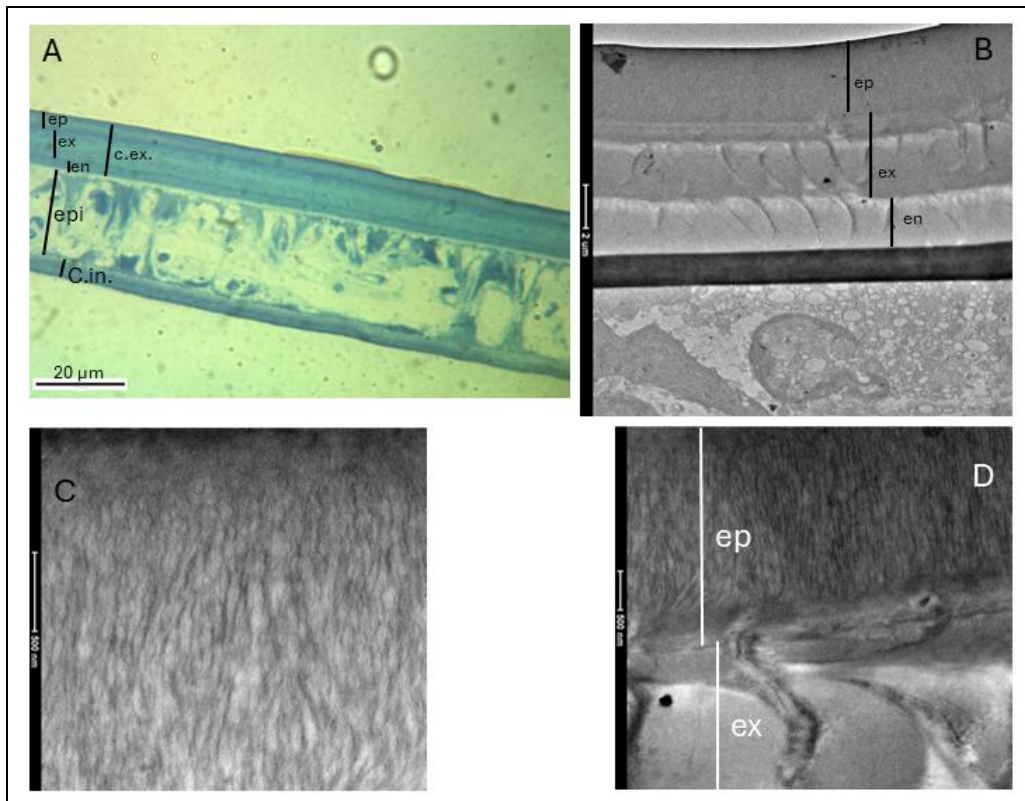


Figure 20 : Lane branchiostège de *P. vannamei* en postecdysis après 25 jours à une salinité de 5g/L, observée en microscopie optique (A) et en microscopie électronique à transmission (MET) (B-D) montrant toute l'épaisseur de la cuticule (B), le détail de l'épicuticule (C) et la jonction épicuticule exocuticule (D) : ep, épicuticule ; ex, exocuticule ; en, endocuticule ; c.ex., cuticule externe ; c.int, cuticule interne ; epi, épiderme.

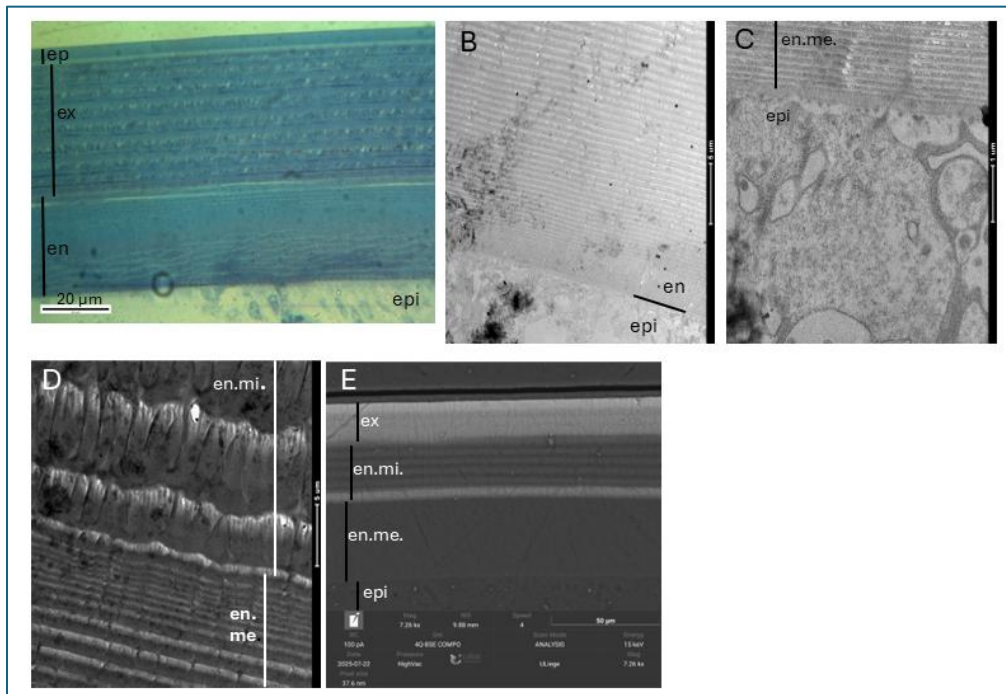


Figure 21 : Lane branchiostège de *P. vannamei* en intermue (stade C4) après 50 jours à une salinité de 5 g/L, observée en microscopie optique (A), en microscopie électronique à transmission (MET), l'endocuticule et de l'épiderme sous-jacent (B), le détail de l'endocuticule membraneuse et de l'épiderme (C), la jonction entre l'endocuticule minéralisée et l'endocuticule membraneuse (D) et en microscopie électronique à balayage en électrons rediffusés (BSE) ; ep, épicuticule ; ex, exocuticule ; en, endocuticule ; en.mi., endocuticule minéralisée ; en.me., endocuticule membraneuse ; epi, épiderme.

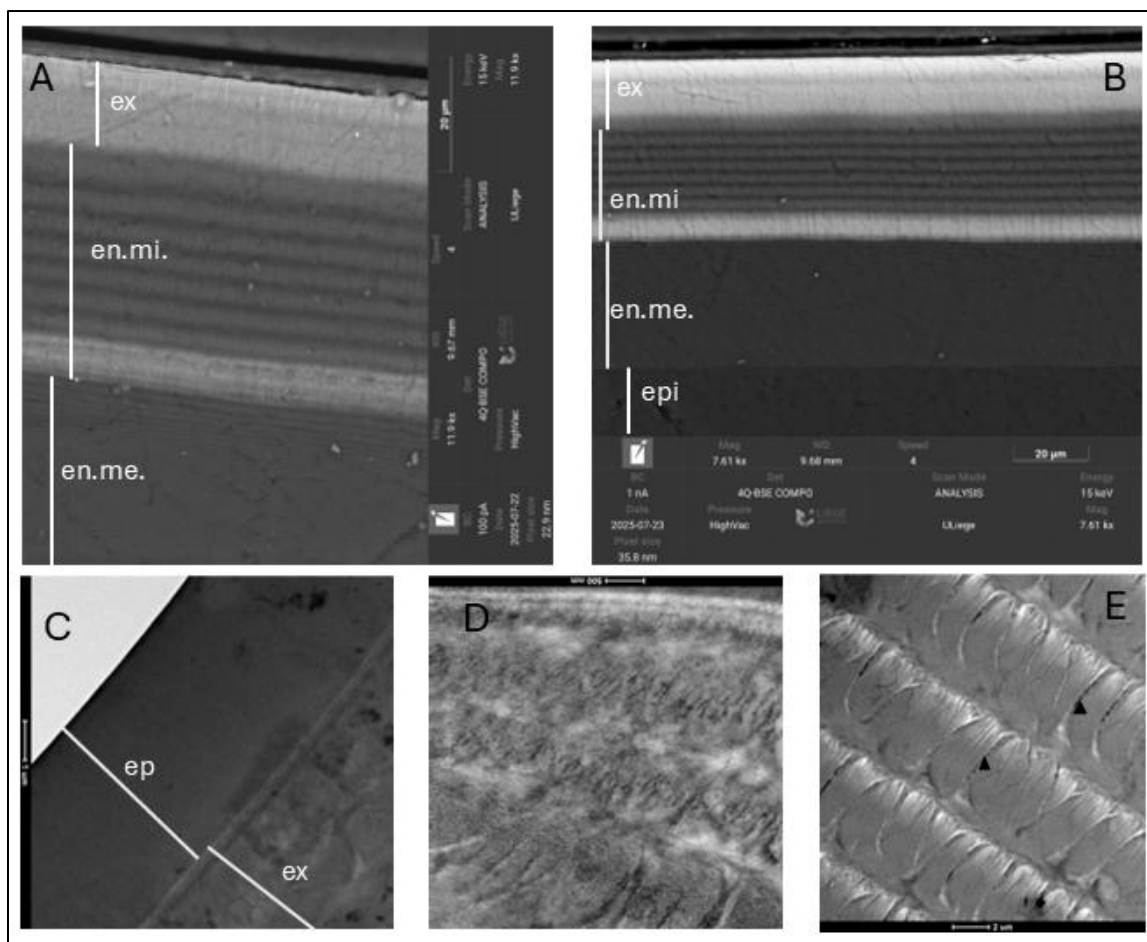


Figure 42 : Lames branchiostèges de crevettes *P. vannamei* élevées à une salinité de 10 g/L (A) et 20g/L (B-E) pendant 50 jours, observées en MEB-BSE de toute l'épaisseur de la cuticule (A, B), en MET de l'épicuticule et exocuticule (C), du détail de l'exocuticule (D) et de l'endocuticule minéralisée avec canaux intracuticulaires (indiqués par des triangles) (E) ; ep, épicuticule ; ex, exocuticule ; en, endocuticule ; en.mi. endocuticule minéralisée ; en.me., endocuticule membranaire ; epi ; épiderme.

### 3.5.2. Minéralisation de la cuticule

La minéralisation de la cuticule a été caractérisée en microscopie électronique à balayage en électrons rétrodiffusés (backscattered-electron, BSE) et au moyen d'analyses élémentaires aux rayons X par spectrométrie en dispersion des énergies (energy dispersive spectroscopy of X-rays, EDS). Les images en BSE, sensibles au numéro atomique (Z) des éléments, montrent la distribution du minéral dans la cuticule, les zones les plus claires correspondant aux régions minéralisées. L'EDS permet d'identifier les atomes présents dans le minéral par l'obtention de spectres (figure 23), de visualiser leur dispersion au moyen de cartographies et de quantifier approximativement ces atomes par analyse semi-quantitative.

Sur les faces de blocs polies et observées en MED (BSE), deux zones plus claires apparaissent indiquant une minéralisation plus importante (figure 23). Ces zones correspondent à l'exocuticule, dont la partie située sous l'épicuticule est encore plus fortement minéralisée, ainsi qu'à la limite inférieure de l'endocuticule minéralisée. La zone de l'endocuticule comprise entre ces deux régions n'apparaît que faiblement répondre en MEB-BSE et donc ne serait que peu minéralisée.

La microanalyse élémentaire aux rayons X, et en particulier les cartographies élémentaires, a permis de montrer que ces zones étaient plus riches en calcium (Ca), magnésium (Mg), phosphore (P) en plus du carbone (C) présent partout et qu'elles contenaient également du sodium (Na), du potassium (K) et de l'oxygène (O). L'exocuticule montre bien deux zones, la zone plus externe sous-épicuticulaire contenant plus de calcium que la partie sous-jacente. La zone médiane de l'endocuticule ne contient pratiquement pas de Ca. Il est aussi à noter que le carbone ressort bien plus dans les zones non-minéralisées que dans les zones minéralisées.



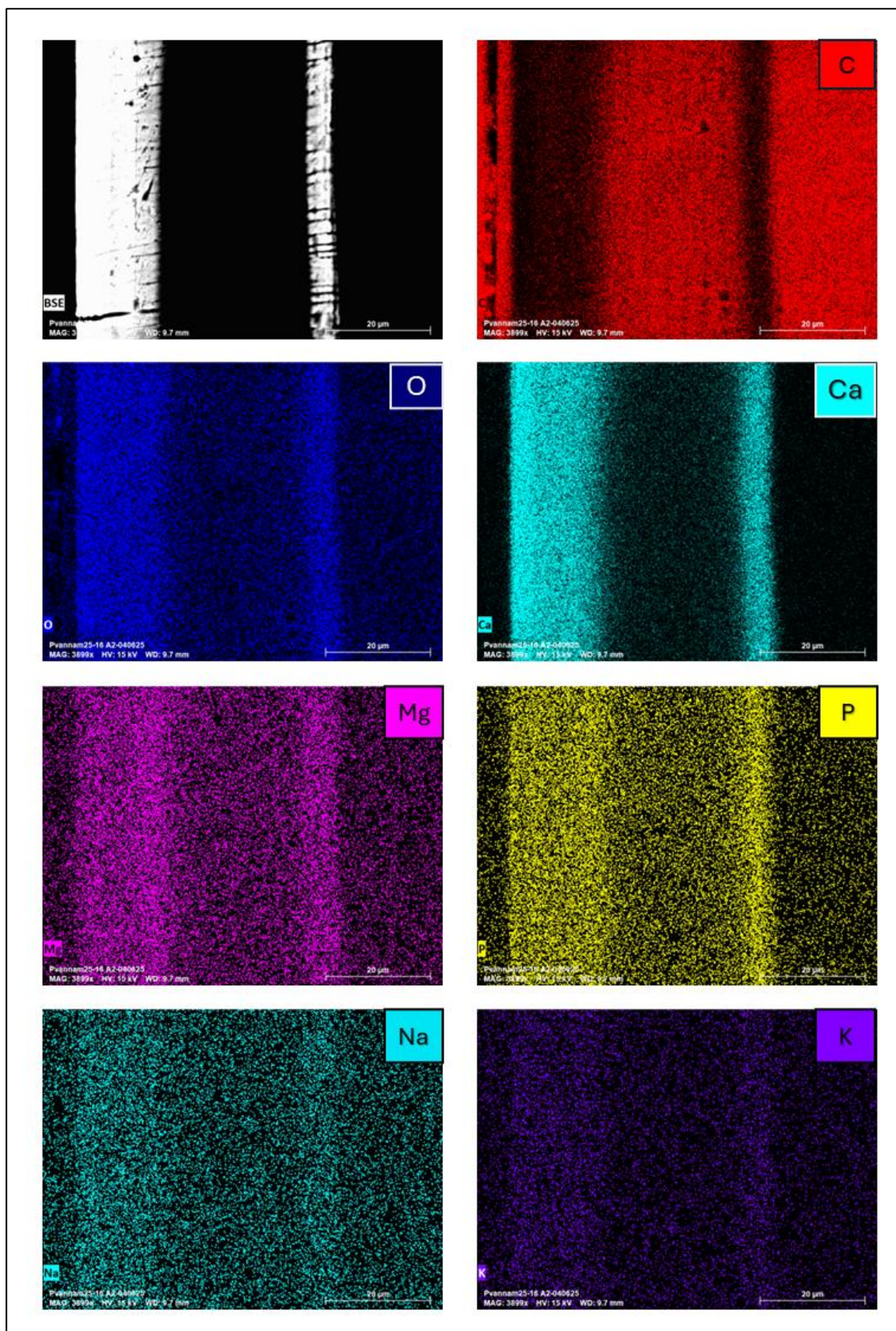


Figure 23 : Cartographie élémentaires de la zone sélectionnée de la cuticule d'une lame branchiostège d'une crevette *P. vannamei* élevée à une salinité de 20 g/L pendant 50 jours et imagée en MED-BSE.



L'analyse en spectrométrie EDS a été effectuée sur quatre zones correspondant à l'exocuticule, à l'endocuticule minéralisée et à sa zone inférieure, ainsi qu'à l'endocuticule membranaire (figure 24). Les spectres obtenus pour la crevette élevée à 20g/L et prélevée après 50 jours sont repris dans la figure 25. Les spectres des autres salinités sont disponibles en annexe.

Les spectres des zones minéralisées (figure 25) montrent des pics d'éléments majeurs (C, O et Ca) ainsi que de plusieurs éléments mineurs (Na, Mg, P, Cl, K). Le Cl est attribué à la résine d'inclusion. Dans les zones non minéralisées, le pic de Cl est plus important tandis que celui de Ca est réduit. Le pic de P semble moins varier.

Les analyses semi-quantitatives des spectres ont fourni les pourcentages atomiques des différents éléments dans chaque couche de la cuticule, permettant ainsi de caractériser leur degré de minéralisation. Pour chaque couche, une comparaison a également été effectuée entre les individus des trois salinités d'élevage. En raison d'un nombre trop limité d'échantillons (un seul par salinité), aucune analyse statistique n'a pu être réalisée.

Outre les pourcentages directs des éléments, le rapport Ca/P permet d'estimer l'importance relative du phosphate par rapport au carbonate. Le rapport Ca/Cl constitue un autre indicateur indirect permettant d'estimer la minéralisation, celle-ci étant inversement proportionnelle à la porosité de la cuticule et donc à la pénétration de la résine (qui contient du Cl). Plus la teneur en Cl est élevée, plus la résine a pu pénétrer dans le tissu et moins celui-ci est minéralisé.

Parmi les couches minéralisées, celle dont la minéralisation est la plus importante est l'exocuticule (rapport Ca/P moyen = 47,9 et rapport Ca/Cl moyen = 132,7), suivie de la zone située à la jonction entre l'endocuticule minéralisée et l'endocuticule membranaire (rapport Ca/P moyen = 25,1 et rapport Ca/Cl moyen = 91,4). On retrouve en dernière position l'endocuticule minéralisée (rapport Ca/P moyen = 9,47 et rapport Ca/Cl moyen = 20,2) et l'endocuticule membranaire.

L'exocuticule des crevettes élevées à 20g/L pendant 50 jours semble présenter une minéralisation plus importante que celles élevées à 5 g/L et 10g/L, car elle possède un ratio Ca/P plus élevé ainsi qu'un rapport Ca/Cl élevé. La tendance inverse est observée pour la partie minéralisée de l'endocuticule et pour la zone de jonction entre l'endocuticule minéralisée et l'endocuticule membranaire (tableau 7).

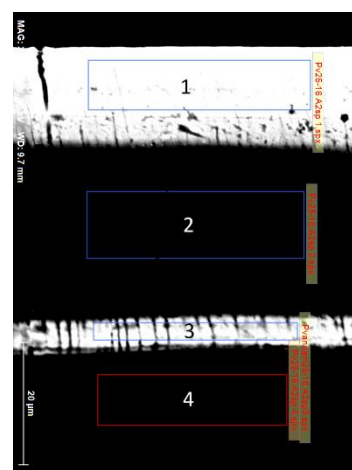


Figure 25: lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 20 g/L pendant 50 jours (en MEB-BSE). Les rectangles définissent les zones étudiées. De haut en bas : exocuticule (1), endocuticule minéralisée (2), zone inférieure de l'endocuticule minéralisée (3), endocuticule membranaire (4).

Tableau 7 : pourcentage atomique du calcium (Ca), du phosphore (P) et du chlore (Cl), ainsi que les rapports Ca/P, Ca/Cl dans les lames branchiostèges de *P. vannamei* à la fin de l'expérience (04/06/25). " / " = absence de donnée.

Couches	Origine individu	Salinité	% atomique Ca	% atomique P	% atomique Cl	Ca/P	Ca/Cl
Exocuticule	Aq19	5	14,9	0,3	0,1	42,5	157,7
	Aq23	10	14,4	0,4	0,2	40,7	83,7
	Aq6	20	11,7	0,2	0,1	60,5	156,5
Endocuticule minéralisée	Aq19	5	1,9	0,2	0,2	12,5	8,3
	Aq23	10	1,5	0,2	0,3	8,2	5,8
	Aq6	20	1,1	0,1	0,2	7,7	6,1
Jonction endocuticules	Aq19	5	12,5	0,4	0,1	33,3	111,2
	Aq23	10	11,9	0,5	0,1	26,1	92,7
	Aq6	20	10,0	0,6	0,1	15,9	70,4
endocuticule membraneuse	Aq19	5	1,6	/	6,6	/	0,2
	Aq23	10	0,03	/	0,1	/	0,3
	Aq6	20	0,02	/	0,1	/	0,3

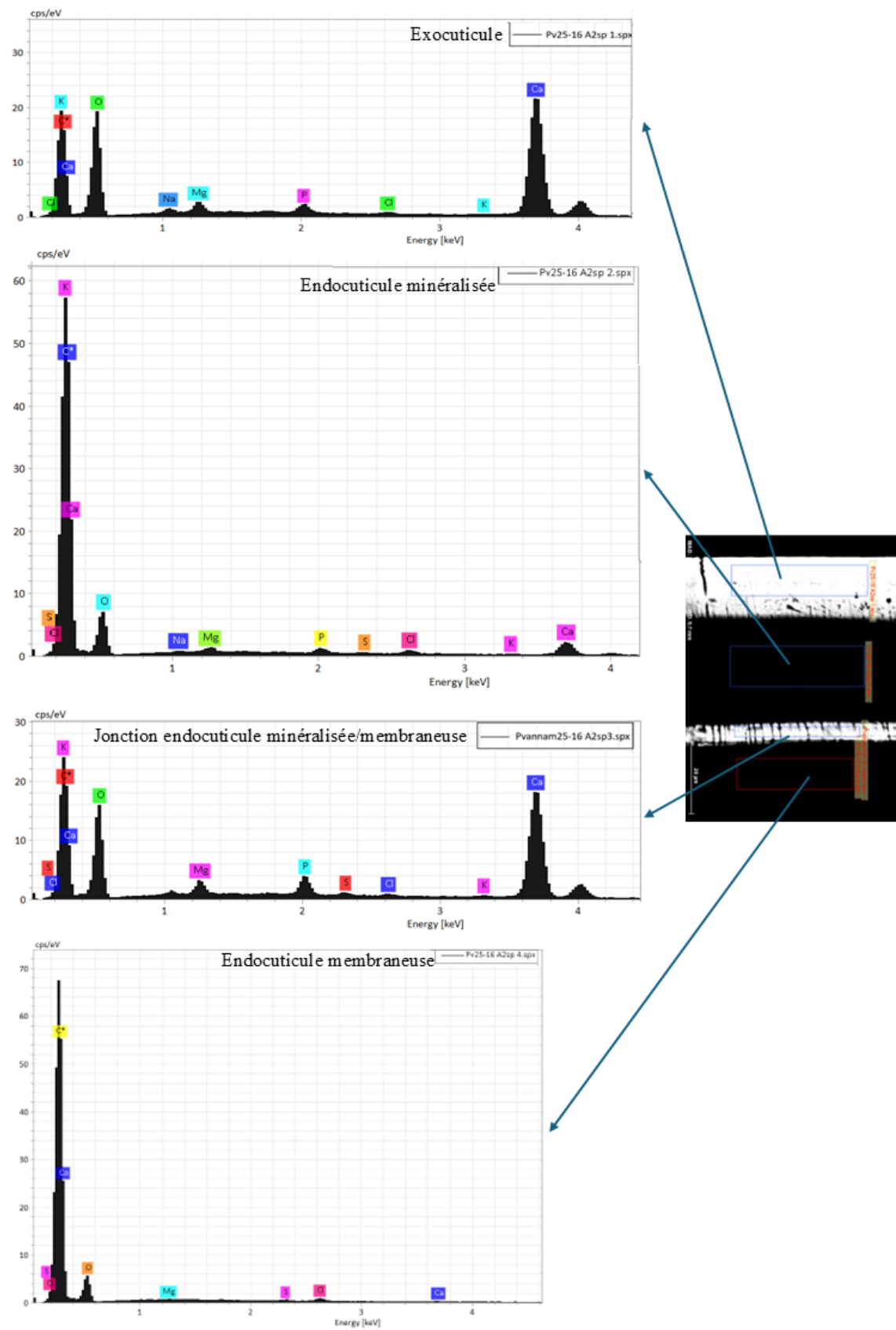


Figure 26: Spectrométrie EDS de la cuticule d'une lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 20g/L pendant 50 jours.

## 4. Discussion

L'objectif général de cette étude était d'évaluer la possibilité d'élever des crevettes à pattes blanches (*P.vannamei*) à de faibles salinités. L'interrogation principale était donc de savoir si la salinité influençait d'une part la survie et la croissance des crevettes et d'autre part la qualité de la cuticule. Pour ce faire, des juvéniles ont été élevés à trois salinités différentes (5g/L, 10g/L et 20g/L) pendant 50 jours. Une analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau et de la croissance, ainsi qu'une observation de la minéralisation et de la structure de la cuticule ont été réalisées afin de déterminer d'éventuels effets de la salinité. Il est important de noter que cette étude constituait l'une des premières expérimentations zootechniques menées sur les crevettes à pattes blanches au sein du laboratoire. De ce fait, diverses difficultés zootechniques ont été rencontrées ce qui a impacté l'expérience et compliqué l'interprétation des résultats.

### 4.1. Taux de survie

Les taux de survie calculés varient entre 11 et 46%. Ils apparaissent plus faibles que dans d'autres études, comme celles d'Esparza-Leal et al (2019), dont le plus faible taux de survie était de 83,3% ou encore celle de Li et al. (2007) dans laquelle le taux de survie était de 75% à une salinité de 3g/L et de 100% à 17 et 32 g/L.

Il est cependant important de prendre en compte les conditions expérimentales, qui peuvent exercer une influence sur les résultats. Dans l'étude d'Esparza-Leal et al. (2019), les crevettes ont été placées dans des bassins en plastiques de 200 L (70 x 60 x 48 cm) et chaque aquarium contenait au départ 43 crevettes, ce qui équivalait à une densité de 214 crevettes/m<sup>3</sup>. Li et al. (2007) ont quant à eux utilisé des bassins en fibre de verre de 150L (60 × 50 × 50 cm) avec une densité de départ équivalente à 267 crevettes/m<sup>3</sup>. Dans notre étude, 35 crevettes ont été mises en charge dans des aquariums en verre transparent de 46,5 L (29 cm x 33 cm x 48,6 cm), ce qui correspond à une densité de 752,5 crevettes/ m<sup>3</sup>. Il pourrait donc y avoir un effet non seulement du matériel utilisé mais également de la densité de population élevée voire une interaction entre les deux.

De plus, l'acclimatation aux différentes salinités a eu lieu avant la mise en charge dans les bassins expérimentaux, aussi bien dans l'étude d'Esparza-Leal et al. (2019) que dans celle de Li et al. (2007), alors qu'elle a eu lieu après la mise en charge dans notre expérience. Il y a donc eu des mortalités lors de l'acclimatation qui ont été prises en compte dans nos résultats, et pas dans ceux des autres études présentées.

Les causes exactes des faibles taux de survie sont difficiles à déterminer, elles peuvent être d'origines multiples, qu'elles relèvent de paramètres physico-chimiques ou biologiques.

#### 4.1.1. Effet de la salinité ?

La salinité ne semble pas jouer de rôle significatif dans la survie lors de cette étude. Bien qu'un meilleur taux de survie ait été observé dans les aquariums à 20 g/L de salinité par rapport aux aquariums à 5g/L, le modèle n'a pas identifié cette variable comme significative. Il laisse cependant entrevoir une tendance à l'augmentation du taux de survie avec l'augmentation de la salinité.

Il semblerait donc que la salinité n'ait pas exercé d'effet direct prédominant sur la survie dans le cadre de notre expérience, mais il n'est pas exclu qu'elle puisse jouer un rôle. La littérature reste d'ailleurs controversée quant à l'effet de la salinité sur la survie. Certaines études, comme celle de Perez-Velazquez et al. (2007), obtiennent des résultats similaires aux nôtres avec une absence d'influence de la salinité sur la survie. D'autres, en revanche, évoquent une diminution du taux de survie avec l'abaissement de la salinité (Ponce-Palafox et al., 1997 ; Li et al., 2007) ou encore des effets indirects de celles-ci sur l'immunité ou sur la tolérance à d'autres paramètres toxiques pour les crevettes (Li et al. 2007 ; Bauer et al., 2021).

#### 4.1.2. Effet de la température ?

La température, contrairement à la salinité, semble avoir joué un rôle important. Le modèle linéaire testé indique que la survie augmentait avec l'élévation de la température. Le graphique de la température moyenne quotidienne montre des valeurs plus élevées dans les aquariums à 20g/L, qui dépassent fortement les autres aquariums du 28 avril au 5 mai. Il est donc probable que les taux de survie plus élevés dans les aquariums contrôles soient dus à la température et non à la salinité.

La température entre les différents aquariums a varié de façon importante durant les 50 jours de l'expérience. Cette forte variabilité des températures est liée à des problèmes d'ordres techniques survenus au cours de l'expérience. Ainsi, les températures très élevées (jusqu'à 37,8°C) mesurées le 17 avril 2025 ont été causées par un dérèglement du thermostat permettant la régulation de la température dans les aquariums contrôles. Un autre problème rencontré a été la baisse de température des aquariums à salinité de 5 g/L et 10 g/L, consécutive à la panne de l'un des chauffages de la salle où se déroulait l'étude.

Les aquariums à 5 et 10 g/L étant tous des systèmes indépendants, il n'y avait pas de bac de charge pour ceux-ci, et il était donc impossible d'y placer des résistances chauffantes. La température de ces aquariums dépendait alors entièrement de la température ambiante de la salle et/ou de leur proximité avec les aquariums du système contrôle dont l'eau était chauffée et la température contrôlée.

#### 4.1.3. Effet du taux d'oxygène dissous ?

Le taux d'oxygène dissous est l'un des facteurs critiques à la santé et la croissance des crevettes (Araujo et al., 2025). Pour l'élevage des crevettes, il est recommandé de maintenir ce taux au-dessus de 5 mg/L (Patkaew et al., 2024). Lors de l'expérience, les taux d'oxygène dissous mesurés sont toujours restés supérieurs à 5 mg/L. Le taux d'oxygène dissous n'ayant montré aucun effet significatif sur la survie et la mortalité, maintenir celui-ci au-dessus des 5 mg/L paraît donc adapté.

#### 4.1.3. Effet du pH ?

Le pH au cours de l'expérience s'est situé entre 6,9 et 7,9. Pour *P. vannamei*, la plage optimale de pH est comprise entre 7,5 et 8,5 (Ariadi et al., 2019; Durai et al., 2021). Dans notre étude, les moyennes de pH se situaient entre 7,1 et 7,5 (tableau 5), donc au-dessous ou juste à la limite inférieure de cette plage.

Bien que l'on reste toujours dans la gamme de tolérance de l'espèce, un pH trop bas peut réduire l'efficacité du système immunitaire des crevettes en modifiant leur processus de reconnaissance et d'élimination des pathogènes, ainsi qu'affaiblir la fonction de barrière de l'intestin, entraîner des modifications du microbiote intestinal ou faciliter l'entrée des pathogènes par cette voie (Yu et al., 2020).

A long terme, un pH trop faible pourrait devenir un stress pour les crevettes. Il aurait peut-être été préférable de le maintenir dans une plage de 7,5-8,5 optimale plutôt que dans la plage de 7 à 8 choisie au début de l'étude. Cependant, lorsqu'il a été testé comme variable explicative de la mortalité, le pH n'a montré aucun effet significatif, bien qu'il ait différé entre les trois traitements.

#### 4.1.4. Effet des composés azotés ?

La présence d'ammoniaque dans l'eau d'élevage provient non seulement de l'excrétion par les crevettes mais également de la décomposition de la matière organique comme les fèces et les surplus alimentaires non consommés et laissés sur le fond (Schuler et al., 2010). C'est pourquoi les aquariums étaient siphonnés chaque jour.

La tolérance des crevettes à la présence d'ammoniaque ou de nitrites dépend de plusieurs facteurs, notamment de la salinité de l'eau. La concentration de sécurité peut être calculée en multipliant le LC50 à 96h par 0, 1 (Lin & Chen, 2001.; Ramírez-Rochín et al., 2017). Pour des salinités de 15 g/L, 25 g/L et 35g/L, Ling et Chen (2001) ont estimé que les concentrations de sécurité seraient respectivement de 2,44, 3.,55 et 3,95 mg/L N-NH<sub>4</sub>. La valeur maximale observée durant l'expérience était de 0.85 mg/L N-NH<sub>4</sub> dans le système contrôle à 20 g/L, donc bien inférieure à la concentration de sécurité estimée.

Concernant les nitrites N-NO<sub>2</sub>, Ramirez-Rochin et al. (2017) proposent l'équation suivante pour calculer ce LC50 pour le nitrite à partir de la salinité : 96-h LC50 = 0,2127S<sup>2</sup> + 1,558S + 5,9868, où S représente la salinité.

Sur base de cette équation, pour des salinités de 5, 10 et 20g/L, les LC50 à 96 heures sont respectivement de 19,09 mg/L N-NO<sub>2</sub> à 5 g/L, 42,84 mg/L N-NO<sub>2</sub> à 10g/L et 122,23 mg/L N-NO<sub>2</sub> à 20g/L. Les concentrations de sécurité obtenues sont alors de 1,91 mg/L N-NO<sub>2</sub> (salinité de 5 g/L), 4,28 mg/L N-NO<sub>2</sub> (salinité de 10 g/L) et 12,22 mg/L N-NO<sub>2</sub> (salinité de 20 g/L). Ces valeurs de sécurité ont été respectées pour la majorité des aquariums au cours de l'expérience, à l'exception de l'aquarium 26 (salinité de 10 g/L) pour lequel la concentration en nitrites a dépassé la valeur de sécurité de 5 mg/L N-NO<sub>2</sub> le 30 avril, continuant d'augmenter jusqu'à atteindre un pic de 25 mg/L le 5 mai 2025. Malgré les mesures mises en place pour tenter de réduire cette concentration, le biofiltre semble ne s'être jamais activé de manière suffisante, et les crevettes de cet aquarium n'ont pas résisté à ce stress aigu.

Enfin, concernant les nitrates, la concentration de sécurité recommandée est de 60,05 et 127, 61 mg/L respectivement pour des salinités de 5 g/L et 10 g/L selon Neto et al. (2019). La concentration maximale observée au cours de l'expérience était de 90,5 mg/L N-NO<sub>3</sub> dans l'aquarium 26 (10 g/L), ce qui reste en dessous de cette valeur seuil. Il semble donc probable

que la mortalité des crevettes dans cet aquarium soit essentiellement imputable aux stress causés par les nitrites.

Les aquariums à 5 g/L ont eu sur la fin de l'expérience des concentrations en  $\text{NO}_3\text{-N}$  légèrement supérieures à 60,05 mg/L. Il est donc possible que, si l'expérience avait été prolongée, l'accumulation de nitrates serait devenue une source de stress plus importante.

#### 4.1.5. Effet de la dureté et de l'alcalinité ?

La dureté totale est la concentration en ions  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  présents dans l'eau. Au cours de l'expérience, elle a varié considérablement, mais l'analyse des données sur l'ensemble des 50 jours d'expérience n'a révélé aucune différence significative, que ce soit entre les trois différentes salinités ou entre les aquariums eux-mêmes.

Le 19 mai, la dureté dans le système d'aquaculture en recirculation comprenant les aquariums contrôles ainsi que l'aquarium 22 (salinité de 5 g/L) avait fortement baissé, atteignant respectivement 38 et 34 mg/L  $\text{CaCO}_3$ . Etant donné que le calcium et le magnésium sont tous deux des ions essentiels à la minéralisation de la cuticule et la croissance des crevettes, il a été décidé de doubler le volume des renouvellements quotidiens afin d'éviter une dureté trop basse et donc une carence en minéraux. Il était initialement prévu de mesurer la dureté en calcium en plus de la dureté totale, afin d'estimer la concentration en magnésium, mais cela n'a pas pu être réalisé.

L'alcalinité a également montré d'importantes variations au cours des 50 jours d'expérience sans qu'aucune différence significative ne soit observée ni entre les aquariums, ni entre les traitements salins. L'alcalinité moyenne pour l'ensemble des aquariums était de 146,6 mg/L  $\text{CaCO}_3$ . La forme alcaline majoritairement présente dans tous les aquariums expérimentaux, qu'ils soient à 5 g/L ou 10 g/L, ainsi que dans le système contrôle à 20 g/L était le bicarbonate.

D'après Zhang et al. (2024), l'alcalinité considérée sans danger pour *P. vannamei* est d'environ 2,5mmol/L, soit approximativement 250 mg/L  $\text{CaCO}_3$ . L'alcalinité moyenne durant l'expérience était de 146,6 mg/L  $\text{CaCO}_3$  et donc plus basse que la valeur de sécurité proposée par Zhang et al. L'alcalinité de l'eau a diminué au cours du temps, ce qui peut être attribué à la consommation par les bactéries responsables de la nitrification (Prangnell et al., 2016).

#### 4.1.6. Effet du potassium ?

La concentration en potassium dans l'eau était significativement différente entre les salinités testées. Plus la salinité était élevée, plus la concentration en potassium ( $\text{K}^+$ ) augmentait.

Dans la littérature, les concentrations jugées idéales pour les différents ions sont celles qui respectent les ratios retrouvés dans l'eau de mer. Roy et al. (2007) ont étudié l'effet de différentes concentrations en  $\text{K}^+$  et ont constaté que les crevettes élevées dans de l'eau de mer reconstituée à 4 g/L présentaient une croissance plus importante que celles élevées dans des concentrations plus faibles, modifiant les ratios ioniques par rapport à l'eau de mer.

Boyd (2018) a suggéré un tableau de l'équilibre ionique présentant des facteurs de conversion permettant de calculer rapidement les concentrations équivalentes en cations de l'eau de mer à partir de la salinité. Le facteur de multiplication pour le potassium ( $\text{K}^+$ ) est de 11,01, ce qui



correspond à une concentration de 55,05 mg/L K<sup>+</sup> pour une salinité de 5 g/L, 110,1 mg/L K<sup>+</sup> pour 10g/L et 220,2 mg/L K<sup>+</sup> pour 20g/L. Dans notre étude, la moyenne obtenue pour le potassium était de 112,8 mg/L K<sup>+</sup> à 5 g/L, 148,4 mg/L K<sup>+</sup> à 10g/L et 246, 8 mg/L K<sup>+</sup> à 20 g/L. Toutes étaient supérieures aux valeurs estimées par Boyd (2018).

#### 4.1.7. Présence et ratios des minéraux essentiels

Il n'a malheureusement pas été possible de calculer les ratios ioniques Na : K, Mg : Ca et SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> : Cl<sup>-</sup> en raison de difficultés d'approvisionnement des tests adaptés (calcium, chlorure). L'absence de certaines données, notamment celles nécessaires au calcul des concentrations en magnésium et en sodium, n'a pas permis de réaliser ces estimations.

De nombreuses études (Boyd, 2018 ; Valenzuela Madrigal et al., 2019 ; Roy et al., 2020 ; Suguna, 2020 ; Galkanda-Arachchige et al., 2021 ; Su et al., 2025)) démontrent l'importance de ces ratios ionique pour le développement et la survie des individus. Il pourrait être intéressant d'examiner ces paramètres plus en profondeur pour évaluer la qualité de l'eau et du sel utilisé dans l'élevage.

#### 4.1.8. Rôle des paramètres biologiques

En plus des difficultés pour maintenir la qualité de l'eau à des conditions acceptables, dans les premières semaines de l'expérience, des taches blanches sont apparues sur l'abdomen des individus, laissant penser à une infection par une bactérie du genre *Vibrio sp.* Ces traces ont diminué après un traitement à l'eau oxygénée des aquariums infectés, ainsi qu'avec l'introduction de probiotiques destinés à renforcer l'immunité des crevettes. Il est possible qu'une partie de la mortalité soit imputable à cette pathologie.

Un autre facteur de mortalité observé au cours de l'expérience était le cannibalisme. Ce comportement a été observé dans tous les aquariums de manière récurrente et a sans doute contribué à la diminution du taux de survie. Le cannibalisme est un phénomène courant chez les crustacés décapodes. Ces organismes, contraints de muer pour grandir, deviennent souvent vulnérables juste après la mue et peuvent alors servir de proie à leurs congénères. Chez les crevettes marines comme *P. vannamei*, le cannibalisme se manifeste plus fréquemment dans les premiers stades de vie larvaire. Cependant, des conditions de vie défavorables telles qu'un taux en oxygène dissous insuffisant, une sous-alimentation ou encore le développement de maladies, peuvent exacerber ce comportement (Romano & and Zeng, 2017).

Dans le cas de notre étude, il est possible que les causes de ce comportement soient multiples. En plus des problèmes de nitrites observés dans certains aquariums et de la présence de maladies, l'apport alimentaire a rencontré quelques difficultés. En effet, les nourrisseurs utilisés ne distribuaient pas toujours la quantité voulue, soit en raison d'une panne et d'un arrêt de fonctionnement, soit à cause de l'installation d'humidité bloquant le volet de distribution.

## 4.2. La croissance

La température joue un rôle important dans la croissance des animaux aquatiques. Une étude de Wyban et al. (1995) a montré que pour des juvéniles de *P. vannamei* de petite taille (< 15 g), l'augmentation de la température entraînait une amélioration de la croissance. Les auteurs ont



mesuré les poids initiaux et finaux à 23°C, 27°C et 30°C et calculé les taux de croissance spécifiques pour chaque condition. Les crevettes élevées dans des bassins à températures plus élevées ont présenté des taux de croissance spécifiques plus grands. Ils ont ainsi estimé que la température optimale pour les juvéniles de petite taille serait supérieure à 30°C. Dans notre étude, les températures moyennes pour les différents aquariums étaient toutes supérieures à 30°C, ce qui suggère que les conditions thermiques étaient optimales pour la croissance des juvéniles.

Vu les fortes mortalités enregistrées, il est difficile de comparer la croissance des crevettes à différentes salinités. En effet, ces mortalités ont entraîné des modifications importantes de la densité d'élevage et de la distribution de l'aliment. Néanmoins, la croissance n'était pas significativement différente entre les trois salinités testées, que ce soit en termes de poids, de longueur ou de surface de la face latérale.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Esparza-Leal et al (2019), qui ont comparé les poids finaux et initiaux ainsi que le taux de croissance spécifique de post-larves élevées à des salinités de 1, 10, 15, 25 et 35 mg/L, sans observer de différence significative. De même Jaffer et al. (2020) ont comparé le gain de poids, le taux spécifique de croissance ainsi que la survie à des salinités de 1, 5, 7, 15 et 25 g/L et n'ont constaté aucune différence concernant le gain de poids et le taux spécifique de croissance.

En revanche, nos résultats s'opposent à ceux d'autres études comme celle de Li et al (2007), qui ont observé que les crevettes élevées à basse salinité (3 g/L) présentaient des performances de croissance plus faibles que celles élevées à une salinité de 17 g/L. L'hypothèse avancée par les auteurs pour expliquer cette diminution des performances de croissances est l'augmentation de la demande énergétique pour l'osmorégulation lorsque la salinité diminue. Cette hypothèse est appuyée par leurs mesures de la consommation en oxygène et du quotient respiratoire des crevettes, qui étaient plus élevées à 3g/L.

La salinité choisie (5 mg/L) étant la limite supérieure indiquée par ces auteurs pour définir une « faible salinité », il est possible qu'à 5 mg/L les demandes énergétiques de l'osmorégulation ne soient pas assez conséquentes pour affecter la croissance. Cela rejoint l'hypothèse apportée par Jaffer et al. (2020) indiquant qu'une salinité minimale de 1g/L n'impacte pas suffisamment l'osmorégulation des crevettes pour affecter la survie ou la croissance.

### 4.3. Structures et minéralisation de la cuticule

Aucune différence structurale n'a été observée dans la cuticule des crevettes élevées aux trois salinités testées. Les différentes couches de la cuticule de la lame branchiostège présentaient une organisation similaire : une épicuticule, une exocuticule et une endocuticule organisées en lamelles et traversées de canaux intra-cuticulaires (Compère et al., 2004). La minéralisation observée aux microscopes et déduite des rapports Ca/P et Ca/Cl indique une exocuticule fortement minéralisée par rapport à l'épicuticule et l'endocuticule. Une zone plus minéralisée est également trouvée entre les deux parties de l'endocuticule, séparant la partie minéralisée de la partie qui ne l'est pas.

La structure générale de la cuticule observée chez les individus au stade C4 est semblable à la description générale de la cuticule des décapodes donnée par Compère et al. (2004). L'épicuticule constitue une couche plus fine, non organisée en couches et peu minéralisée. On retrouve ensuite une exocuticule bien minéralisée, comme en témoignent les % atomiques de Ca plus élevés dans cette couche. L'endocuticule présente des lamelles bien délimitées, avec une épaisseur décroissante lorsque l'on arrive dans la couche membraneuse. Des canaux intracuticulaires présents dans l'exocuticule et l'endocuticule, assurent la connexion entre l'épiderme sous-jacent à la cuticule et les couches externes de la cuticule (Compère et al. 2004).

Aucun article n'a été trouvé concernant la structure de la cuticule chez *P. vannamei* auquel il serait possible de comparer nos résultats pour juger de la qualité de la cuticule. Quelques articles abordent la structure cuticulaire chez une autre crevette pénéide, la crevette géante tigrée (*P.monodon*) laquelle présente une organisation très semblable à celle observée lors de notre étude, ce qui semble indiquer un développement correct de la cuticule dans notre expérimentation (Promwikorn et al., 2005 ; Xu et al., 2013).

Une éventuelle différence dans la minéralisation peut être observée en fonction de la salinité, en restant tout de même très prudents sur les conclusions à tirer puisqu'il n'y a pas eu de répétition des conditions lors de l'observation. Les rapports Ca/P et Ca/Cl calculés semblent indiquer une minéralisation de l'exocuticule plus importante pour l'individu élevé à une salinité de 20g/L, mais pour les différentes couches de l'endocuticule on observe au contraire des ratios plus élevés pour l'individu provenant de l'aquarium à 5g/L et décroissants lorsque la salinité augmente. Il est difficile de tirer des conclusions de ces données puisque seuls trois individus ont été comparés. Les différences observées pourraient être dues à d'autres facteurs que la salinité, comme un stade de mue légèrement différent, mais également la taille des individus, le sexe, et d'autres facteurs causant une variation individuelle (Compère et al., 2004).

Il serait nécessaire de comparer un nombre d'échantillons plus élevé afin de définir s'il s'agit d'un hasard ou d'une tendance générale causée par la salinité et d'en interpréter le sens. Si en augmentant le nombre d'échantillons, aucune différence significative n'était observée entre les individus élevés dans différentes salinités, cela indiquerait qu'il est possible d'abaisser la salinité d'élevage sans effet néfaste sur la cuticule, ce qui permettrait de réduire les coûts monétaires et techniques. Si au contraire, une différence apparaissait dans la minéralisation, il pourrait également être intéressant de comparer la cuticule de différentes parties du corps de la crevette. Si la salinité affecte la minéralisation, certaines zones de la cuticule pourraient être privilégiées afin d'assurer la survie des individus.

Il est également possible que la salinité influence la minéralisation de la cuticule lorsqu'une gamme de salinités plus large est étudiée. Une étude de Jannathulla et al. (2020) s'est intéressée au contenu minéral de différents tissus dont l'exosquelette à différentes salinités (3, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 g/L) chez *P. vannamei* et a montré que les variations de la salinité avaient un impact sur la minéralisation des tissus. Les auteurs ont également conclu que la minéralisation des tissus et la régulation ionique dans l'eau à faible salinité (entre 10 et 30 g/L) étaient plus efficaces qu'à salinité très élevée (60g/L). Il serait alors possible d'élever des individus de *P. vannamei* à des salinités plus faibles sans nuire à la minéralisation de la cuticule des crevettes, comme semble le suggérer notre étude.

## 5. Conclusion

A la suite de cette étude, il semble qu'élever des crevettes à pattes blanches à de faibles salinités (jusque 5mg/L) sans affecter la survie, la croissance ou la structure de la cuticule soit possible. Il est cependant nécessaire de rester prudent quant aux conclusions tirées, notamment concernant le taux de survie et la croissance, au vu des difficultés zootechniques rencontrées au cours de l'expériences et de l'impossibilité d'assurer des conditions égales entre les aquariums. Cette baisse de salinité semble ne pas avoir d'effet sur la structure de la cuticule, mais il est possible qu'un effet existe au niveau de la minéralisation de la cuticule, hypothèse qu'il serait intéressant d'étudier plus en profondeur à l'avenir, d'autant plus qu'elle ouvre des perspectives encourageantes pour le développement de l'élevage de cette espèce à plus faible salinité.

La température semble être le principal paramètre ayant un effet sur la survie et la croissance. Il pourrait être utile dans le cadre du développement de la crevetticulture en Wallonie d'investiguer ce point plus en profondeur afin de déterminer la tranche de température optimale pour assurer un taux de survie satisfaisant pour la production.

L'aquaculture de la crevette à pattes blanches étant en développement dans notre région, de nombreux points zootechniques restent à étudier et améliorer afin de pouvoir assurer un élevage permettant de satisfaire les besoins humains, économiques et également le bien-être des crevettes. L'amélioration des techniques d'élevage permettra sans doute d'obtenir des taux de survie plus élevés. En ce qui concerne la salinité, s'il semble possible d'effectuer la phase de grossissement dans une salinité plus faible (5 g/L) sans conséquences sur la survie, la croissance ou la structure de la cuticule, cela n'est peut-être pas le cas pour les phases précédentes de l'élevage. Il serait intéressant de tester les limites pour des individus au stade de post-larves, afin de déterminer à partir de quels stades de développement la salinité peut être abaissée sans danger. Enfin, il serait également utile de pouvoir suivre les rapports ioniques des différents éléments principaux composant la salinité afin de s'assurer de la qualité de l'eau utilisée dans les élevages.

## 6. Bibliographie

- Araujo, A. N., San Andres, C. F., Nguyen, K. Q., Corby, T. L., Rhodes, M. A., García, J., Roy, L. A., & Davis, D. A. (2025). Effects of minimum dissolved oxygen setpoints for aeration in semi-intensive pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 594, 741376. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741376>
- Ariadi, H., Fadjar, M., Mahmudi, M., & Supriatna. (2019). The relationships between water quality parameters and the growth rate of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in intensive ponds. *AACL Bioflux*, 12(6), 2103–2116.
- Bauer, J., Teitge, F., Neffe, L., Adamek, M., Jung, A., Peppler, C., Steinhagen, D., & Jung-Schroers, V. (2021). Impact of a reduced water salinity on the composition of *Vibrio spp.* in recirculating aquaculture systems for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its possible risks for shrimp health and food safety. *Journal of Fish Diseases*, 44(1), 89–105. <https://doi.org/10.1111/jfd.13270>
- Boyd, C. E. (2018, March 19). Revisiting ionic imbalance in low-salinity shrimp aquaculture. *Responsible Seafood Advocate*. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/revisiting-ionic-imbalance-in-low-salinity-shrimp-aquaculture/>
- Briggs, M. (2009). FAO - *Penaeus vannamei* [Fact sheet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). [https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/fr/fr\\_whitelegshrimp.htm](https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/fr/fr_whitelegshrimp.htm)
- Cheng, K.-M., Hu, C.-Q., Liu, Y.-N., Zheng, S.-X., & Qi, X.-J. (2005). Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquaculture Nutrition*, 11(5), 385–393. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00364.x>
- Cheng, S.-Y., & Li, C.-H. (2012). Variation of Calcium Levels in the Tissues and Hemolymph of *Litopenaeus vannamei* at Various Molting Stages and Salinities. *Journal of Crustacean Biology*, 32(1), 101–108. <https://doi.org/10.1163/193724011X615370>
- Clapano, M. B., Diuayan, J. M. T., Rapiz, F. G. B., & Macusi, E. D. (2022). Typology of smallholder and commercial shrimp (*Penaeus vannamei*) farms, including threats and challenges in Davao Region, Philippines. *Sustainability*, 14(9), 5713. <https://doi.org/10.3390/su14095713>
- Clayton, K. A. (2024). Building Armour from Water: Understanding Calcification Physiology to Optimise Conditions for Indoor King Prawn Aquaculture [Doctoral dissertation, University of Exeter]. ProQuest. <https://www.proquest.com/docview/3132885332/abstract/4093923990DA491FPQ/1?sourcetype=Scholarly%20Journals>

Compère, P., Jeuniaux, Ch., & Goffinet, G. (2004). The integument: Morphology and biochemistry. In *The Crustacea: Treatise on zoology—Anatomy, taxonomy, biology: Revised and updated from the Traité de zoologie*. Brill.

Corteel, M., Dantas-Lima, J. J., Wille, M., Alday-Sanz, V., Pensaert, M. B., Sorgeloos, P., & Nauwynck, H. J. (2012). Moulting cycle of laboratory-raised *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* and *P. monodon*. *Aquaculture International*, 20(1), 13–18. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9437-9>

Drach, P., & Tcherginovtzeff, C. (1967). Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés. *Vie et milieu. Série A, Biologie marine*, 18, 595–609.

Emerenciano, M. G. C., Rombenso, A. N., Vieira, F. D. N., Martins, M. A., Coman, G. J., Truong, H. H., Noble, T. H., & Simon, C. J. (2022). Intensification of penaeid shrimp culture: an applied review of advances in production systems, nutrition and breeding. *Animals*, 12(3), 236. <https://doi.org/10.3390/ani12030236>

Esparza-Leal, H. M., Ponce-Palafox, J. T., Cervantes-Cervantes, C. M., Valenzuela-Quinónez, W., Luna-González, A., López-Álvarez, E. S., Vázquez-Montoya, N., López-Espinoza, M., & Gómez-Peraza, R. L. (2019). Effects of low salinity exposure on immunological, physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 50(3), 944–950. <https://doi.org/10.1111/are.13969>

Euroshrimp. (2021, February 22). #14 European Shrimp Production. Euroshrimp.Net. <https://www.euroshrimp.net/14-european-shrimp-production-in-2020/>

FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022 [Report]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

FAO. (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 [Report]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>

Galkanda-Arachchige, H. S. C., Roy, L. A., & Davis, D. A. (2021). The effects of magnesium concentration in low-salinity water on growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*, 52(2), 589–597. <https://doi.org/10.1111/are.14916>

Gamberoni, P., Wuertz, S., Bierbach, D., Bögnér, M., & Slater, M. J. (2025). European perspectives on *Litopenaeus vannamei* aquaculture: An expert's survey. *Aquaculture Reports*, 42, 102732. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102732>

Gao, Y., Zhang, X., Wei, J., Sun, X., Yuan, J., Li, F., & Xiang, J. (2015). Whole transcriptome analysis provides insights into molecular mechanisms for molting in *Litopenaeus vannamei*. *PLOS ONE*, 10(12), e0144350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144350>

Hambrey, J., Hempel, E., & Winther, U. (2003, December 11). Shrimp farming and the environment: can shrimp farming be undertaken sustainably? *Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific*. <https://enaca.org/?id=505>

- Hou, C., Wang, F., Dong, S., Zhu, Y., & Yu, T. (2012). Effects of constant Ca<sup>2+</sup> concentration in salinity fluctuations on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 20(1), 177–188. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9450-z>
- Huong, D. T. T., Jasmani, S., Jayasankar, V., & Wilder, M. (2010). Na/K-ATPase activity and osmo-ionic regulation in adult whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to low salinities. *Aquaculture*, 304(1–4), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.025>
- Jaffer, Y. D., Saraswathy, R., Ishfaq, M., Antony, J., Bundela, D. S., & Sharma, P. C. (2020). Effect of low salinity on the growth and survival of juvenile pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*: A revival. *Aquaculture*, 515, 734561. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734561>
- Jannathulla, R., Syama Dayal, J., Ambasankar, K., Chitra, V., & Muralidhar, M. (2020). Effect of water on tissue mineralisation in *Penaeus vannamei* (Bonne, 1931). *Indian Journal of Fisheries*, 67(1). <https://doi.org/10.21077/ijf.2019.67.1.74661-19>
- Khanjani, M. H., Alizadeh, M., & Sharifinia, M. (2020). Rearing of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system: The effects of different food sources and salinity levels. *Aquaculture Nutrition*, 26(2), 328–337. <https://doi.org/10.1111/anu.12994>
- Khanjani, M. H., & Sharifinia, M. (2020). Biofloc technology as a promising tool to improve aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1836–1850. <https://doi.org/10.1111/raq.12412>
- Laramore, S., Laramore, C. R., & Scarpa, J. (2001). Effect of low salinity on growth and survival of postlarvae and juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(4), 385–392. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00464.x>
- Lemos, D., & Weissman, D. (2021). Moulting in the grow-out of farmed shrimp: A review. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 5–17. <https://doi.org/10.1111/raq.12461>
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q., & Qin, J. G. (2007). Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*, 265(1), 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.018>
- Li, E., Wang, X., Chen, K., Xu, C., Qin, J. G., & Chen, L. (2017). Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Reviews in Aquaculture*, 9(1), 57–75. <https://doi.org/10.1111/raq.12104>
- Liao, I. C., & Chien, Y.-H. (2011). The Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Asia: The world's most widely cultured alien crustacean. In B. S. Galil, P. F. Clark, & J. T. Carlton (Eds.), *In the wrong place—Alien marine crustaceans: distribution, biology and impacts* (pp. 489–519). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0591-3\\_17](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0591-3_17)
- Lin, L., Zhuo, H., Zhang, Y., Li, J., Zhou, X., Wu, G., Guo, C., & Liu, J. (2024). Effects of ammonia exposure and post-exposure recovery in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*:

Histological, physiological and molecular responses. *Aquatic Toxicology*, 277, 107–133. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107133>

Lin, Y.-C., & Chen, J.-C. (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224(1–4), 193–201. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00220-5)

Liste des opérations sélectionnées FEAMPA.pdf. (n.d.). Retrieved 4 July 2025, from <https://agriculture.wallonie.be/files/20182/170503/Liste%20des%20op%20c3%a9rations%20s%20c3%a9lectionn%20c3%a9es%20FEAMPA.pdf>

Liu, H., Zhang, X., Tan, B., Lin, Y., Chi, S., Dong, X., & Yang, Q. (2014). Effect of dietary potassium on growth, nitrogen metabolism, osmoregulation and immunity of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in low salinity seawater. *Journal of Ocean University of China*, 13(2), 311–320. <https://doi.org/10.1007/s11802-014-2118-3>

Luquet, G., & Marin, F. (2004). Biomineralisations in crustaceans: Storage strategies. *Comptes Rendus Palevol*, 3(6–7), 515–534. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.07.015>

McGraw, W. J., Davis, D. A., Teichert-Coddington, D., & Rouse, D. B. (2002). Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: Influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(1), 78–84. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00481.x>

Neto, I. A., Brandão, H., Furtado, P. S., & Wasielesky, W. (2019). Acute toxicity of nitrate in *Litopenaeus vannamei* juveniles at low salinity levels. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49(1). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180439>

Nguyen Van Cong. (2017). An overview of agricultural pollution in vietnam: The Aquaculture Sector. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.1596/29243>

Noguera-Muñoz, F. A., García García, B., Ponce-Palafox, J. T., Wicab-Gutierrez, O., Castillo-Vargasmachuca, S. G., & García García, J. (2021). Sustainability assessment of white shrimp (*Penaeus vannamei*) production in super-intensive system in the municipality of San Blas, Nayarit, Mexico. *Water*, 13(3), 304. <https://doi.org/10.3390/w13030304>

Nugraha, M. A. R., Dewi, N. R., Awaluddin, M., Widodo, A., Sumon, M. A. A., Jamal, M. T., & Santanumurti, M. B. (2023). Recirculating Aquaculture System (RAS) towards emerging whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) aquaculture. *International Aquatic Research* 15(1), 1–14. <https://doi.org/10.22034/iar.2023.1973316.1361>

Patkaew, S., Direkbusarakom, S., Hirano, I., Wuthisuthimethavee, S., Powtongsook, S., & Pooljun, C. (2024). Effect of supersaturated dissolved oxygen on growth-, survival-, and immune-related gene expression of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary World*, 50–58. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.50-58>

Perez-Velazquez, M., González-Félix, M. L., Jaimes-Bustamente, F., Martínez-Córdova, L. R., Trujillo-Villalba, D. A., & Davis, D. A. (2007). Investigation of the effects of salinity and dietary protein level on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

*Journal of the World Aquaculture Society*, 38(4), 475–485. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00121.x>

Pimentel, O. A. L. F., Schwarz, M. H., Van Senten, J., Wasielesky, W., Urick, S., Carvalho, A., McAlhaney, E., Clarington, J., & Krummenauer, D. (2025). The super-intensive culture of *Penaeus vannamei* in low salinity water: A comparative study among recirculating aquaculture system, biofloc, and synbiotic systems. *Aquaculture*, 596, 741774. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741774>

Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A., & Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 157(1–2), 107–115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00148-8)

Prangnell, D. I., Castro, L. F., Ali, A. S., Browdy, C. L., Zimba, P. V., Laramore, S. E., & Samocha, T. M. (2016). Some limiting factors in superintensive production of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in no-water-exchange, biofloc-dominated systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(3), 396–413. <https://doi.org/10.1111/jwas.12275>

Promwikorn, W., Boonyoung, P., & Kirirat, P. (2005). Histological characterization of cuticular depositions throughout the molting cycle of the black tiger shrimp. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27(3), 500–509.

Ramírez-Rochín, J., Frías-Espericueta, M. G., Fierro-Sañudo, J. F., Alarcón-Silvas, S. G., Fregoso-López, M. G., & Páez-Osuna, F. (2017). Acute toxicity of nitrite on white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles in low-salinity water. *Aquaculture Research*, 48(5), 2337–2343. <https://doi.org/10.1111/are.13069>

Ray, A. J., Drury, T. H., & Cecil, A. (2017). Comparing clear-water RAS and biofloc systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc nutritional contributions estimated using stable isotopes. *Aquacultural Engineering*, 77, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.02.002>

Richards, D. R., & Friess, D. A. (2016). Rates and drivers of mangrove deforestation in Southeast Asia, 2000–2012. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(2), 344–349. <https://doi.org/10.1073/pnas.1510272113>

Rocha, J., Garcia-Carreño, F. L., Muhlia-Almazán, A., Peregrino-Uriarte, A. B., Yépiz-Plascencia, G., & Córdova-Murueta, J. H. (2012). Cuticular chitin synthase and chitinase mRNA of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* during the molting cycle. *Aquaculture*, 330–333, 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.024>

Roer, R., & Dillaman, R. (1984). The structure and calcification of the crustacean cuticle. *American Zoologist*, 24(4), 893–909. <https://doi.org/10.1093/icb/24.4.893>

Romano, N., & Zeng, C. (2017). Cannibalism of decapod crustaceans and implications for their aquaculture: a review of its prevalence, influencing factors, and mitigating methods. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(1), 42–69. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1221379>



Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P., & Henry, R. P. (2007). Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. *Aquaculture*, 262(2–4), 461–469. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.011>

Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P., Boyd, C. A., Pine, H. J., & Boyd, C. E. (2010). Shrimp culture in inland low salinity waters. *Reviews in Aquaculture*, 2(4), 191–208. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01036.x>

Saoud, I. P., Davis, D. A., & Rouse, D. B. (2003). Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. *Aquaculture*, 217(1), 373–383. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00418-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00418-0)

Schuler, D. J., Boardman, G. D., Kuhn, D. D., & Flick, G. J. (2010). Acute toxicity of ammonia and nitrite to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(3), 438–446. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00385.x>

Su, J., Li, S., He, Z., Ma, Z., & Zhu, C. (2025). Effects of sulfate content and salinity on growth, oxygen consumption, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity, and hepatopancreas histopathology of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 43(4), 1350–1360. <https://doi.org/10.1007/s00343-024-4107-8>

Suguna, T. (2020). Application of Minerals in Low Saline Water Culture Systems of *L. vannamei*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(9), 516–521. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.065>

Sun, Y., Lu, J., Qiu, T., Zhou, L., Sun, J., & Du, Y. (2023). The dissolution of total suspended solids and treatment strategy of tailwater in a *Litopenaeus vannamei* recirculating aquaculture system. *Journal of Oceanology and Limnology*, 41(3), 1197–1205. <https://doi.org/10.1007/s00343-022-1405-x>

Supono, Nurdianti, L., & Fidyandini, H. P. (2023). Effect of different ratios of sodium and potassium on the growth and survival rate of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in freshwater. *AACL Bioflux*, 16(1), 128–134.

Tierney, T. W., & Ray, A. J. (2018). Comparing biofloc, clear-water, and hybrid nursery systems (Part I): Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and stable isotope dynamics. *Aquacultural Engineering*, 82, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.06.002>

Tintometer Group, (2025, mars), Méthodes manuel : Procédés analytiques pour l'analyse de l'eau et des eaux usées (No, 003864403) [Manuel de protocole], Lovibond®, [https://www.lovibond.com/usa-en/content-download/2688/file/003864403\\_-\\_Manuale\\_dei\\_Metodi\\_-\\_fr.pdf](https://www.lovibond.com/usa-en/content-download/2688/file/003864403_-_Manuale_dei_Metodi_-_fr.pdf)

Travis, D. F. (1963). Structural features of mineralization from tissue to macromolecular levels of organization in the decapod crustacea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 109(1), 177–245. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1963.tb13467.x>

Truong, H. H., Hines, B. M., Emerenciano, M. G., Blyth, D., Berry, S., Noble, T. H., Bourne, N. A., Wade, N., Rombenso, A. N., & Simon, C. J. (2023). Mineral nutrition in penaeid shrimp. *Reviews in Aquaculture*, 15(4), 1355–1373. <https://doi.org/10.1111/raq.12780>

Valenzuela Madrigal, I. E., Valenzuela Quiñónez, W., Esparza Leal, H. M., Rodríguez Quiroz, G., & Aragón Noriega, E. A. (2019). Efecto de la composición iónica sobre el crecimiento y la supervivencia de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* cultivado en agua de pozo de baja salinidad. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(1), 103–112. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000100008>

Wyban, J., Walsh, W. A., & Godin, D. M. (1995). Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 138(1–4), 267–279. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)00032-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)00032-1)

Xu, Y., Bajaj, M., Schneider, R., Grage, S. L., Ulrich, A. S., Winter, J., & Gallert, C. (2013). Transformation of the matrix structure of shrimp shells during bacterial deproteination and demineralization. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 90. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-90>

Yu, Q., Xie, J., Huang, M., Chen, C., Qian, D., Qin, J. G., Chen, L., Jia, Y., & Li, E. (2020). Growth and health responses to a long-term pH stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 16, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100280>

Zhang, R., Shi, X., Guo, J., Mao, X., & Fan, B. (2024). Acute stress response in gill of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high alkalinity. *Aquaculture*, 586, 740766. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.740766>

# Annexes

Annexe 1 : Présentation des caractéristiques du biofiltre X pro 2000, SuperFish

Annexe 2 : Méthodes et modèles utilisés pour les calculs et analyses statistiques

Annexe 3 : Cartographies élémentaires des cuticules de lames branchiostège de *P.vannamei*

Annexe 4 : Spectrométries EDS des échantillons

## Annexe 1 : Présentation des caractéristiques du biofiltre X pro 2000, SuperFish

Caractéristique	Valeur
Capacité de la pompe	2000 L/h
Puissance	30 Watts
Volume	17,3 Litres
Dimensions du filtre	29 x 29 x 40 cm
Plateaux	4x
Diamètre du tuyau	19/24 mm
Taille maximale de l'aquarium	600 Litres



## Annexe 2 : Méthodes et modèles utilisés pour les calculs et analyses statistiques

**A2.1 :** Méthode pour déterminer les formes alcalines présentes dans l'eau à partir de l'alcalinité-p et l'alcalinité-m (Tintometer Group, pp. 46-47).

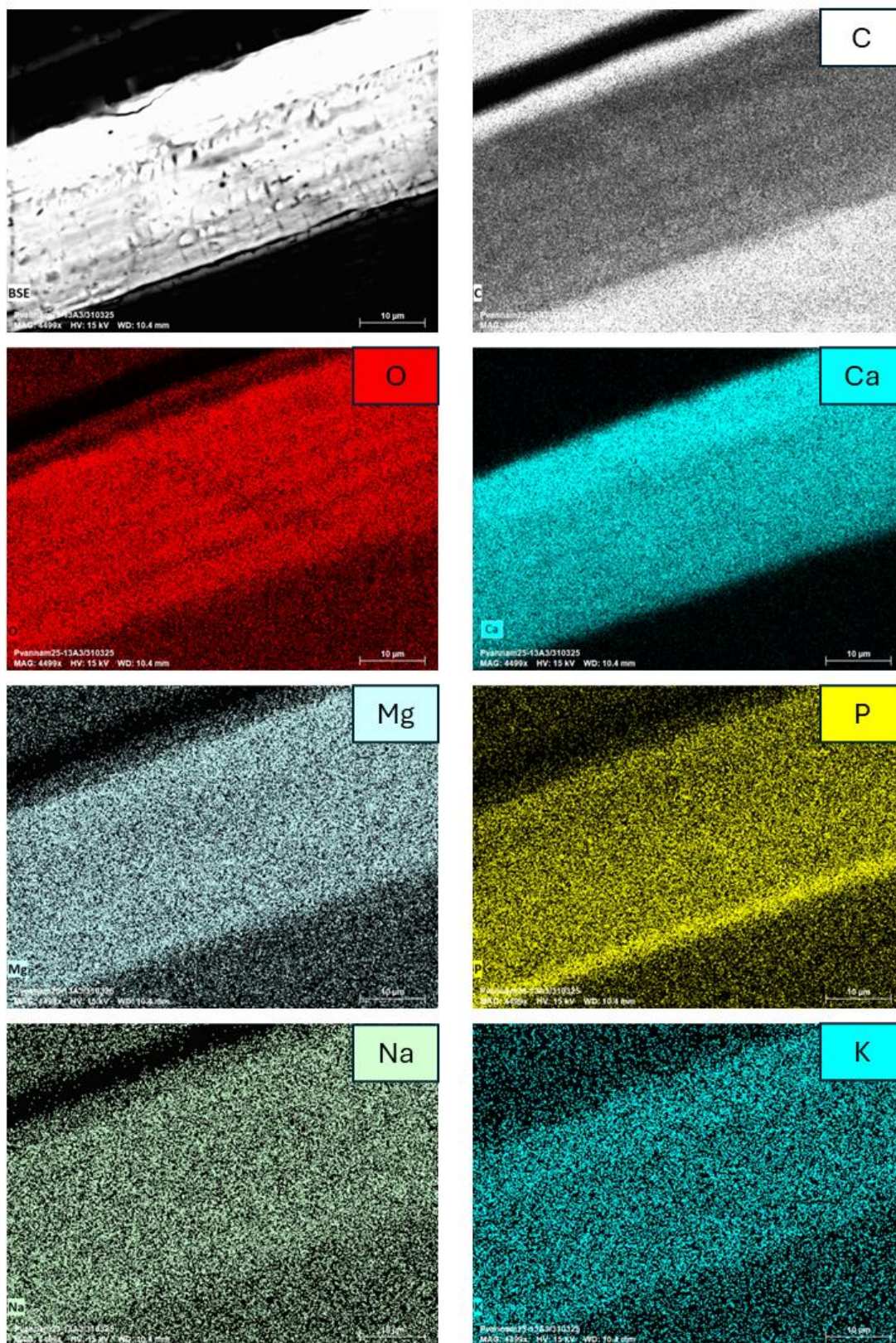
- Si l'alcalinité  $p = 0$  :
  - bicarbonates = m
  - carbonates = 0
  - hydroxydes = 0
- Si l'alcalinité  $p > 0$  et l'alcalinité  $m > 2p$  on a :
  - bicarbonates =  $m - 2p$
  - carbonates =  $2p$
  - hydroxydes = 0
- Si l'alcalinité  $p > 0$  et l'alcalinité  $m < 2p$  on a :
  - bicarbonates = 0
  - carbonates =  $2m - 2p$
  - hydroxydes =  $2p - m$

**A2.2 :** Modèles linéaires choisis pour illustrer l'effet de la salinité sur la croissance

Modèles linéaires	P-valeur salinité
Poids ~ salinité + temps + (1 Aquarium)	0,751
Gain de poids T2 ~ salinité	0,435
Gain de poids T1 ~ salinité	0,298
Longueur ~ salinité + temps + (1 Aquarium)	0,885
Gain de longueur T2 ~ salinité	0,417
Gain de longueur T1 ~ salinité	0,157
Surface ~ salinité + temps + (1 Aquarium)	0,994
Gain surface T2 ~ salinité	0,102
Gain surface T1 ~ salinité	0,199

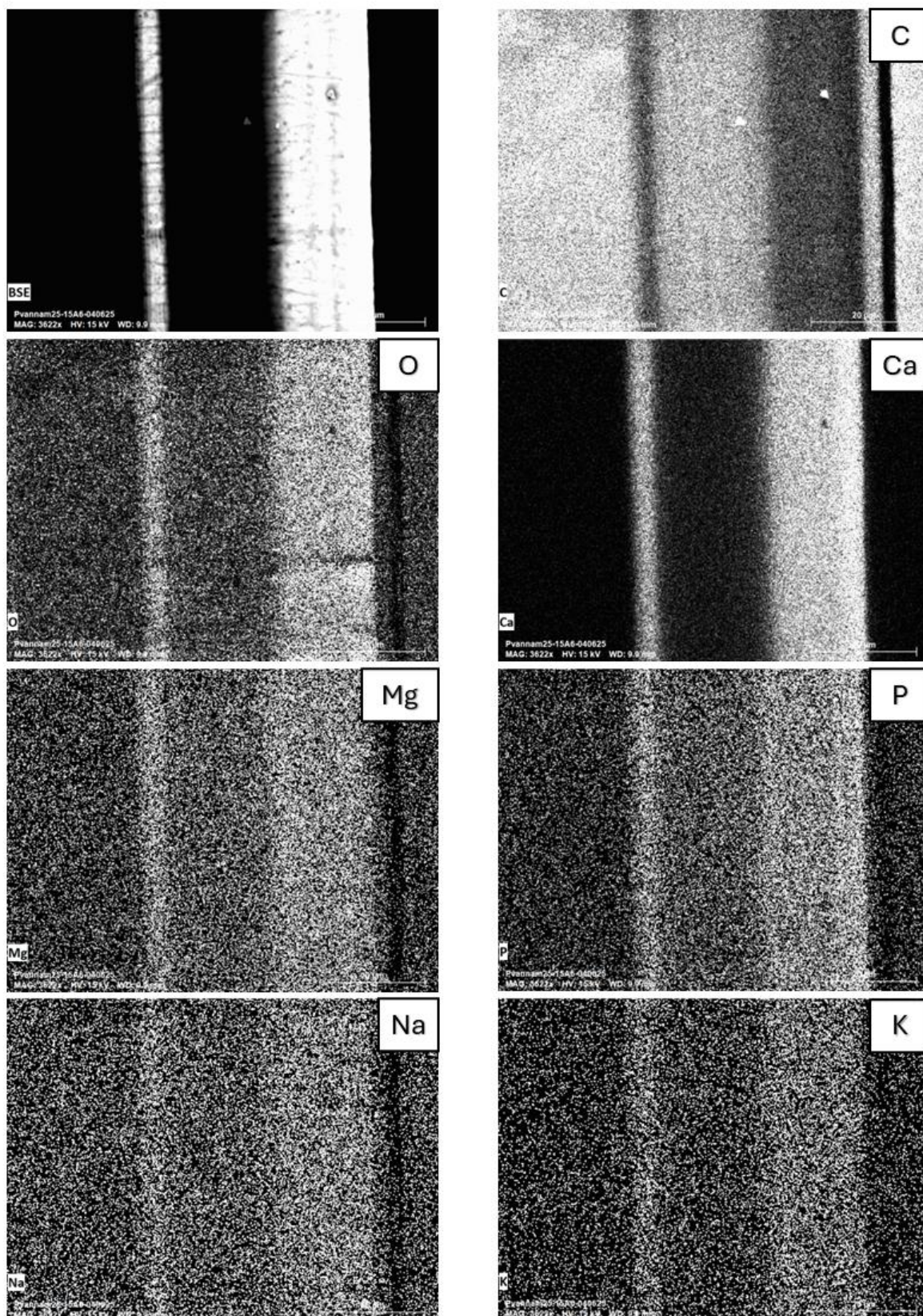
### Annexe 3 : Cartographie élémentaire des cuticules de lames branchiostège de *P.vannamei*

**A3.1 :** Cartographie élémentaire de la cuticule d'une lame branchiostège de *P. vannamei* au moment de la mise en charge des individus.





**A3.2** : Cartographie élémentaire de la cuticule d'une lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 5 g/L pendant 50 jours.





**A3.3** : Cartographie élémentaire de la cuticule d'une lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 10 g/L pendant 50 jours.

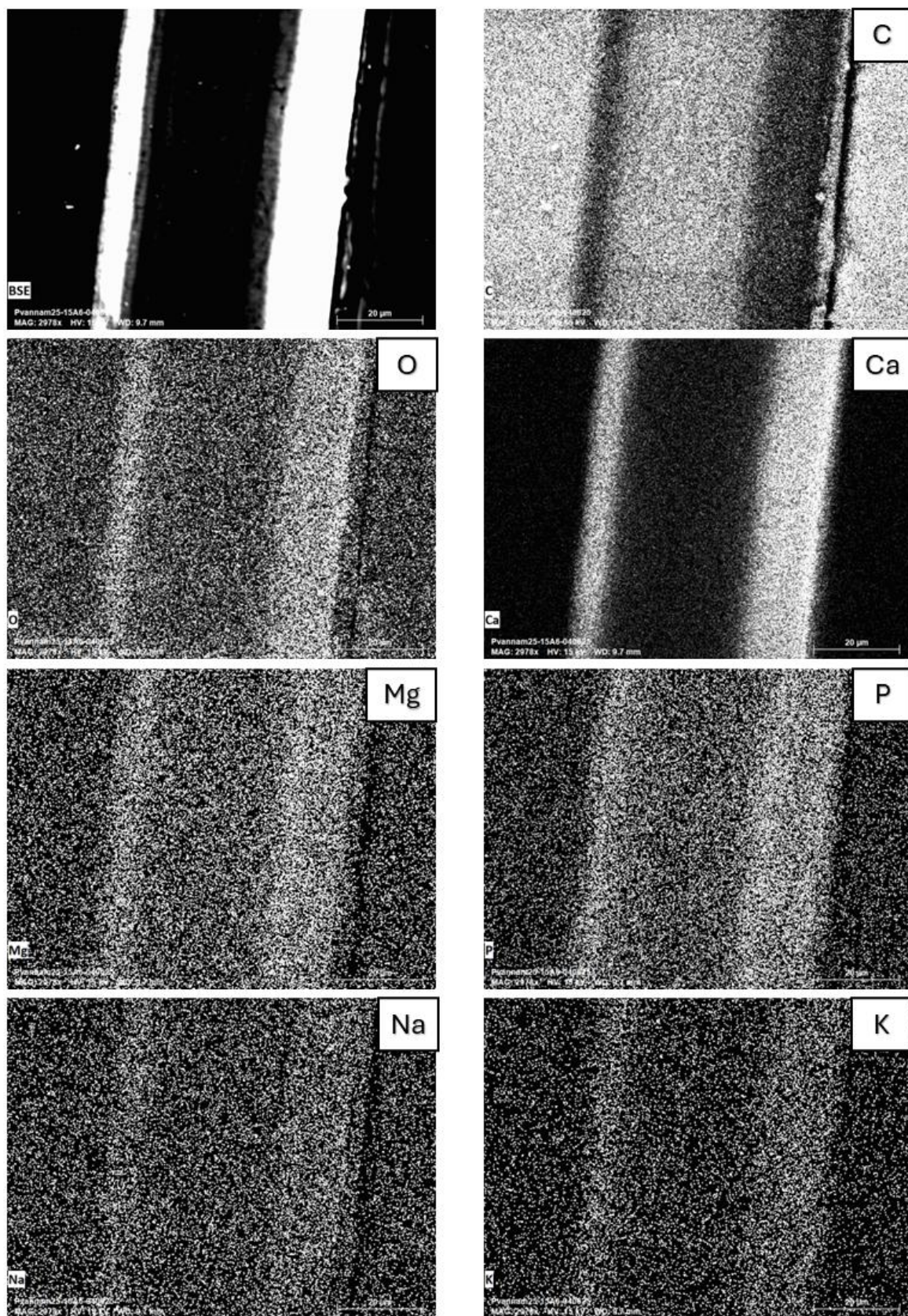
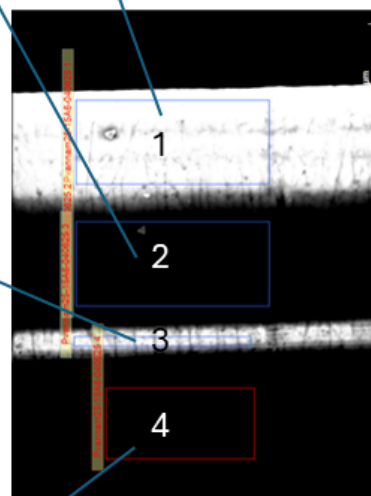
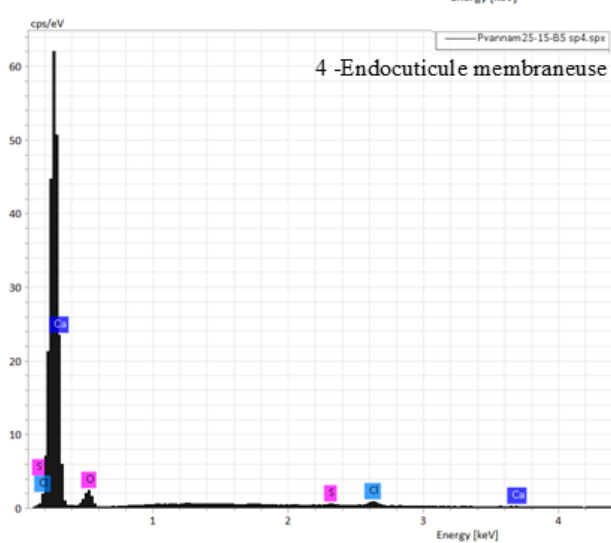
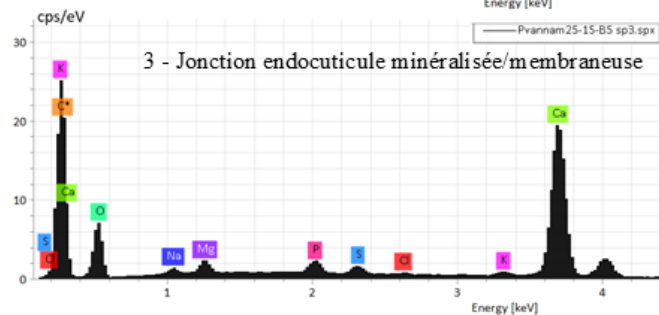
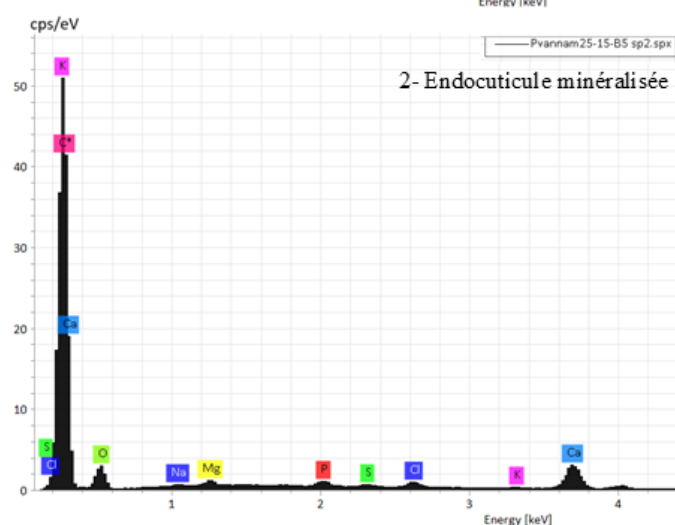
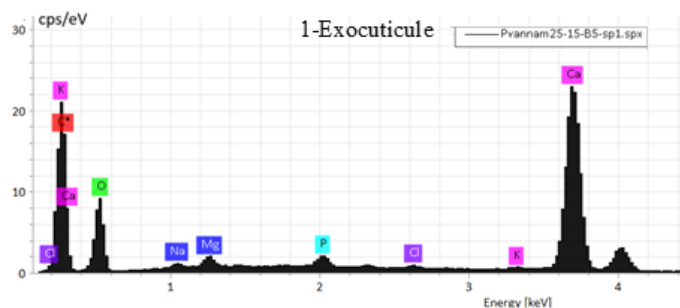




Figure 1 displays four EDS spectra and a central SEM image of the cuticle layers of a grasshopper. The SEM image shows four regions of interest labeled 1, 2, 3, and 4. The EDS spectra are as follows:

- 1-Exocuticle:** Shows peaks for C, O, Na, Mg, S, Cl, K, and Cu. The x-axis is Energy [keV] from 0 to 4, and the y-axis is cps/keV from 0 to 14.
- 2-Endocuticle minéralisée:** Shows peaks for C, O, Na, Mg, S, Cl, K, and Cu. The x-axis is Energy [keV] from 0 to 4, and the y-axis is cps/keV from 0 to 18.
- 3-Jonction endocuticle minéralisée/membraneuse:** Shows peaks for C, O, Na, Mg, S, Cl, K, and Cu. The x-axis is Energy [keV] from 0 to 4, and the y-axis is cps/keV from 0 to 18.
- 4-Endocuticle membraneuse:** Shows peaks for C, O, Na, Mg, S, Cl, K, and Cu. The x-axis is Energy [keV] from 0 to 4, and the y-axis is cps/keV from 0 to 18.

## A4.2 : Spectrométrie EDS d'une lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 5 g/L pendant 50 jours



**A4.3 : Spectrométrie EDS d'une lame branchiostège de *P.vannamei* élevée à une salinité de 10 g/L pendant 50 jours**

