



UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE
Paris, France

Thèse de Master
Année 2014-2015
Mention Sciences de l'Univers, Environnement, Ecologie
Spécialité Océanographie et Environnements Marins

Ecologie trophique et potentiel de
bioremédiation d'*Holothuria scabra* dans
le contexte de la crevetticulture en
Nouvelle-Calédonie

Margaux MATHIEU-RESUGE

Réalisé sous la responsabilité de Gauthier Schaal et Sébastien Hochard
Laboratoire des Sciences de L'Environnement MARin, plateforme LIPIDOCEAN



Ecologie trophique et potentiel de bioremédiation d'*Holothuria scabra* dans le contexte de la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie

Margaux MATHIEU-RESUGE

Mention SDUEE
Spécialité Océanographie et
Environnements Marins

Mémoire de Thèse de Master

Réalisé sous la responsabilité de Gauthier Schaal,
et Sébastien Hochard
Laboratoire des Sciences de L'Environnement MARin,
plateforme LIPIDOCEAN

Année

2014-2015

Remerciements

Je tiens dans un premier temps à remercier le directeur du LEMAR, Mr Ragueneau pour m'avoir accueillie au sein de son unité de recherche.

Je remercie Sébastien, Yves et Anne pour m'avoir fait participer au projet HOBICAL, pour nous avoir guidé dans ce monde des holothuries, et pour la confiance qu'ils nous ont accordée. Mais aussi pour votre disponibilité et vos conseils !

J'adresse mes plus grands remerciements à Fabi, Gauthier et Doudou. Merci pour votre confiance, votre encadrement. Travailler avec vous est stimulant et enrichissant. Merci pour votre patience, votre bonne humeur, mais surtout pour votre engagement à mon égard !

Je remercie Ludo, pour avoir partager avec moi toutes ces heures de labo, de chromato, d'analyses ... et les aléas qui y sont associés ! Etre deux n'a jamais été de trop !

Merci à Matthew Slater pour ses conseils et la bibliographie qu'il a pu nous fournir.

Un merci aux pongistes du LEMAR pour ces moments de rigolades. Et enfin, merci à mes collocs pour avoir partagé ces dernières aventures d'étudiantes !

Je remercie particulièrement, mes parents ainsi que mon frère, pour leur soutien et leur amour.

« Dieu a dit, dans la vie il y aura des durs il y aura des mous, et pour celui que sera petit et mou, ce sera très dur ! » Coluche.

Sommaire

Introduction	1
2. Matériel et méthodes	6
1. Dispositif expérimental	6
2. Echantillonnage	7
3. Travail de laboratoire.....	8
a. <i>Acides gras</i>	9
b. <i>Isotopes stables</i>	10
4. Statistiques	11
3. Résultats	12
1. Composition en acides gras et en isotopes stables des sources potentielles de nourriture de <i>H. scabra</i>	12
a. <i>Composition en acides gras des sources potentielles de nourriture</i>	12
b. <i>Composition isotopique des sources potentielles de nourriture</i>	14
2. Composition en acides gras de la fraction neutre des bandelettes musculaires de <i>H. scabra</i> soumis aux différents traitements	15
a. <i>Acides gras particuliers : dimethyl-acétals (DMA)</i>	15
b. <i>Ratio acides gras saturés / acides gras polyinsaturés</i>	16
c. <i>Acides gras spécifiques à H.scabra</i>	16
3. Evolution temporelle des compositions en acides gras et en isotopes des holothuries ayant subi le traitement « non enrichi ».....	17
a. <i>Composition en acides gras des bandelettes musculaires de H. scabra</i>	17
b. <i>Composition isotopique des bandelettes musculaires de H. scabra</i>	18
4. Effet de l'ajout des farines sur la composition en acides gras et en isotopes stables des holothuries.....	19
a. <i>Composition en acides gras des bandelettes musculaires ayant subi un traitement supplémenté de farine</i>	19
b. <i>Composition isotopique des bandelettes musculaires ayant subi un traitement supplémenté de farine</i>	21
5. Evolution temporelle de la composition en acide gras et en isotopes stables du sédiment pour les différents traitements.....	23
4. Discussion	25
5. Conclusions et perspectives	30
Bibliographie	32
Annexes	35

Liste des figures et tableaux

Figure 1 - Photographie de <i>Holothuria scabra</i> juvénile (gauche) et adulte (droite).	3
Figure 2 - Mésocosmes utilisés lors de l'expérience (station IFREMER de la baie de St Vincent).	7
Figure 3 – Photo d'une dissection de <i>H. scabra</i> , mettant en avant une bandelette musculaire	8
Figure 4 - Composition isotopique (moyennes \pm écart type) des sources potentielles de nourriture de <i>H. scabra</i> à T_{final}	14
Figure 5 - Evolution temporelle des diméthyl-acétals (moyenne \pm écart-type) de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction des différents traitements.....	15
Figure 6 - Rapport acides gras saturés/acides gras polyinsaturés (moyenne \pm écart-type) de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction du temps et des différents traitements.....	16
Figure 7 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, et des sources de nourriture potentielles (sédiment et biofilm) ayant subi le traitement "non enrichis", en fonction du temps.....	17
Figure 8 – Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne \pm écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "non enrichi", et des sources de nourriture potentielles (sédiment et biofilm).	18
Figure 9 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras, de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction du temps et des différents traitements.	20
Figure 10 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras, de la fraction polaire des bandelettes musculaires des holothuries en fonction du temps et des différents traitements.	21
Figure 11 - Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne \pm écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "Farine de Maïs", et des sources de nourriture potentielles (sédiment, farine de maïs et biofilm).	22
Figure 12 – Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne \pm écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "Farine de Poisson", et des sources de nourriture potentielles (sédiment, farine de maïs et biofilm).	23
Figure 13 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras du sédiment en fonction des différents traitements.	24
Tableau 1 – Principaux acides gras du sédiment (à T0 n=5 ; T2 n=3 ; Tf n=9) aux différents temps d'échantillonnage (en % massique du total des AG (moyenne \pm écart-type))	13

Tableau des abréviations et symboles

Symbole	Description	Unité
$\delta^{13}\text{C}$	Delta ^{13}C (ratio des isotopes stables $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)	‰
$\delta^{15}\text{N}$	Delta ^{15}N (ratio des isotopes stables $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)	‰
AG	Acides Gras	%
AMTI	Aquaculture Multi Trophique Intégrée	
BHT	Hydroxytoluène butyle	
CPG	Chromatographie en phase gazeuse	
DMA	Diméthyl-acétal	%
GC-c-IRMS	Gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry	
H_2SO_4	Acide sulfurique	
<i>H. scabra</i>	<i>Holothuria scabra</i>	
HOBICAL	Holothurie, lien entre performances de production et de bioremédiation dans le contexte de la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie	
IFREMER	Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER	
KW	Test de Kruskal-Wallis	
<i>L. stylirostris</i>	<i>Litopenaeus stylirostris</i>	
LIENSS	Laboratoire Littoral Environnement et Sociétés	
LN	Lipide Neutre	
LP	Lipide Polaire	
MDS	Ordination Multidimensionnelle	
MEAG	Méthyl-esters d'acide gras	
MUFA	Acides Gras Monoinsaturé	%
PERMANOVA	Analyse de la variance par permutation	
PUFA	Acide Gras Polyinsaturé	%
SFA	Acides Gras Saturé	%
T_0	Echantillonnage initial (avril et juin)	
T_1	Echantillonnage intermédiaire (juillet)	
T_2	Echantillonnage intermédiaire (septembre)	
T_{final}	Echantillonnage final (décembre)	
ZONECO	Zone Economique de Nouvelle-Calédonie	

Introduction

Les crustacés, dont les crevettes (Decapoda, Caridea et Penaeoidea), représentent l'une des ressources aquacoles à plus haute valeur économique (3,6% de la production mondiale en masse et 16,6% en valeur économique), (Tacon, 2003). Stimulés par une demande croissante de la part des pays occidentaux, ces systèmes de production se sont développés dans les pays tropicaux et sub-tropicaux et couvrent aujourd'hui entre 1 et 1,5 millions d'hectares de milieu côtier (Paez-Osuna, 2001), pour une production annuelle de 2,3 milliards de tonnes (Bostock *et al.*, 2010).

En Nouvelle Calédonie, la production de crevettes *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874) est la seconde filière d'exportation après le nickel (2000 tonnes.an⁻¹), (Lemonnier, 2007). L'île compte au total 19 fermes, majoritairement situées sur la côte ouest et couvrant plus de 650 hectares (Thomas *et al.*, 2010). Les fermes aquacoles locales sont implantées sur des tannes, zones sur-salées et nues d'arrière mangrove. La surface des bassins varie entre 4 et 11 hectares en fonction des fermes. Les éleveurs ensemencent leurs bassins à une densité comprise entre 18 et 35 animaux.m². Les élevages durent entre 5 et 7 mois, au terme desquels les crevettes atteignent un poids moyen compris entre 20 et 35g. Les rendements moyens obtenus sont compris entre 3 et 6 tonnes.ha⁻¹.an⁻¹ (Della Patrona et Brun, 2008).

Au cours des élevages, les nutriments, les détritiques organiques et les granulés non ingérés, tendent à s'accumuler sur le fond du bassin. Une accumulation excessive conduit à la détérioration du sédiment, ce qui est préjudiciable au bon fonctionnement de l'écosystème bassin. Les accumulations de matière organique se concentrent essentiellement dans les 5 premiers centimètres du sol (Lemonnier *et al.*, 2003). Le procédé d'asec, correspondant à une vidange totale du bassin afin d'exposer les sédiments superficiels à l'air, a pour but l'oxydation de la matière organique accumulée lors de l'élevage, précédant mais aussi l'élimination des prédateurs et des pathogènes. Il est recommandé de pratiquer un assec d'une durée d'un mois minimum à l'issue de chaque cycle de production de crevettes.

Dans le but de limiter la durée de ces périodes, durant lesquelles le système se régénère mais ne produit plus, il a été suggéré de se tourner vers la culture en alternance, visant à stimuler l'assainissement des sédiments crevetticoles tout en en tirant parti pour la croissance d'une autre espèce dépositrice, reprenant ainsi le concept d'aquaculture multi-trophique intégrée (Hussenot et Richard 2009).

Dans ce cadre, l'intégration d'*Holothuria scabra* (Jaeger, 1833), un échinoderme fouisseur aussi appelé Bêche de mer, au système de production crevetticole, représente une piste intéressante afin de limiter l'accumulation d'apports organiques sur le sédiment. En effet, Purcell (2004) a observé que 4 individus d'à peu près 1kg ont la capacité de déplacer environ 1dm³ de sédiment durant un cycle d'enfouissement diurne, avec en moyenne 1,6 (±1,3) g de sédiment ingéré par animal et par heure. Avec des taux d'ingestion élevés, cette espèce semble donc présenter de bonnes dispositions à la bioremédiation du sédiment. Bell *et al.*, (2007) ont montré que l'élevage simultanée de *L. stylirostris* et *H. scabra* était impossible, les holothuries subissant des dommages létaux liés à la prédation par les crevettes. D'autres alternatives sont cependant envisageables, comme celle de cultures en cascade et/ou en alternance.

Parallèlement, la production d'*H. scabra* en Nouvelle-Calédonie présente deux autres intérêts principaux. Tout d'abord, repeupler la population complètement décimée par la surpêche dans tout le bassin Indo-Pacifique, mais aussi, répondre à la demande croissante du marché asiatique (Giraspy *et al.*, 2010), où elle est une industrie à part entière. En effet, l'holothurie est considérée comme l'un des huit plats impériaux de la mer et présente une valeur nutritionnelle intéressante (taux de protéines > 55%), (Dharmananda, en ligne). Cet organisme peut également être valorisé dans le domaine de la santé puisqu'il serait pourvu de vertus médicinales. Effectivement, les holothuries contiennent de fortes teneurs en mucopolysaccharides (Dharmananda, en ligne) qui sont devenues des matières premières très recherchées pour l'industrie pharmaceutique. En plus d'avoir des propriétés anti coagulantes et anti inflammatoires, elles présenteraient des aptitudes thérapeutiques contre la maladie d'Alzheimer. Enfin, elles seraient un atout dans la recherche contre le sida (Howard, 2010).



Figure 1 - Photographie de *Holothuria scabra* juvénile (gauche) et adulte (droite). (© Maxime Millot)

Il en résulte une augmentation constante de son prix de vente, ce qui en fait une espèce très attractive sur le plan économique (Agudo, 2006). Il serait donc extrêmement intéressant pour la filière aquacole Calédonienne de pouvoir, en cultivant *H. scabra* sur du sédiment issu d'un élevage de crevettes, de répondre à une demande croissante du marché, tout en développant une nouvelle alternative de pêche. Cette alternative permettrait non seulement de faire croître les holothuries mais aussi de nettoyer les enclos de crevetticulture et en diminuer l'impact sur leur proche environnement comme les mangroves.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet « Holothurie, lien entre performances de production et de bioremédiation dans le contexte de la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie » (HOBICAL), financé par le programme ZoNéCo de l'agence de développement de la Nouvelle-Calédonie. Le but final est d'optimiser à la fois la croissance d'*H. scabra* et son potentiel de bioremédiation du sédiment, en comparant différentes sources alimentaires (farine de maïs, farine de poisson, ou environnement non enrichi). En particulier, il s'agit de mieux connaître son mode d'alimentation afin de préciser son action sur le sédiment et cela permettra ainsi de définir ses potentialités de bioremediation dans le cadre de la culture des crevettes. La capacité de bioremédiation, est définie par le fait de pouvoir assainir l'environnement afin que les vibrioses empêchant l'exploitation de *L. stylirostris* ne se développent pas.

La présente étude, se propose de définir l'écologie trophique d'*Holothuria scabra* et d'en caractériser son potentiel de bioremédiation, grâce à l'utilisation des acides gras (AG) et des isotopes stables du carbone (C) et de l'azote (N).

Les lipides sont des constituants essentiels de tous les êtres vivants, et ont de multiples rôles structuraux (constituants des membranes cellulaires) et fonctionnels (stockage énergétique, communication). Ces molécules, principalement composées d'acides gras, et caractérisées par leur absence de solubilité dans l'eau, se divisent en deux fractions sur la base de leur affinité avec certains solvants : les lipides neutres (LN) et les lipides polaires (LP). Les LP sont situés essentiellement dans les membranes cellulaires et ont un rôle structural et fonctionnel. Leur composition en AG est ajustée en fonction des besoins métaboliques de l'organisme et reflète donc l'état physiologique de l'individu, plutôt que son alimentation (Kraffe, 2003). Les LN sont des lipides dits de réserves, qui ont un rôle prépondérant dans le stockage d'énergie. Ils sont en général stockés suite à l'assimilation, dans une composition généralement proche de celle de la source de nourriture. La composition en AG de la fraction neutre des lipides d'un organisme reflète donc son alimentation, ce qui fait de ces composés d'intéressants traceurs trophiques (Parrish, 1999). De manière générale, les AG sont transférés de façon conservative dans le réseau trophique, permettant leur utilisation en tant que marqueurs trophiques (Budge *et al.*, 2006 ; Dalsgaard *et al.*, 2003).

Les isotopes stables sont des formes non radioactives d'un même élément chimique qui diffèrent par leur nombre de neutrons. Ils présentent la caractéristique de voir leurs abondances respectives ne varier que faiblement entre une source et son consommateur lors de l'alimentation (Fry, 2006). Cette variation, relativement prédictible, est appelée fractionnement isotopique, et est communément comprise entre 0 et 1‰ pour le carbone et entre 2 et 4‰ pour l'azote (McCutchan *et al.* 2003). De manière générale, les différentes sources de nourriture disponibles pour un consommateur présentent des compositions isotopiques différentes, cela permet, par comparaison directe, d'identifier celles qui contribuent le plus à l'alimentation du consommateur d'intérêt. Le traçage isotopique naturel présente donc un intérêt considérable pour l'étude de l'écologie trophique des organismes.

L'objectif de la présente étude est de pouvoir définir l'écologie trophique d' *H. scabra* dans un contexte en co-culture avec la crevetticulture, mais aussi son action de bioremédiation sur le sédiment. Pour cela, des mésocosmes implémentés en sédiment issus de crevetticulture ont subi trois traitements alimentaires (aucun enrichissement, enrichissement en farine de maïs, ou de farine de poisson) durant sept mois. Trois échantillonnages ont permis de tracer des profils de composition en acides gras et en isotopes stables (carbone et azote) de *H. scabra* ainsi que de ses sources alimentaires potentielles. Dans un premier temps, les biomarqueurs lipidiques et isotopiques permettront de caractériser les sources de nourriture assimilées par l'holothurie, suivant les différentes conditions. Ensuite, l'évolution des compositions sédimentaires permettra de démontrer l'impact de l'activité d'*H. scabra* sur la biorémédiation du sédiment.

2. Matériel et méthodes

1. Dispositif expérimental

Les expériences ont été réalisées dans la zone expérimentale IFREMER de la baie de St Vincent, près de la ville de Boulouparis, en Nouvelle-Calédonie.

Pour cette expérimentation, 16 mésocosmes de 1,72m² chacun, soit 1600L, fonctionnant en circuit ouvert ont été utilisés (figure 2). Alimentés en eau de mer filtrée sur filtre à sable à 250µm, l'eau a été renouvelée à raison de 30% par jour. Le sédiment des mésocosmes provenait d'un bassin d'élevage crevetticole semi-intensif. Ce sédiment a été prélevé en Avril, trois semaines après l'arrêt de l'élevage dans le bassin. Il est donc caractéristique d'un sédiment de fond de bassin en fin d'élevage (noir, odorant, et collant). Une hauteur de 5 à 10cm de sédiment a été prélevée puis homogénéisée et répartie dans les 16 mésocosmes afin d'obtenir une couche d'environ 25cm. Les mésocosmes ont ensuite été remplis d'eau de mer un mois avant introduction des animaux. Les holothuries ont été introduites dans 9 bacs début juin, à raison de 12 animaux par bac, soit une densité de 7 individus.m⁻². Le poids initial des holothuries était de 18,3g (± 3,5g).

Les 9 mésocosmes contenant des animaux ont été répartis entre trois traitements (Annexe 1 – Schéma des mésocosmes), avec 3 répliqués par traitement. Trois bacs contenaient des holothuries croissant sur sédiment crevetticole brut, trois autres sur du sédiment crevetticole avec ajout de farine de maïs et les trois derniers sur du sédiment crevetticole avec ajout de farine de poisson. Un mésocosme supplémentaire ne contenait pas d'animaux (témoin). Les farines étaient ajoutées deux fois par semaine.

Afin d'éviter tout biais associé à la disposition spatiale des mésocosmes, chaque bac a été assigné à un traitement expérimental de manière aléatoire (Annexe 2 – Tableau de résumé des différentes conditions expérimentales).



Figure 2 - Mésocosmes utilisés lors de l'expérience (station IFREMER de la baie de St Vincent). (© Maxime Millot)

2. Echantillonnage

L'échantillonnage s'est effectué sur plusieurs temps (T_0 , T_1 , T_2 et T_{final}) de prélèvement :

- T_0 (fin avril 2014) → prélèvement du sédiment
- T_0 (début juin 2014) → prélèvement des animaux et des farines
- T_1 (juillet 2014) → prélèvement du sédiment et des animaux, uniquement pour les analyses isotopiques
- T_2 (septembre 2014) → prélèvement du sédiment et des animaux
- T_{final} (décembre 2014) → prélèvement du sédiment, du biofilm, des farines, et des animaux

Du fait du nombre limité d'individus d'*H. scabra* disponibles (afin de ne pas ensemercer les bacs avec de trop fortes densités), seul un nombre limité d'individus a pu être prélevé à chaque échantillonnage. Cinq individus au total ont ainsi été prélevés à T_0 , avant leur disposition dans les mésocosmes. Un individu a été prélevé à T_1 et T_2 , et trois individus dans chaque bac à T_{final} . La densité d'holothuries avant le prélèvement final était de donc 10 animaux par bac, soit $5,8 \text{ individus.m}^{-2}$.

Après échantillonnage, les holothuries ont été stockées à -80°C . Les bandelettes musculaires ont ensuite été prélevées (figure 3) et stockées à -80°C .

Le sédiment a été échantillonné grâce à des carottes de 2,6 cm de diamètre, sur une profondeur de 2 cm. Pour chacun des temps, trois carottages par bac ont été prélevés et réunis, puis stockés à -80°C.

Le biofilm s'étant développé sur le fond et les parois des bacs, des échantillons représentatifs de ces biofilms ont été prélevés au temps T_{final} dans chacun des bacs et stockés de la même façon que les sédiments.

Des analyses lipidiques et isotopiques ont ensuite été réalisées sur ces trois types d'échantillons, ainsi que sur les farines ajoutées à certains mésocosmes.



Figure 3 – Photo d'une dissection de *H. scabra*, mettant en avant une bandelette musculaire (© H. Lemmonier)

3. Travail de laboratoire

Les manipulations concernant l'extraction lipidique ont été réalisées directement sur place après échantillonnage. Dans le cadre de ce stage, les séparations lipidiques, les transestérifications et les analyses des méthyls-esters d'acides gras ont été effectuées au laboratoire LEMAR, au sein de la plateforme LIPIDOCEAN. Les analyses concernant les isotopes stables ont été réalisées par le laboratoire Littoral Environnement et Sociétés (LIENSS) de La Rochelle.

a. Acides gras

Extraction lipidique, séparation des lipides neutres (LN) et polaires (LP) et transtérification

Une masse connue de bandelettes musculaires, entre 20 et 100mg, suivant le poids de l'animal, a été récupérée. Afin d'extraire les lipides suivant la méthode modifiée de Folch (1957), les bandelettes musculaires ont été broyées à l'aide d'un Dounce dans 5ml de chloroforme/méthanol (2:1 ; v/v). Après ajout d'hydroxytoluène butyle (BHT) comme antioxydant (0,01% massique), les extraits lipidiques ont été conservés à -20°C sous atmosphère d'azote. Le sédiment, le biofilm, et les farines ont aussi été extraits avec cette méthode.

Les lipides des bandelettes musculaires ont été séparés en deux fractions sur microcolonne de silice, suivant la méthode décrite par Marty *et al.*, (1992). Trois fois 500µl d'extrait lipidique sont placés en tête d'une microcolonne de silice (Silice 60A 63-200µm (70-230mesh)). Les LN sont élués avec 10ml de chloroforme/méthanol (98:2 ; v/v). Les LP sont eux élués avec 20ml de méthanol.

Après ajout de 2,3µg d'acide tricosanoïque comme étalon interne (C23:0), les fractions LN et LP sont soumises à une transtérification acide (Ichihara *et al.*, 2010). Pour ce faire, les fractions lipidiques sont évaporées à sec sous azote, reprises dans 800µl de H₂SO₄/méthanol (3,4% ; v/v) et chauffées au bain à sec à 100°C pendant 10min. Après refroidissement, il est ajouté 800µL d'héxane et 1,5ml d'eau distillée saturée en hexane. Les tubes sont homogénéisés et centrifugés (Eppendorf 5810R) à 1 000rpm durant 1min à 20°C. Ensuite la phase aqueuse (inférieure) est retirée, puis 1,5ml d'eau distillée est de nouveau ajouté, pour répéter deux fois cette étape de nettoyage.

Les méthyl-esters d'acide gras (MEAG) ainsi formés sont des composés analysables et quantifiables par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Pour les fractions non animales (sédiment, biofilm, et farines de maïs et de poisson), l'extrait a été directement transtérifié après ajout de 2,3µg d'étalon interne. Les étapes de lavages des MEAG ont été les mêmes que pour les bandelettes musculaires.

Analyse des méthyls-esters d'acides gras (MEAG) par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les MEAG sont analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Varian CP 8400, programmé en température et équipé d'un injecteur split-splitless et d'un détecteur à ionisation de flamme, avec de l'hydrogène comme gaz vecteur. Ils sont séparés parallèlement sur deux colonnes, l'une polaire, ZBWAX (30m x 0,25mm ID ; 0,2µm epf), et l'autre apolaire, ZB5HT (30m x 0,25mm ID ; 0,2µm epf).

L'analyse simultanée sur deux colonnes permet d'identifier clairement certains composés qui peuvent être co-élus sur l'une des deux colonnes, étant donné la grande diversité d'AG présents dans les lipides marins.

Les chromatogrammes obtenus sont analysés à l'aide du logiciel Galaxie (version 1.9.3.2). Les AG sont identifiés par comparaison de leur temps de rétention avec ceux de standards commerciaux, et d'autres espèces des bivalves et de microalgues (Soudant *et al.*, 1995) et quantifiés par rapport à l'étalon interne.

Dans le cadre de ce rapport, les AG sont présentés selon la terminologie courante sous la forme x:yn-z, dans laquelle x représente le nombre d'atomes de carbone du composé, y le nombre d'insaturations présentes sur la chaîne carbonée et z la position de la première insaturation à partir du carbone terminal. Les données sont présentées en pourcentage massique de chaque AG par rapport au total des AG.

b. Isotopes stables

Après prélèvement, les échantillons de bandelettes musculaires des holothuries ont été conservés à -20°C, lyophilisés pendant 24h, broyés dans un mortier en agathe, puis placés dans des capsules en étain. Les sédiments, le biofilm, et les farines ont été passés à l'étuve à 60°C, puis encapsulés et envoyés à la Rochelle.

Les échantillons ont été analysés au laboratoire LIENSS de La Rochelle, par un analyseur élémentaire (Flash EA 1112, Thermo Scientific, Milan, Italy) couplé à un spectromètre de masse de ratio isotopique (Delta V Advantage avec une interface Conflo IV, thermo Scintific, Bremen, Germany).

Les résultats sont exprimés en δ en fonction de standards (Vienna Pee Dee Belemnite pour le $\delta^{13}\text{C}$ et de l'Azote atmosphérique pour le $\delta^{15}\text{N}$, suivant la formule :

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} = \left[\left(\frac{\text{Sample}}{\text{Standard}} \right) - 1 \right] * 10^{-3} \text{ et où R est } {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ ou } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}.$$

L'étalonnage du gaz de référence a été fait en utilisant les matériaux suivant : USGS-24, IAEA-CH6, IAEA-600 pour le carbone, et IAEA-N1, IAEA-N2, IAEA-N3, IAEA-600 pour l'azote. La précision analytique est basée sur les valeurs des isotopes de l'acétanilide (Thermo Scientific), elle est < 0,1‰ à la fois pour le carbone et pour l'azote.

4. Statistiques

Les analyses statistiques ainsi que la plupart des graphiques présents dans cette étude ont été réalisées à l'aide du langage de programmation libre RStudio (Version 0.98.1091). Pour chaque test établi, seuls les AG présentant une proportion massique moyenne supérieure à 1% du total des AG, dans au moins un échantillon ont été pris en compte.

Les effets des différents traitements, ainsi que du temps, sur la composition en acides gras (proportions massiques de chaque AG par rapport au total des AG) des deux fractions (neutre et polaire) pour les holothuries et des AG totaux pour le sédiment ont été testés grâce à des analyses de variance par permutation (PERMANOVA).

Pour chacune de ces compositions en AG, les données ont été représentées graphiquement par des ordinations multidimensionnelles (MDS).

Les rapports isotopiques des holothuries, et de ses sources potentielles de nourriture (sédiment, biofilm, et farines) ont été comparés à l'aide de tests de Kruskal-Wallis (KW) puis de tests post-hoc afin d'identifier les hétérogénéités. Cela a été réalisé tout d'abord en comparant l'effet du traitement sur le $\delta^{13}\text{C}$ puis sur le $\delta^{15}\text{N}$, puis en comparant l'effet du temps sur chaque traitement et pour les deux rapports isotopiques.

3. Résultats

1. Composition en acides gras et en isotopes stables des sources potentielles de nourriture de *H. scabra*

a. Composition en acides gras des sources potentielles de nourriture

Sédiment

Tout au long de l'expérience, le sédiment est caractérisé par une composition en AG dominée par les acides gras saturés (SFA), avec des valeurs allant de 41,0 à 47,0% (tableau1), devant les monoinsaturés (MUFA) qui sont présents de 21,6 à 25,9%. Il y a aussi présence de SFA particuliers dits branchés (de 6,1 à 12,4%) ainsi que de polyinsaturés (PUFA) qui sont faiblement représentés (de 4,5 à 9,2%). Aux échantillonnages suivants, ces principales classes d'AG se retrouvent dans des proportions relativement proches.

Biofilm

Le biofilm, qui est la seconde source de nourriture potentielle d'*H. scabra*, présente une composition moyenne (en fonction des traitements) dominée par les SFA (37%) suivis des PUFA (26,4 %), et enfin des MUFA (24,5 %). Les AG branchés sont très faiblement représentés en comparaison du sédiment (1,9 %). Le 16:0 a des valeurs comprises entre 25 et 27,1 % (Annexe 3 - Tableau des principaux acides gras de la fraction du Biofilm et des farines).

Les MUFA les plus abondants sont : le 16:1n-7 avec des valeurs comprises entre 10,2% et 12,6% ; et le 18:1n-7 avec des valeurs allant de 2,4% à 3,7%. Les PUFA les plus abondants sont : le 20:5n-3 (de 7,6 à 10,5%), le 18:4n-3 (de 4,4 à 5,9%) ainsi que le 20:4n-6 (de 3,2 à 4,3%) et le 18:3n-3 (de 1,6 à 4,2%).

Farines

Les farines ont des compositions en AG très différentes. Alors que celle de maïs est principalement composée de 18:2n-6 à environ 38%, de 18:1n-9 (26,5%), et de 16:0 (17,7%), la farine de poisson est majoritairement composé de 16:0 (22,0%), de 18:1n-9 (7,7%), ainsi que des PUFA comme le 20:5n-3 à hauteur de 14,8%, et de 22:6n-3 à hauteur de 11,1% (Annexe 3 - Tableau des principaux acides gras de la fraction du Biofilm et des farines).

Tableau 1 – Principaux acides gras du sédiment (à T0 n=5 ; T2 n=3 ; Tf n=9) aux différents temps d'échantillonnage (en % massique du total des AG (moyenne ± écart-type))

Traitement	Sédiment								
	T ₀	T ₂				T _{Final}			
		Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson	Témoin	Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson	Témoin
Branchés	6,7 ± 1,9	10,2 ± 1,1	6,1 ± 0,8	8,6 ± 2,8	12,0	11,8 ± 0,9	8,2 ± 2,3	12,4 ± 2,0	6,7
14:0	5,6 ± 0,5	4,8 ± 0,5	4,3 ± 0,7	5,9 ± 0,6	5,3	5,0 ± 0,8	5,3 ± 1,6	6,5 ± 1,0	4,9
15:0	8,7 ± 2,5	9,5 ± 2,1	15,9 ± 5,3	6,7 ± 4,2	5,3	7,2 ± 3,1	14,0 ± 7,8	3,8 ± 1,2	11,3
16:0	22,6 ± 1,3	16,2 ± 0,8	14,8 ± 1,2	19,7 ± 1,4	17,5	16,9 ± 1,5	15,8 ± 3,2	18,2 ± 0,7	19,7
17:0	2,8 ± 0,4	2,8 ± 0,3	2,2 ± 0,2	1,8 ± 0,6	2,6	2,8 ± 0,1	2,4 ± 0,9	2,6 ± 0,4	3,3
18:0	2,9 ± 0,7	2,6 ± 0,7	3,1 ± 0,6	4,8 ± 1,5	4,2	4,6 ± 1,1	4,9 ± 3,9	4,6 ± 0,3	3,3
19:0	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,3	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,5
20:0	0,9 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,6	1,6 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,4 ± 0,5	1,3
22:0	1,1 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,6	0,7 ± 0,2	1,7	1,6 ± 0,3	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,7	1,1
24:0	2,1 ± 0,8	3,0 ± 0,7	2,8 ± 1,5	0,9 ± 0,8	3,6	3,6 ± 0,7	1,9 ± 0,6	2,5 ± 1,6	2,0
ΣSFA	46,9 ± 2,2	41,9 ± 1,6	45,8 ± 2,5	41,7 ± 2,4	42,1	43,6 ± 1,4	47,0 ± 2,5	41,0 ± 1,6	47,4
16:1n-9	1,3 ± 0,8	2,1 ± 0,9	0,6 ± 0,2	1,4 ± 0,4	1,5	1,9 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,3	1,1
16:1n-7	11,6 ± 1,8	7,0 ± 1,1	6,0 ± 0,5	7,6 ± 0,6	6,7	5,2 ± 0,8	6,0 ± 2,4	7,3 ± 1,7	7,3
16:1n-5	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,3	1,2 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,8
17:1n-8	4,8 ± 1,2	5,3 ± 1,6	9,6 ± 2,8	3,1 ± 1,8	2,8	3,6 ± 1,7	7,1 ± 4,3	1,8 ± 0,7	5,0
18:1n-9	2,7 ± 1,0	3,1 ± 0,4	2,4 ± 0,4	4,9 ± 3,5	3,9	3,8 ± 1,2	2,7 ± 0,6	4,4 ± 0,3	3,3
18:1n-7	3,9 ± 1,0	4,9 ± 0,6	4,4 ± 0,5	6,8 ± 1,8	5,8	5,1 ± 0,9	4,7 ± 1,1	8,2 ± 1,8	4,3
20:1n-11	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,5	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,7 ± 0,6	0,4
22:1n-7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0
23:1n-9	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,1
24:1n-9	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1
ΣMUFA	25,9 ± 3,3	24,2 ± 1,4	24,4 ± 2,9	25,4 ± 3,7	23,0	21,6 ± 2,3	23,3 ± 0,7	25,7 ± 3,6	22,5
18:2n-6	1,1 ± 0,9	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,7	3,0 ± 3,9	1,1	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,6 ± 0,8	0,8
18:3n-3	0,7 ± 0,4	0,8 ± 0,3	3,4 ± 5,3	1,1 ± 0,4	1,3	1,3 ± 0,3	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,3	0,8
18:4n-3	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,4	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,5	0,6 ± 0,3	0,7
20:3n-3	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,7	0,8 ± 0,5	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,3	0,3
20:4n-6	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,3	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,5	0,3 ± 0,1	1,6
20:5n-3	1,3 ± 0,7	1,3 ± 0,7	1,5 ± 0,4	1,7 ± 1,5	0,2	0,7 ± 0,1	1,3 ± 1,2	0,1 ± 0,1	1,8
22:6n-3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,8	0,2	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1
ΣPUFA	5,6 ± 1,4	5,7 ± 1,6	8,6 ± 6,4	9,2 ± 6,0	4,5	5,7 ± 0,5	5,8 ± 2,2	4,8 ± 0,4	6,5

b. Composition isotopique des sources potentielles de nourriture

La composition isotopique du sédiment ne montre aucune variation significative entre les traitements, ni par rapport au temps (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05). Les sédiments ont en moyenne un $\delta^{13}\text{C}$ et un $\delta^{15}\text{N}$ respectivement de $-17,1\text{‰}$ et $7,2\text{‰}$ à T_0 et de $-15,8\text{‰}$ et $7,2\text{‰}$ à T_{final} (figure 4).

Le biofilm a des valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ et en $\delta^{15}\text{N}$ respectivement égales à $-3,4\text{‰}$ et $0,5\text{‰}$ pour le traitement « non enrichi ». Le traitement « farine de maïs » a lui des valeurs égales à $-8,5\text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et à $1,4\text{‰}$ pour le $\delta^{15}\text{N}$. Quant au biofilm mesuré pour le traitement « farine de poisson », il a des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et un $\delta^{15}\text{N}$ égales à -9‰ et $8,5\text{‰}$. Ces sources se différencient nettement par leur $\delta^{15}\text{N}$. En effet, le biofilm « farine de poisson » est le plus enrichi en ^{15}N , avec des valeurs nettement plus élevées que pour le biofilm « farine de maïs », et encore plus que celles du biofilm « non enrichi ». A l'inverse, la source la plus enrichie en ^{15}N , est la plus pauvre en ^{13}C .

Les farines de poissons sont caractérisées par des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{15}\text{N}$ égales à $-16,8\text{‰}$ et $11,6\text{‰}$, respectivement. La farine de maïs a des valeurs égales à $-12,5\text{‰}$ et $4,6\text{‰}$. Globalement, la farine de poisson est plus enrichie en ^{15}N , le $\delta^{15}\text{N}$ présentant un écart de 7‰ . Inversement, c'est la farine de maïs qui est la plus riche en ^{13}C (le $\delta^{13}\text{C}$ révélant un écart de $4,3\text{‰}$).

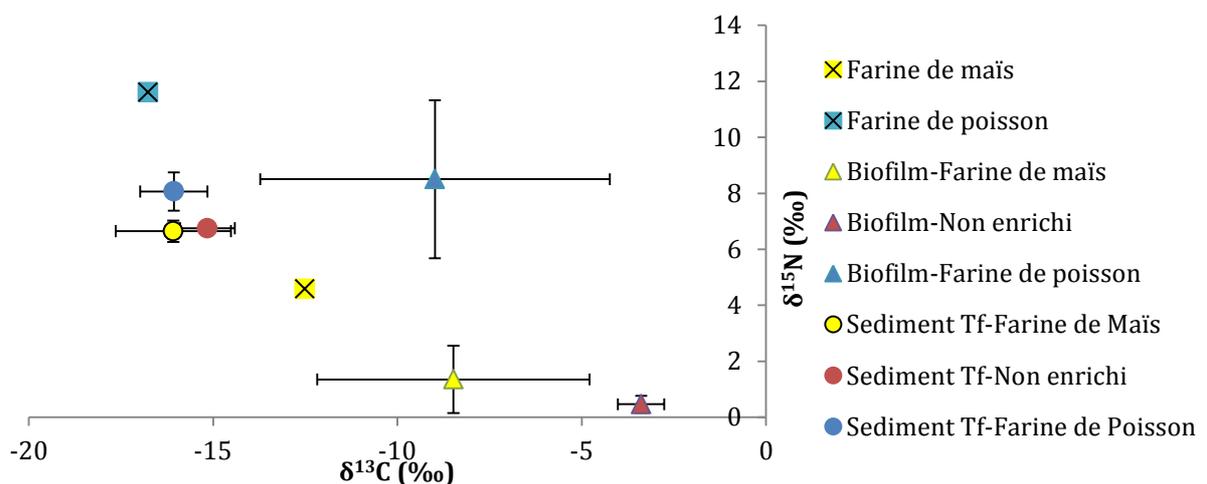


Figure 4 - Composition isotopique (moyennes \pm écart type) des sources potentielles de nourriture de *H. scabra* à T_{final} . De façon globale, le traitement « non enrichi » est représenté en rouge, le « farine de maïs » en jaune, et le « farine de poisson » en bleu. Le sédiment apparaît sous forme de cercle. Le biofilm est représentés par des triangles, et les farines de maïs et poisson apparaissent sous la forme de croix.

2. Composition en acides gras de la fraction neutre des bandelettes musculaires de *H. scabra* soumis aux différents traitements

a. Acides gras particuliers : diméthyl-acétals (DMA)

Les holothuries introduites dans les mésocosmes à T_0 se caractérisent par de fortes teneurs en diméthyl-acétals (DMA), à hauteur de 30% de la totalité des AG. Cette teneur diminue ensuite au cours du temps pour l'ensemble des traitements, sans différence entre les traitements (KW test puis post-hoc ; p -value > 0,05) (figure 5). Un second test post-hoc montre une composition significativement différente entre T_0 et T_{final} (p -value < 0,05). En revanche elle n'est pas significativement différente entre T_2 et T_{final} (p -value > 0,05), et entre T_0 et T_2 (p -value > 0,05). Les incertitudes liées à l'origine (trophique et/ou métabolique) de ces composés nous ont amené à ne pas les prendre en compte pour le reste de l'analyse (cf discussion). En conséquence, les différentes compositions en AG présentées dans le cadre de ce rapport ne prennent pas en compte les DMA.

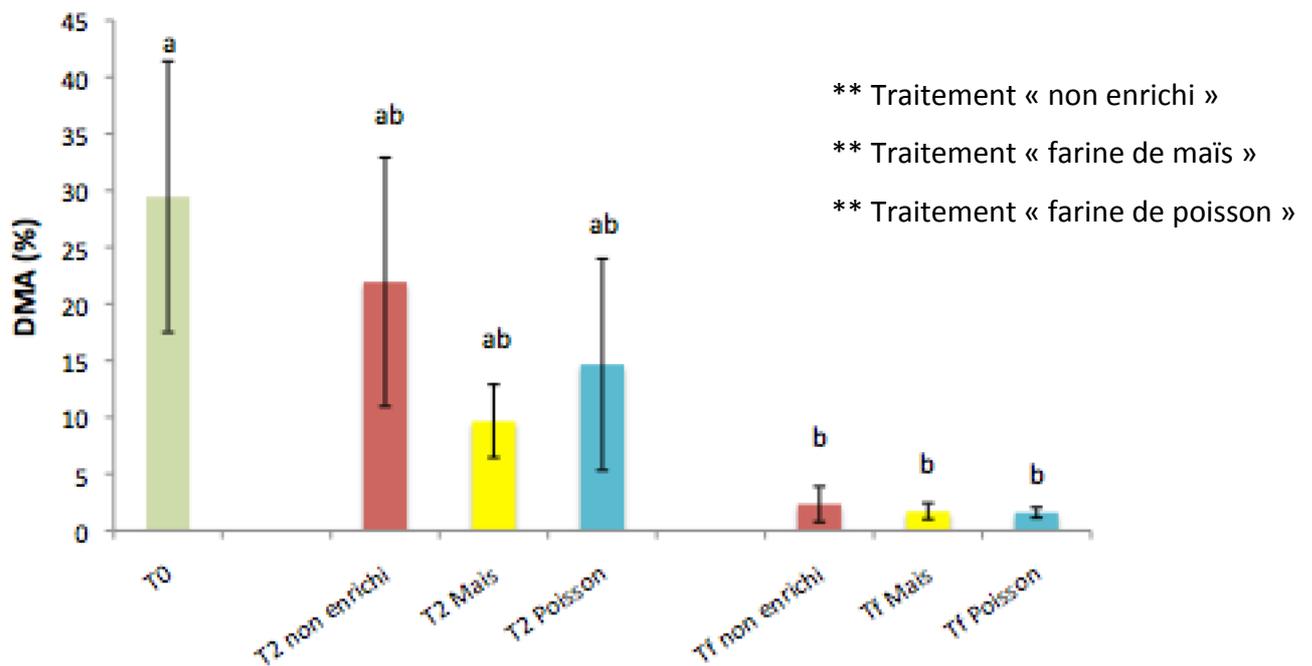


Figure 5 - Evolution temporelle des diméthyl-acétals (moyenne \pm écart-type) de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction des différents traitements. TEST : composition en DMA en fonction du temps, à T_0 $n=5$, T_2 $n=3$, T_f $n=9$; test de Kruskal-Wallis, valeur de P : ***<0,001 ; ** < 0,01 ; * < 0,05, les lettres indiquent des résultats significativement différents d'après le test *post-hoc*.

b. Ratio acides gras saturés / acides gras polyinsaturés

L'évolution du rapport AG polyinsaturés sur saturés (PUFA/SFA) de la fraction neutre des holothuries ne montre pas de différence significative entre les traitements, ni au cours du temps (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05), cependant on peut observer des variations (figure 6). En effet, pour les trois conditions il y a une augmentation entre T₀ et T₂, mais le rapport stagne ou diminue de T₂ à T_{final}.

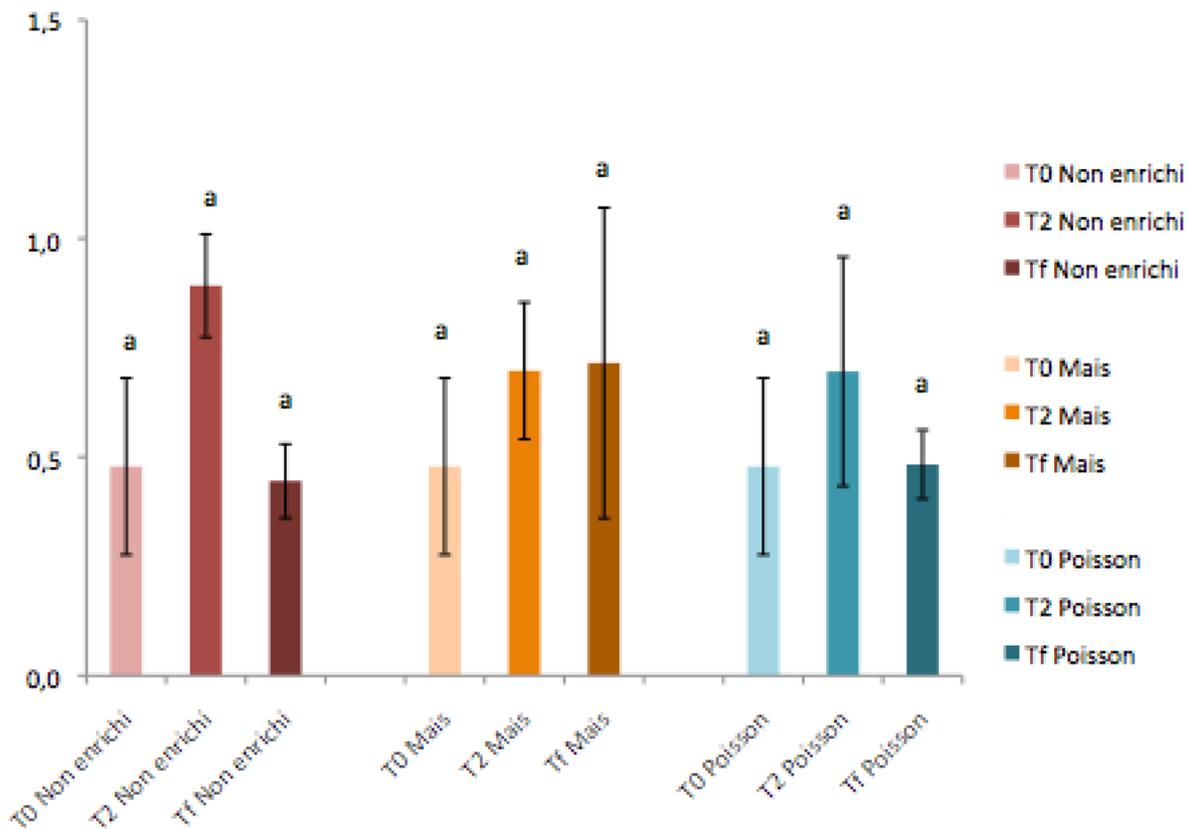


Figure 6 - Rapport acides gras saturés/acides gras polyinsaturés (moyenne ± écart-type) de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction du temps et des différents traitements. TEST : rapport PUFA/SFA en fonction du temps, à T0 n=5, T2 n=3, Tf n=9 ; test de Kruskal-Wallis, valeur de P : ***<0,001 ; ** < 0,01 ; * < 0,05, les lettres indiquent des résultats significativement différents d'après le test *post-hoc*.

c. Acides gras spécifiques à *H.scabra*

Dans la fraction neutre, les AG saturés (SFA) sont majoritaires avec des valeurs comprises entre 31 et 45,2% (Annexe 4 - Tableau des principaux acides gras de la fraction des lipides neutres) devant les AG MUFA ayant des valeurs allant de 21,2 à 31,8%, et enfin les PUFA qui ont des valeurs de 14,0 à 26,9%. Les branchés sont présents de 1,6 à 7,5% dans cette fraction.

Au cours du temps, les proportions d'AG fluctuent, mais certains AG sont principalement retrouvés dans chacun des traitements. Pour les SFA, il est relevé une large dominance du 16:0 avec des valeurs comprises entre 7,9 et 13,7% et du 18:0 (de 7,3 à 17,7%). Les MUFA sont principalement représentés par les AG 18:1n-9 avec des valeurs comprises entre 3,9 et 7,7%, le 16:1n-5 de 0,2 à 5,6%, et le 24:1n-9 de 3,1 à 4,7%. Au sein des PUFA, ce sont les AG 20:4n-6 et 20:5n-3 qui se distinguent à T₂ et T_{final}.

3. Evolution temporelle des compositions en acides gras et en isotopes des holothuries ayant subi le traitement « non enrichi »

a. Composition en acides gras des bandelettes musculaires de *H. scabra*

La figure 7 représente une ordination multidimensionnelle (MDS) réalisée sur la composition en AG de la fraction neutre des échantillons d'holothuries n'ayant pas subi d'ajout de farine (« non enrichis ») dans les mésocosmes, ainsi que de leurs sources potentielles (i.e. biofilm et sédiment).

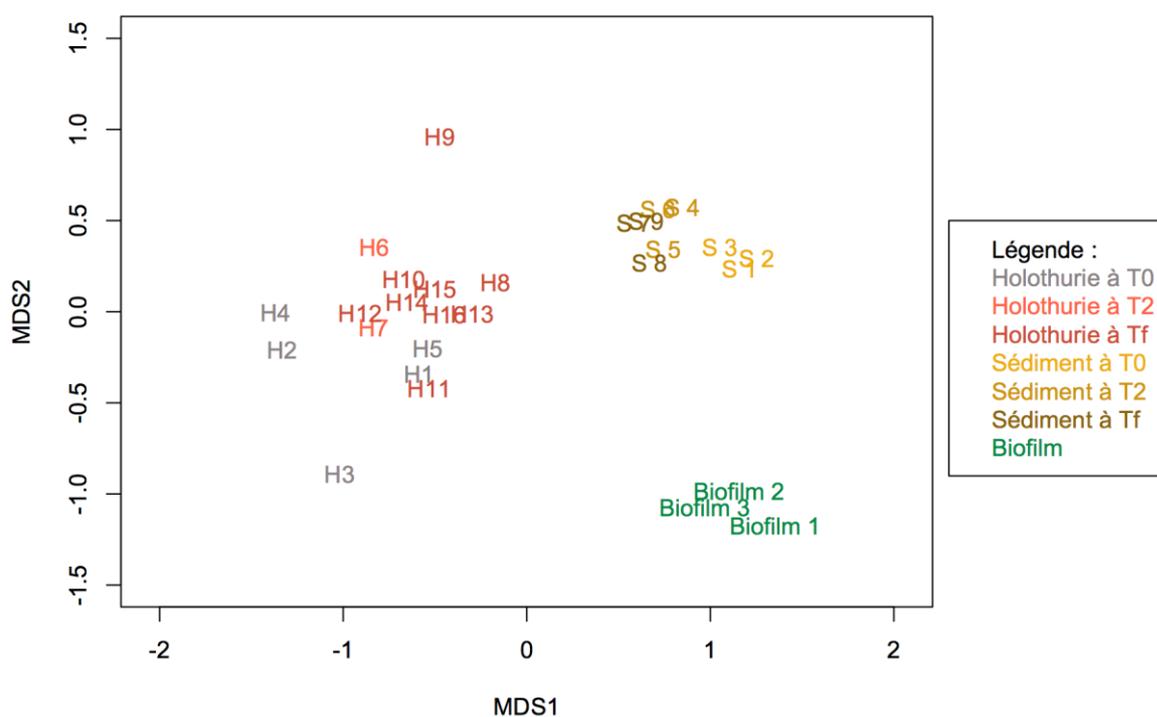


Figure 7 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, et des sources de nourriture potentielles (sédiment et biofilm) ayant subi le traitement "non enrichi", en fonction du temps. MDS réalisée avec une distance euclidienne, représentant les deux premiers axes. H=holothuries, S=sédiment, Biofilm=biofilm. Les holothuries du temps initial sont représentées en gris, celles de T₂ en orange, et

celles du T_{final} en rouge. Le sédiment est représenté dans un dégradé du jaune au marron, et le biofilm est en vert.

On constate une évolution de la composition en AG des holothuries dans le temps, la composition des échantillons de T_{final} tendant à se rapprocher de celle du sédiment et du biofilm.

Au temps initial, les principaux AG sont majoritairement des SFA (environ 13,7% de 16:0, et 17,7% de 18:0) et des MUFA (environ 5,6% de 16:1n-5 et 5,7% de 18:1n-9). Au temps intermédiaire, il y a une forte augmentation du 20:4n-6 (environ plus 8% par rapport à T_0), comme pour le 20:5n-3 (environ plus 4%). A la fin de l'expérience, la fraction neutre des holothuries comprend toujours une part importante de SFA (11,5% de 16:0, et 11,5% de 18:0) ainsi que de MUFA (18:1n-9 présent à 4,2%), mais les PUFA 20:4n-6 et 20:5n-3 rediminuent de moitié (6,4% et 4,7%, respectivement).

b. Composition isotopique des bandelettes musculaires de *H. scabra*

L'évolution au cours du temps de la composition isotopique des holothuries montre un enrichissement progressif et significatif, bien que léger, en ^{13}C et en ^{15}N (KW test puis post-hoc ; p-value < 0,05) (figure 8). Il se fait depuis des valeurs initiales de -13,2‰ en $\delta^{13}\text{C}$ et de 6,3‰ en $\delta^{15}\text{N}$, vers des valeurs de -11‰ et de 7,6‰.

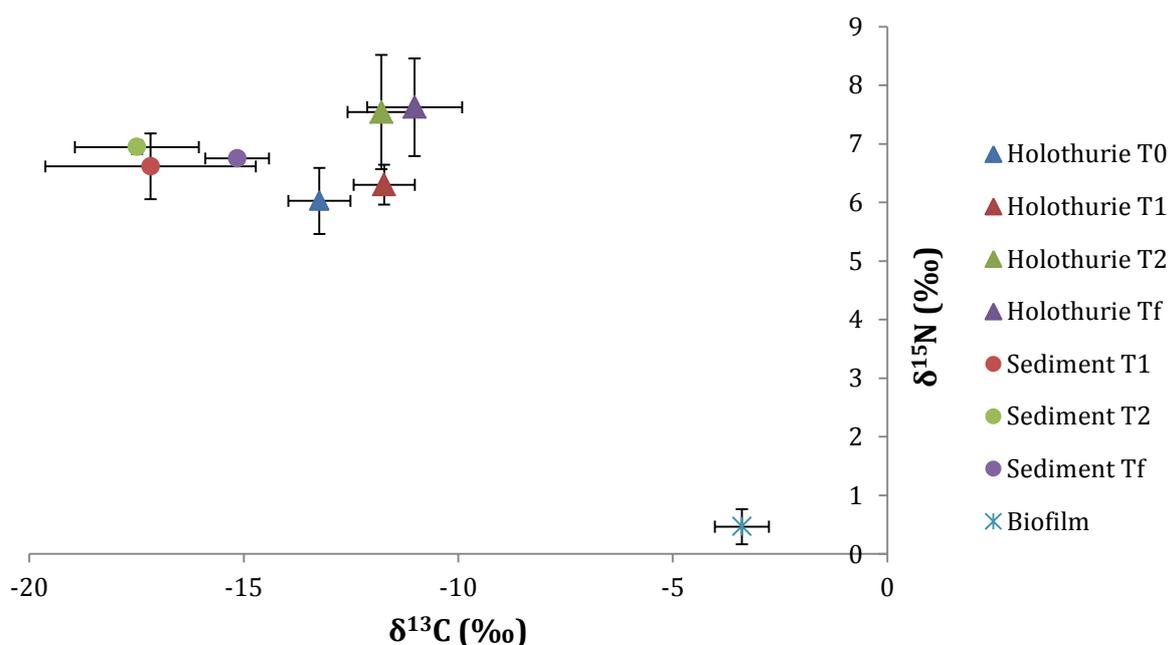


Figure 8 – Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne ± écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "non enrichi", et des sources de nourriture potentielles (sédiment et biofilm). Les holothuries sont représentées par des triangle,

avec T₀ en bleu, T₁ en rouge, T₂ en vert, et T_{final} en violet. Le sédiment suit le même code couleur mais est représenté par des cercles, et le biofilm est visualisé par une croix bleu ciel.

4. Effet de l'ajout des farines sur la composition en acides gras et en isotopes stables des holothuries

a. Composition en acides gras des bandelettes musculaires ayant subi un traitement supplémenté de farine

Lipides neutres

L'ajout de farines de maïs et de poisson induit des différences significatives dans la composition en AG de la fraction neutre des holothuries (PERMANOVA ; p-value < 0,05) (Annexe 4 - Tableau des principaux acides gras de la fraction des lipides neutres). L'effet du temps, et l'interaction temps-traitement n'est pas significative (p-value > 0.05). La composition en AG des holothuries révèle un fort recouvrement entre les différents traitements sur l'ordination multi-dimensionnelle (figure 9). En effet, il apparaît que certains mésocosmes présentent des compositions atypiques induisant une variabilité supérieure à celle observée entre les différents traitements (exemple du mésocosme 3 à T_{final}, noté H14, H15, et H16 sur la figure 9).

A la fin de l'expérience, il est à noter l'apparition du 23:1n-9, notamment dans le traitement ayant subi un ajout de farine de poisson (3,2%). Certains AG comme le 22:6n-3, qui est fortement présent dans la farine de poisson (11,1%), le sont peu dans les holothuries qui ont subi ce traitement (1,8%). A l'inverse le 20:4n-6 est abondant dans les fractions neutres des holothuries, mais presque absent des sources de nourriture (sédiment, biofilm, et farines).

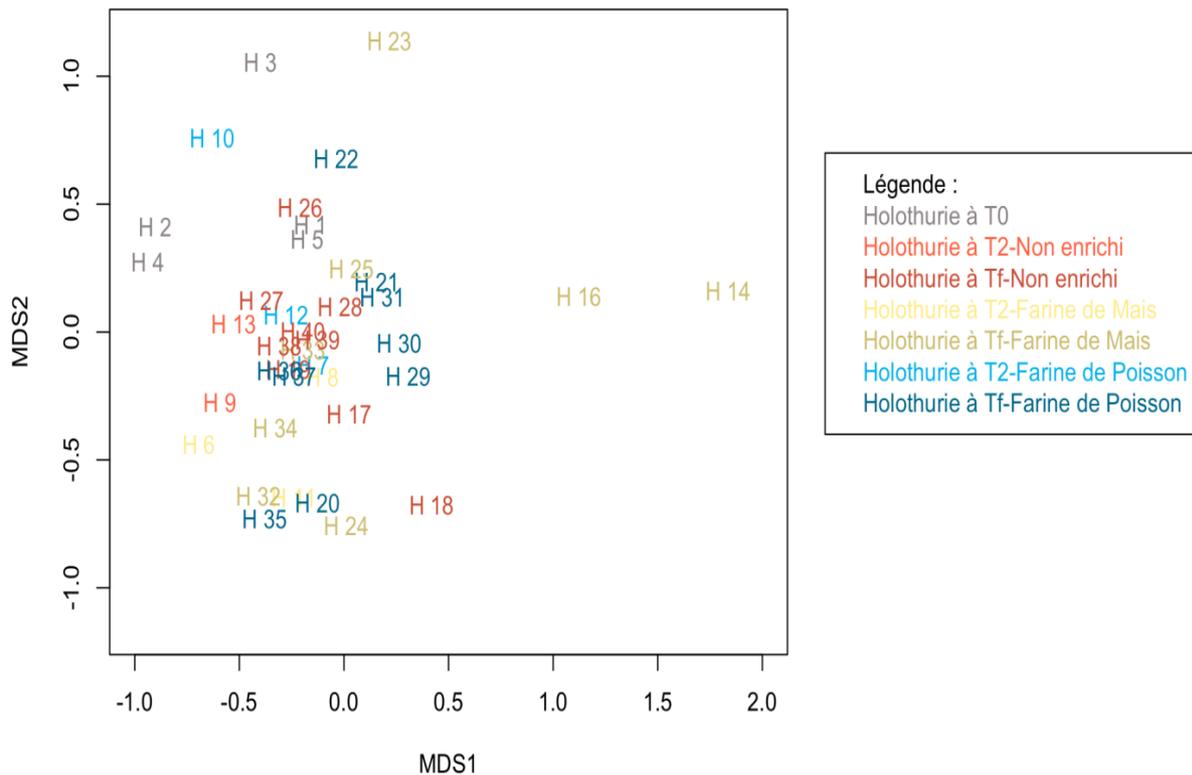


Figure 9 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras, de la fraction neutre des bandelettes musculaires des holothuries, en fonction du temps et des différents traitements. MDS réalisée avec une distance euclidienne, représentant les deux premiers axes. H=holothuries. Les holothuries prélevées au temps initial sont représentées en gris. Celles représentant le traitement « non enrichi » par un dégradé du orange au rouge en fonction du temps de prélèvement. Celles désignant le traitement « farine de maïs » par une variation de jaune, et celles du traitement « farines de poisson » par un dégradé de bleu.

Lipides polaires

Dans la composition en AG de la fraction polaire des holothuries, l'ajout des farines induit des différences significatives en fonction des traitements et du temps (PERMANOVA ; p -value < 0,05). L'interaction temps-traitement n'est pas significative (p -value > 0.05). Même si le temps affecte significativement la composition en AG des holothuries, des groupes se forment en fonction des traitements (figure 10).

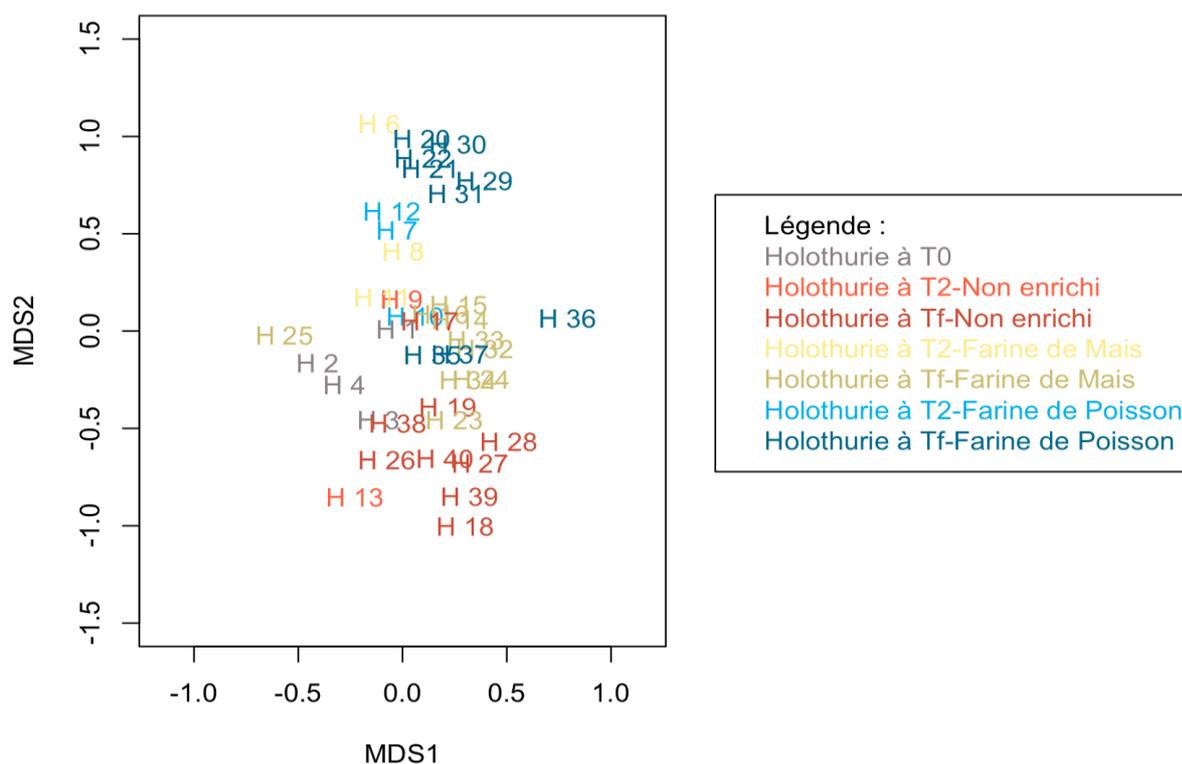


Figure 10 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras, de la fraction polaire des bandelettes musculaires des holothuries en fonction du temps et des différents traitements. MDS réalisée avec une distance euclidienne, représentant les deux premiers axes. H=holothuries. Les holothuries prélevées au temps initial sont représentées en gris. Celles représentant le traitement « non enrichi » par un dégradé du orange au rouge en fonction du temps de prélèvement. Celles désignant le traitement « farine de maïs » par une variation de jaune, et celles du traitement « farines de poisson » par un dégradé de bleu.

b. Composition isotopique des bandelettes musculaires ayant subi un traitement supplémenté de farine

La composition isotopique des holothuries ayant subi un ajout de farine de maïs montre une évolution similaire à celle observée pour le traitement non enrichi, avec un léger enrichissement progressif en ^{13}C et en ^{15}N (figure 11). Par ailleurs, le sédiment ne montre, ici encore, aucune évolution significative de sa composition isotopique au cours du temps (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05).

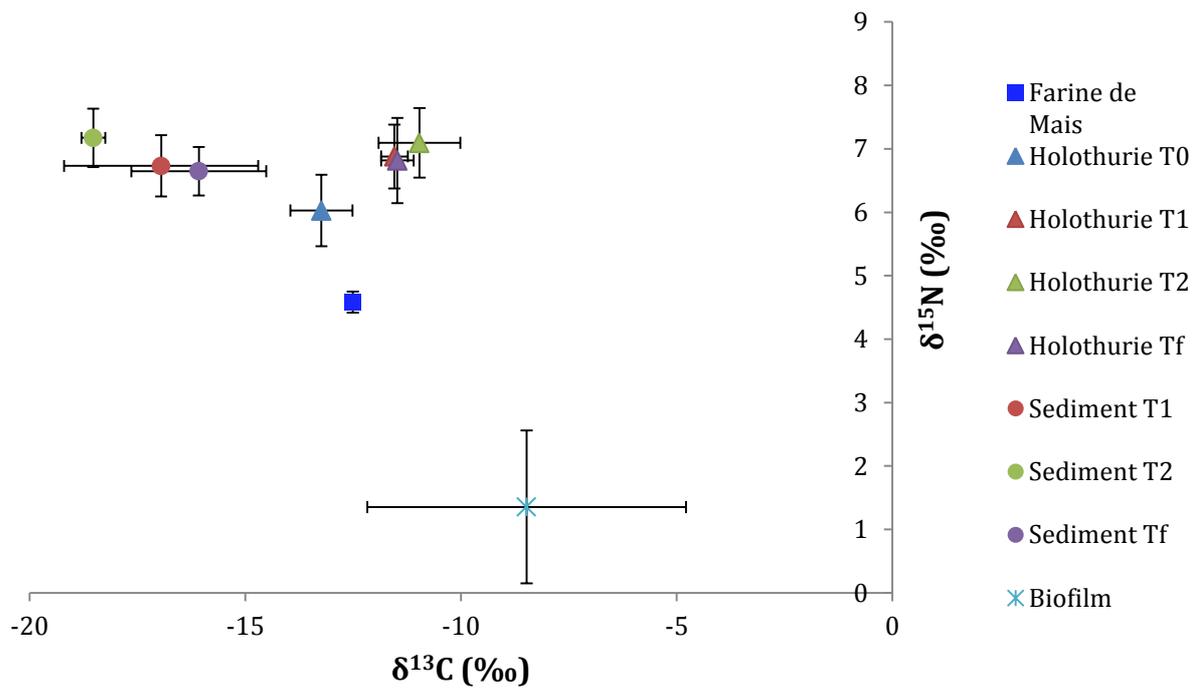


Figure 11 - Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne \pm écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "Farine de Maïs", et des sources de nourriture potentielles (sédiment, farine de maïs et biofilm). Les holothuries sont représentées par des triangle, avec T₀ en bleu, T₁ en rouge, T₂ en vert, et T_{final} en violet. Le sédiment suit le même code couleur mais est représenté par des cercles, et le biofilm est visualisé par une croix bleu ciel. Enfin la farine de maïs apparaît sous la forme d'un carré bleu.

A la différence des deux premiers traitements, les holothuries ayant subi un ajout de farine de poisson montrent une forte évolution de leur $\delta^{15}\text{N}$ (KW test puis post-hoc ; p-value < 0,05) (figure 12, enrichissement de 3 à 4‰ à T_f par rapport aux autres traitements). En revanche, l'évolution temporelle du $\delta^{13}\text{C}$ n'est pas significative (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05).

Pour ce traitement, l'évolution temporelle de la composition isotopique du sédiment n'est pas significative (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05), même si elle montre un léger appauvrissement en ^{15}N à T₂, pour des valeurs qui reviennent à leur état initial en fin d'expérience. Aucune différence significative en $\delta^{13}\text{C}$ n'est observée (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05).

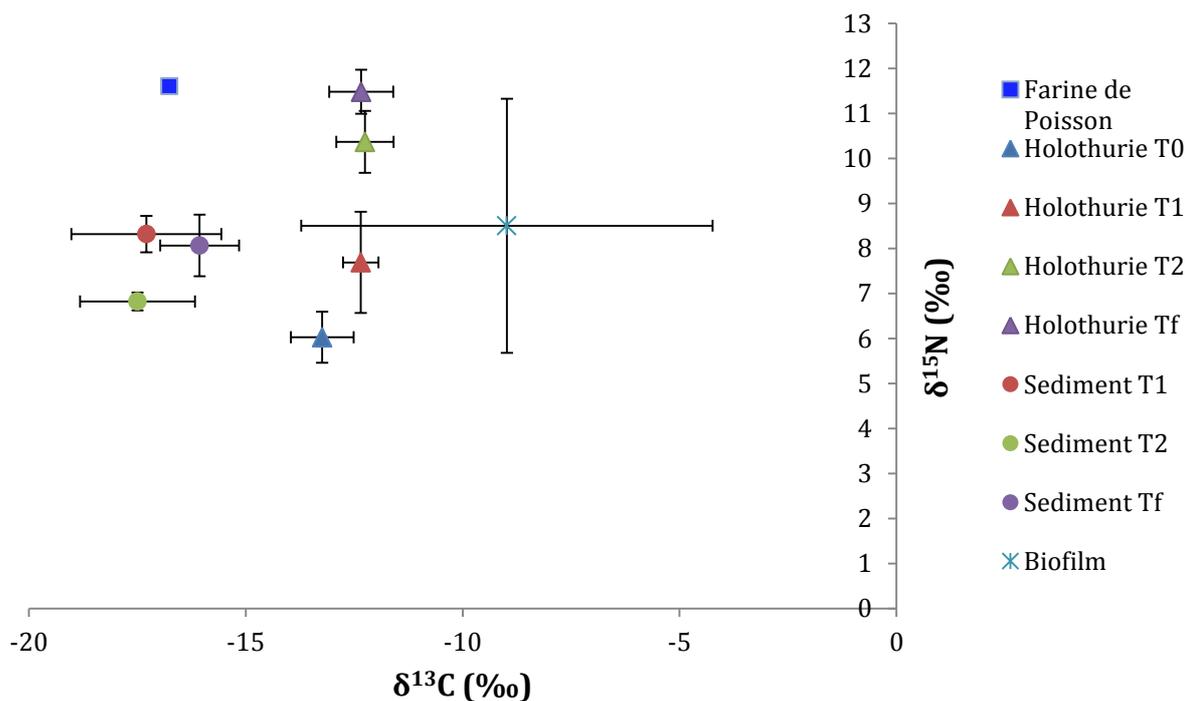


Figure 12 – Evolution temporelle de la composition isotopique (moyenne \pm écart-type) des bandelettes musculaires des holothuries ayant subi le traitement "Farine de Poisson", et des sources de nourriture potentielles (sédiment, farine de maïs et biofilm). Les holothuries sont représentées par des triangle, avec T₀ en bleu, T₁ en rouge, T₂ en vert, et T_{final} en violet. Le sédiment suit le même code couleur mais est représenté par des cercles, et le biofilm est visualisé par une croix bleu ciel. Enfin la farine de poisson apparaît sous la forme d'un carré bleu.

5. Evolution temporelle de la composition en acide gras et en isotopes stables du sédiment pour les différents traitements

La composition en AG du sédiment (tableau 1) montre un effet significatif du traitement (PERMANOVA, p-value < 0.05), mais le temps, et l'interaction entre traitement et temps n'est pas significative. L'ordination multi-dimensionnelle (figure 13) montre en effet des trajectoires divergentes entre les traitements « maïs » et « poisson », les bacs non enrichis présentant une composition intermédiaire, tout comme le bac témoin qui ne contenait aucune holothurie.

Au cours du temps, la proportion des AG branchés (principalement iso15:0, ant15:0, et iso17:0) double pour les traitements « non enrichi » et « farine de poisson », mais n'augmente que de 1,5% dans le traitement « farine de maïs » (tableau 1). Cette proportion voit sa valeur doubler dans le bac témoin entre T₀ et T₂, mais revient à des valeurs initiales à T_{final} (6,7%). Le 16:0 est l'acide gras saturé majoritaire, avec des valeurs comprises entre

14,8% et 22,6%. Pour les MUFA, le 16:1n-7 a tendance à être moins présent au cours du temps. En effet, abondant à 11,6% au temps initial, sa valeur est en moyenne égale à environ 6,2%, tous traitements confondus, au temps final. Le 18:1n-7 a un comportement inverse, présent avec une valeur initiale de 3,9% il se retrouve par exemple, à 8,2% dans le sédiment qui a subi un ajout en farine de poisson. Certains AG sont plus importants dans un traitement particulier. Par exemple, le 17:1n-8 est plus abondant dans le traitement ayant reçu de la farine de maïs (9,6% à T₂ et 7,1 à T_{final}).

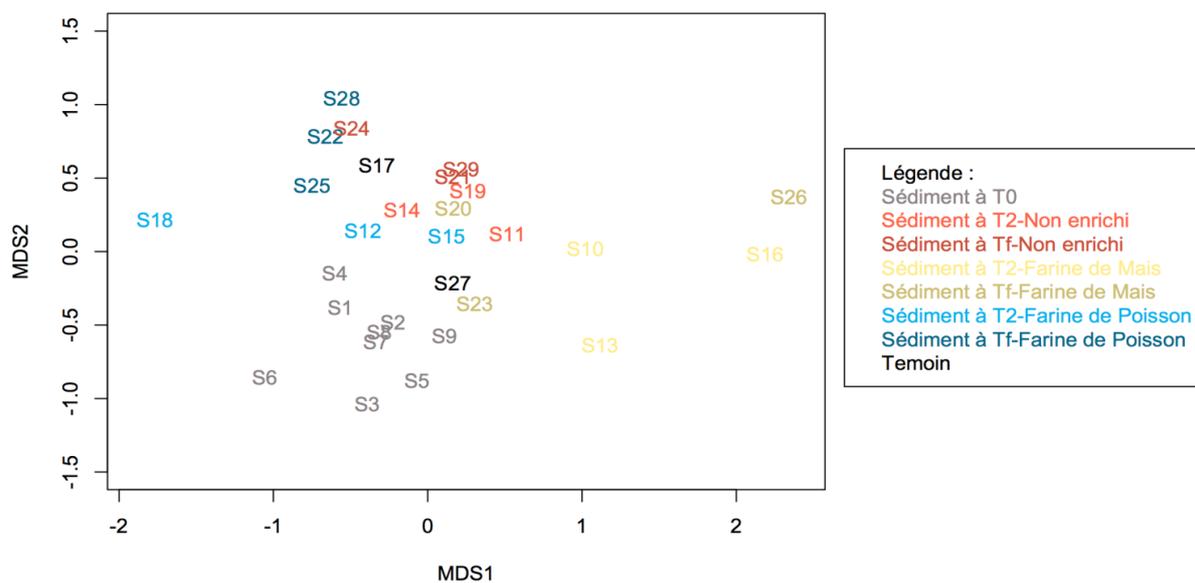


Figure 13 - Ordination multidimensionnelle de la composition en acides gras du sédiment en fonction des différents traitements. MDS réalisée avec une distance euclidienne, représentant les deux premiers axes. S=sédiment. Le sédiment prélevé au temps initial est représenté en gris. Celui représentant le traitement « non enrichi » par un dégradé de orange au rouge en fonction du temps de prélèvement. Celui désignant le traitement « farine de maïs » par une variation de jaune, et celui du traitement « farines de poisson » par un dégradé de bleu.

Les compositions isotopiques montrent une évolution du sédiment plutôt similaire. Avec un $\delta^{13}\text{C}$ plutôt stable et un $\delta^{15}\text{N}$ qui augmente légèrement. Cependant, aucune différence significative entre les traitements par rapport au temps n'est observée (KW test puis post-hoc ; p-value > 0,05), (figure 4).

4. Discussion

Caractérisation des compositions en acides gras et isotopiques des sources alimentaires de H. scabra

La composition en AG du sédiment présente d'importantes teneurs en SFA tout au long de l'expérience. Il est habituel de les retrouver en ces proportions (Kelly et Scheibling, 2012). Cependant la présence d'autres AG plus particuliers suggère une forte variabilité temporelle. En effet, au début de l'expérience le 16:1n-7 est prépondérant. Marqueur de diatomées (Ackman *et al.*, 1968), sa présence est associée à celle du 20:5n-3 (Parrish *et al.*, 2000). Par la suite, l'abondance d'AG branchés, mais aussi de 18:1n-7 suggère la présence de bactéries dans des quantités non négligeables (Canuel, 2001 ; Dalsgaard *et al.*, 2003).

Le biofilm prélevé sur le bord des mésocosmes au temps final, a une composition en AG assez proche de celle du sédiment. En effet, ce biofilm est aussi caractérisé par les AG 18:1n-7, 16:1n-7 et 20:5n-3. La présence des AG 18:3n-3 et 18:4n-3 est originale, mais assez classique chez les algues marines (Volkman *et al.*, 1989). L'AG 20:4n-6, peut avec le 20:3n-3, être un biomarqueur de macroalgues (Kharlamenko *et al.*, 2001). L'observation sur les parois des mésocosmes de macroalgues filamenteuses, entrant dans la composition du biofilm (Sébastien Hochard, communication personnelle), explique probablement la présence de ces AG.

Les compositions isotopiques des biofilms semblent propres à chaque traitement. En effet, provenant du traitement « non enrichi » a les valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ les plus élevées et celles en $\delta^{15}\text{N}$ les plus faibles. Alors que les biofilms provenant des deux traitements qui ont reçu de la farine montrent un $\delta^{13}\text{C}$ à peu près similaire, pour le traitement « farine de poisson » il présente une valeur beaucoup plus élevée en $\delta^{15}\text{N}$. Les biofilms paraissent donc suivre les enrichissements liés à leur implémentation en farines.

Caractérisation des compositions en acides gras des bandelettes muculaires de H. scabra

La présence de DMA n'apporte pas d'information trophique claire sur les holothuries. Leur présence en si grande proportion (30% à T_0) dans la fraction neutre est toutefois très originale car ces molécules sont issues, après transestérification, de formes particulières de

liaison des AG glycérol (vinyl-ether), et sont plus généralement retrouvées dans les lipides membranaires (fraction des LP). Le fait que leur proportion diminue avec le temps est un autre aspect intéressant de l'étude car il indiquerait que leur source pourrait potentiellement être liée à leur environnement initial, c'est à dire un bassin de la ferme de la SEA, qui est la ferme de production de *H. scabra* sur le territoire. Les chaînes carbonées associées à ces DMAs étant principalement des chaînes saturées (18:0DMA majoritairement), leur origine trophique et/ou métabolique est aujourd'hui difficile à définir, mais cela reste une perspective très intéressante à développer pour le futur.

Le rapport PUFA/SFA de la fraction neutre des holothuries apporte une information sur la qualité de la nourriture ingérée et assimilée par l'holothurie (Cripps et Atkinson, 2000). Or, ce rapport a tendance à augmenter fortement entre T_0 et T_2 , alors qu'il diminue entre T_2 et T_{final} , et ce pour les trois traitements. Cette diminution pourrait indiquer une rupture dans l'assimilation. En effet, au vu des expériences menées en parallèle dans le projet HOBICAL, il a été rapporté un arrêt de croissance des animaux après le second temps d'échantillonnage T_2 (Le Rohellec, 2015). Cette rupture n'étant pas due au manque de nourriture ni à sa dégradation, elle provient sûrement d'un autre facteur, probablement densité dépendant. Il est ainsi envisageable que malgré le faible nombre d'individus par bac, la surface limitée des mésocosmes, est mené à de trop fortes densités introduites, qui ne permettent pas de soutenir la croissance des holothuries au-delà d'un certain seuil. Cela aurait induit chez ces individus un arrêt de la prise alimentaire, qui serait à l'origine de cette décroissance secondaire du rapport PUFA/SFA.

La fraction neutre des holothuries est majoritairement dominée par les SFA 16:0 et 18:0, qui sont des AG généralement prépondérants chez de nombreux organismes, et n'apportent a priori pas d'information de nature trophique (Kelly et Scheibling, 2012).

La présence de certains PUFA est récurrente dans les études menées sur différentes espèces d'holothuries. En effet, la très forte présence du 20:5n-3 et du 20:4n-6 se retrouve dans plusieurs travaux (Kaneniwa *et al.*, 1986 ; Svetashev *et al.*, 1991 ; Fredalina *et al.*, 1999 ; Drazen *et al.*, 2008 ; Hasegawa *et al.*, 2014 ; Yu *et al.*, 2015). La présence de 20:4n-6 dans les LN des holothuries est intéressante, dans le sens où elle est relevée dans tous les traitements à des valeurs relativement hautes (allant jusqu'à 12%), alors que cet AG est

presque absent des sources de nourriture potentielles de *H. scabra*, excepté dans le biofilm, mais à des valeurs plus faibles (environ 4%). Cet AG met en avant la capacité de rétention sélective et/ou de biosynthèse de l'holothurie. Les échinodermes sont capables de biosynthétiser certains AG lorsqu'ils sont en trop faibles proportions dans leurs sources de nourriture (Kelly et Scheibling, 2012), alors que les organismes de niveau trophique supérieur ne peuvent synthétiser la majorité des PUFA. La biosynthèse de PUFA par les invertébrés représente donc un lien important dans le réseau trophique entre les producteurs primaires et les consommateurs de niveau supérieur (Hall *et al.*, 2006).

A l'inverse, le 22:6n-3 qui est fortement présent dans la composition de la farine de poisson, est presque absent des lipides des holothuries qui ont subi ce traitement. Ce résultat suggère une possible utilisation sélective de certains AG au sein du pool d'AG disponible par les holothuries, ou une absence d'assimilation de cette source additionnelle.

Assimilation de sédiment par les holothuries en condition « non enrichi », et effets de l'ajout de farines sur la nature des sources assimilées

Afin de comprendre l'assimilation du sédiment par l'holothurie, il est nécessaire de se focaliser sur le traitement « non enrichi » qui est le témoin de l'assimilation de base de sédiment crevetticole par les holothuries. L'ordination multidimensionnelle de la composition en AG démontre bien qu'en absence de tout ajout, les compositions des LN ont tendance, au cours du temps, à se rapprocher des compositions en AG des sédiments et du biofilm. L'analyse des AG ne procurant cependant qu'une information qualitative sur la nature des sources assimilées, et ces deux sources ne différant pas suffisamment dans leur composition, il est cependant impossible de définir précisément si les holothuries s'alimentent sur le sédiment ou sur le biofilm se développant à la surface des mésocosmes.

L'ordination multidimensionnelle effectuée sur les fractions neutres des holothuries soumises aux différents traitements ne montre pas de tendance claire. En effet, si les résultats de la PERMANOVA mettent en évidence un effet significatif du traitement sur la composition en AG de la fraction neutre des holothuries, cet effet semble modéré au vu des forts chevauchements entre les différents nuages de points. Ceci laisse supposer qu'un facteur autre que les traitements affecte la composition en AG des holothuries. En particulier, il a été observé pour les bacs 8 et 10 une prolifération de crevettes (non

identifiées), induisant une quasi-absence de développement de biofilm (Sébastien Hochard, communication personnelle). Ces caractéristiques n'ont pas été observées pour les autres bacs soumis aux mêmes traitements. Il semblerait ainsi que chaque mésocosme soit caractérisé par une évolution propre qui a affecté significativement la composition en AG des holothuries y évoluant.

Si la composition en AG de la fraction neutre ne montre pas de forts contrastes entre les différents traitements, les fractions polaires sont apparues relativement différentes en fonction des traitements. Les traitements « farine de maïs » et « non enrichi » semblent les plus proches dans leur composition en AG, tandis que le traitement « farine de poisson » semble le plus éloigné de tous. Cette séparation, en fonction des traitements et non du temps, indiquerait une forte réactivité des holothuries à adapter et modifier leurs besoins métaboliques face aux ressources trophiques disponibles dans leur environnement.

L'évolution temporelle de la composition isotopique des holothuries soumises aux traitements « non enrichis » et « farine de maïs » est similaire, suggérant que la source de nourriture de ces deux groupes d'individus ne diffère pas de manière significative. En effet, si l'enrichissement en ^{13}C et en ^{15}N observé au cours du temps pour le traitement « farine de maïs » pourrait s'expliquer par une assimilation de cette source, la même évolution est observée chez les individus n'ayant pas accès à cette ressource, suggérant une même origine à cette variation isotopique. En revanche, ces résultats ne permettent pas de soutenir l'hypothèse d'une assimilation de sédiment. Dans chacun des deux traitements, cette source présente des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ à l'opposé de la variation temporelle observée. L'assimilation d'une fraction enrichie en ^{13}C du sédiment pourrait être à l'origine de l'augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ des holothuries. En particulier, l'augmentation de la teneur en AG branchés, caractéristique des bactéries (Rajendran *et al.*, 1993), suggère que ce compartiment du sédiment pourrait être à l'origine de l'évolution observée. Des mesures isotopiques sur certains composés spécifiques, comme les AG, permettraient de répondre à cette question. L'évolution temporelle de la composition isotopique des holothuries soumises à l'ajout de farine de poisson diffère fortement de celle des autres traitements, notamment par le fort enrichissement en ^{15}N observé. Aucune différence de $\delta^{13}\text{C}$ n'est par contre notée pour ce traitement, ce qui pourrait laisser suggérer que la farine de poisson n'est pas assimilée, ce qui concorde avec le peu de différences observées au niveau de la composition en acides

gras. En revanche, le fort enrichissement en ^{15}N , coïncidant avec les valeurs élevées de $\delta^{15}\text{N}$ observées pour la farine de poisson semble, suggérer le contraire. Cette apparente contradiction peut s'expliquer par la nature de l'information apportée par les différents biomarqueurs utilisés ici. En effet, si le $\delta^{15}\text{N}$ permet de suivre les voies de transfert de la matière organique azotée au sein des communautés, le $\delta^{13}\text{C}$ et les AG sont représentatifs de la matière et des composés non azotés. Ainsi, il pourrait être suggéré que la farine de poisson fournit aux holothuries un complément alimentaire azoté qui est assimilé par ces dernières. Les faibles taux de croissance observés en fin d'expérience, probablement liés à des facteurs non trophiques (Le Rohellec 2015) ne permettent toutefois pas de statuer sur les éventuels effets bénéfiques de ce supplément alimentaire.

Bioremédiation par les holothuries : effet des holothuries sur la composition du sédiment

Lorsque l'on regarde la composition globale en AG des sédiments ayant subi les divers traitements, il apparaît des changements en biomarqueurs dans la composition sédimentaire qui pourraient être induits par un changement des communautés présentes dans le sédiment au cours du temps. En effet, les fortes teneurs en AG branchés indiquent la présence de bactéries réductrices de sulfate (Canuel, 2001 ; Pinturier-Geiss *et al.*, 2002). Le 18:1n-7 retrouvé en plus forte abondance à la fin de l'expérience, pourrait être lui lié à une contribution bactérienne à la surface du sédiment (Dalsgaard *et al.*, 2003). En effet, cet AG est aussi bien indicateur des bactéries aérobiques que anaérobiques (Pinturier-Geiss *et al.*, 2002). En revanche, la teneur en 16:1n-7 pourrait suggérer une présence de diatomées (Ackman *et al.*, 1968). En effet, cet AG a tendance à diminuer avec le temps, tout comme le 20:5n-3 qui est le principal marqueur de diatomées (Parrish *et al.*, 2000). Les mésocosmes enrichis en sédiment de crevetticulture et ayant subi les trois traitements, montrent, sur la base des analyses en AG, que le sédiment au début des expériences, serait dominé, par des diatomées, tandis qu'à la fin, les bactéries sont plus abondantes. Le bac témoin semble suivre sa propre évolution, même si des variations sont observées de T_0 à T_2 , les valeurs finales sont très proches de celles initiales. L'action de l'holothurie se fait donc ressentir dans la composition en AG du sédiment.

Nos résultats montrent un effet du traitement expérimental sur la composition en AG du sédiment, les traitements non enrichis ainsi que le témoin, présentant une composition intermédiaire entre les farines de maïs et de poisson. Ceci suggère un effet modéré de l'ajout d'holothuries sur la composition biochimique des sédiments issus de la crevetticulture. Cette constatation est confirmée par l'absence de variations en termes de composition isotopique. Il semble donc compliqué, avec les outils présents, de pouvoir tirer une conclusion sur la capacité de *H. scabra* à assainir le sédiment afin d'en éliminer les bactéries responsables de l'apparition de vibrioses.

5. Conclusions et perspectives

Il est connu que depuis plusieurs années, des mortalités importantes de crevettes sont observées dans les élevages de Nouvelle Calédonie. Même si deux espèces de bactéries ont été montrées comme étant associées à ces létalités, aucun moyen pour les extraire du milieu n'est disponible aujourd'hui. Le système de culture en alternance pourrait permettre d'assainir le sédiment et donc de réduire la prolifération de ces vibrioses.

Les analyses sur les compositions en AG et en isotopes stables des bandelettes musculaires de l'holothurie *H.scabra* mettent en avant que l'holothurie assimile bien le sédiment issu de crevetticulture, suggérant que cette polyculture pourrait contribuer à l'épuration des sédiments crevetticoles. Cependant, il est difficile de conclure de nos résultats que ce système contribue de manière significative à la bioremédiation de ces sédiments. Des données acquises dans le cadre d'une autre étude ne mettent pas en évidence d'effet des holothuries sur la teneur en matière organique du sédiment (Le Rohellec 2015). L'introduction de crevettes dans les mésocosmes à la suite de ce cycle de production d'holothuries permettrait de constater une éventuelle diminution des taux de mortalité, possiblement induite par des modifications qualitatives liées à l'activité des holothuries.

Le sédiment n'est pas la seule source assimilée par les animaux. L'ajout de farine ne semble pas améliorer les conditions de croissance, ni accélérer la bioremédiation. L'évolution des traitements ayant subi un ajout de farine de maïs reste très proche du traitement qui n'a reçu aucun enrichissement. Il ne semble donc pas pertinent d'implémenter les cultures avec cette farine. L'ajout en farine de poisson semble avoir un

effet différent, représentant manifestement un apport supplémentaire en azote assimilé par les holothuries. L'arrêt de croissance observé entre T_2 et T_{final} , probablement non lié à une limitation trophique, ne nous a cependant pas permis de constater d'éventuelles différences en termes de croissance avec les autres traitements, mais il est vraisemblable qu'un tel apport supplémentaire en azote a des effets sur la croissance d'*H. scabra*, tant quantitatifs (croissance accélérée) que qualitatifs (teneur en protéine augmentée). La répétition de ces expériences à des densités variables n'a pas été possible dans le cadre de cette étude pour des raisons logistiques, mais permettrait de répondre à cette question.

Dans le cadre de ce travail, nous avons analysé les bandelettes musculaires, ce qui peut apparaître comme un choix discutable, du fait de leur faible teneur en LN. Toutefois, le tube digestif des holothuries abrite de nombreuses bactéries symbiotiques qui n'entrent pas dans la composition de l'alimentation et qui auraient faussé les résultats. Par ailleurs, la paroi des holothuries contient des spicules calcaires, incompatibles avec l'analyse isotopique. L'analyse de la composition en AG de la paroi permettrait peut-être de mettre en évidence de plus forts contrastes entre les différents traitements.

Dans le cadre de cette étude, le couplage entre AG et isotopes stables s'est avéré particulièrement utile pour affiner notre compréhension de l'alimentation des holothuries dans ce système aquacole. En particulier, il a pu être montré que ces deux marqueurs fournissaient des informations complémentaires dans la nature des sources azotées et carbonées soutenant la croissance des holothuries. Une étape future visant à approfondir le couplage entre ces approches est représenté par l'analyse isotopique d'AG spécifiques. Cette approche permettra notamment de tenter de préciser le rôle des bactéries dans l'alimentation d'*H. scabra* dans ce contexte de polyculture.

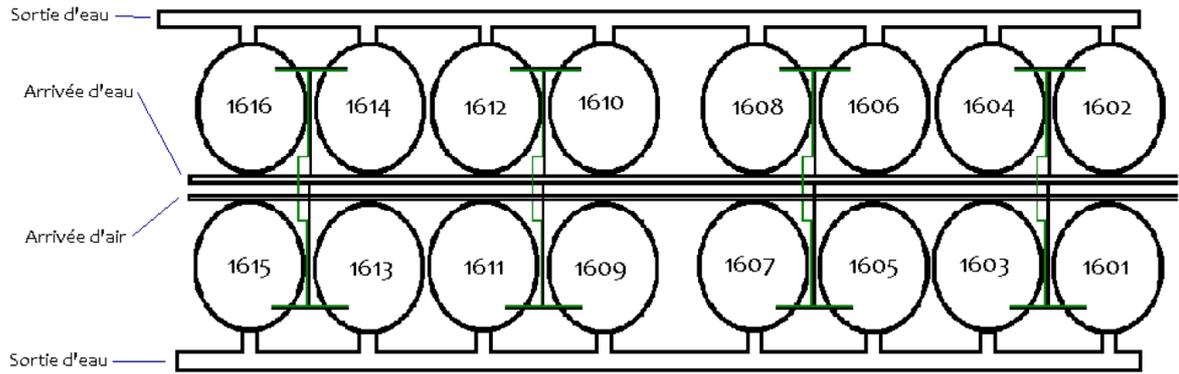
Bibliographie

- Ackman, R.G., Tocher, C.S., McLachlan, J., 1968. Marine Phytoplankter Fatty Acids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 25, 1603–1620.
- Agudo, N., 2006. Sandfish Hatchery Techniques. *Australian Centre for International Agricultural Research, Secretariat of the Pacific Community and the WorldFish Center*, Noumea. 44 pp.
- Bell, J.D., Agudo, N.N., Purcell, S.W., Blazer, P., Simutoga, M., Pham, D., Della Patrona, L., 2007. Grow-out of sandfish *Holothuria scabra* in ponds shows that co-culture with shrimp *Litopenaeus stylirostris* is not viable. *Aquaculture* 273 (4), 509-519.
- Bostock, J., McAndrew, B., Richards, R., Jauncey, K., Telfer, T., Lorenzen, K., Little, D., Ross, L., Handisyde, N., Gatward, I., Corner, R., 2010. Aquaculture: global status and trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 365 (1554), 2897-2912.
- Budge, S.M., Iverson, S.J., Koopman, H.N., 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: A primer on analysis and interpretation. *Marine Mammal Science* 22 (4), 759-801.
- Canuel, E.A., 2001. Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach. *Org Geochem* 32, 563–583.
- Cripps, G.C., Atkinson, A., 2000. Fatty acid composition as an indicator of carnivory in Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 31-37.
- Dalsgaard, J., St John, M., Kattner, G., Muller-Navarra, D., Hagen, W., 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology* 46, 225-340.
- Della Patrona, L., Brun, P., 2008. L'élevage de la crevette bleue en Nouvelle-Calédonie *Litopenaeus stylirostris*, bases biologiques et zootechnie. IFREMER-LEAD Ed., 312 pp.
- Dharmananda, S., NA. Sea cucumber : Food and Medicine. <http://www.itmonline.org/arts/seacucumber.htm> [Consulté le 27/11/2014].
- Drazen, J.C., Phleger, C.F., Guest, M.A., Nichols, P.D., 2008. Lipid, sterols and fatty acid composition of abyssal holothurians and ophiuroids from the North-East Pacific Ocean: Food web implications. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 151 (1), 79-87.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry* 226 (1), 497-509.
- Fredalina, B.D., Ridzwan, B.H., Abidin, A.A.Z., Kaswandi, M.A., Zaiton, H., Zali, I., Kittakoo, P., Jais, A.M.M., 1999. Fatty acid compositions in local sea cucumber, *Stichopus chloronotus*, for wound healing. *General Pharmacology* 33 (4), 337-340.
- Fry, B., 2007. Stable isotope ecology. ed. Springer Science & Business Media.
- Giraspy, D.A.B., Walsalam, I.G., 2010. Potentiel aquacole de deux espèces tropicales d'holothuries *Holothuria scabra* et *H. lessonidans* la région indo-pacifique. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS n°30.

- Hall, D., Lee, S.Y., Meziane, T., 2006. Fatty acids as trophic tracers in an experimental estuarine food chain: Tracer transfer. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 336 (1), 42-53.
- Hasegawa, N., Sawaguchi, S., Tokuda, M., Unuma, T., 2014. Fatty acid composition in sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed with microbially degraded dietary sources. *Aquaculture Research* 45 (12), 2021-2031.
- Howard, R., 2010. The benefits of sea cucumber. <http://healthyeating.sfgate.com/benefits-sea-cucumber-5710.html>. [Consulté le 27/11/2014].
- Hussenot, J., Richard, M., 2010. Des systèmes intégrés multi-trophiques pour une aquaculture durable. Rapport IFREMER.
- Ichihara, K., Fukubayashi, Y., 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research* 51 (3), 635-640.
- Kaneniwa, M., Itabashi, Y., Endo, S., Takagi, T., 1986. Fatty acids in Holothuroidea - occurrence of 14 cis-tricosenoic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 84 (4), 451-455.
- Kelly, J.R., Scheibling, R.E., 2012. Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Marine Ecology Progress Series* 446, 1-22.
- Kharlamenko, V.I., Kiyashko, S.I., Imbs, A.B., Vyshkvartzev, D.I., 2001. Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. *Marine Ecology Progress Series* 220, 103-117.
- Kraffe de Laubarède, E., 2003. Etude de la spécificité du cardiolipide et des plasmalogènes chez les mollusques bivalves : apport des méthodes chromatographiques. Thèse de doctorat de l'université de Bretagne Occidentale, 243pp.
- Lemonnier, H., Brizard, R., Legrand, A., 2003. Influence des pratiques zootechniques de la crevette (*Litopenaeus stylirostris*) et de l'âge des bassins sur la qualité des sédiments. *Styli*, 180-186.
- Lemonnier, H., 2007. Effet des conditions environnementales sur le développement des pathologies à *Vibrio* dans les élevages de crevettes en Nouvelle-Calédonie, Thèse de doctorat de l'université de La Rochelle, 274pp.
- Le Rohellec, J., 2015. Holothuries : Impact des différents protocoles de nutrition sur les performances zootechniques et la qualité environnementale du milieu d'élevage. Rapport de stage. 16pp.
- Marty, Y., Delaunay, F., Moal, J., Samain, J.F., 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L) during larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163 (2), 221-234.
- McCutchan, J.H., Lewis, W.M., Kendall, C., McGrath, C.C., 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos* 102 (2), 378-390.
- Paez-Osuna, F., 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: Causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental Management* 28 (1), 131-140.
- Parrish, C.C., 1999. Determination of Total Lipid, Lipid Classes, and Fatty Acids in Aquatic Samples, in: Arts, M.T., Wainman, B.C. (Eds.), *Lipids in Freshwater Ecosystems*. Springer New York, pp. 4-20.
- Parrish, C.C., Abrajano, T.A., Budge, S.M., Helleur, R.J., Hudson, E.D., Pulchan, K., Ramos, C., 2000. Lipid and Phenolic Biomarkers in Marine Ecosystems: Analysis and Applications, in: Wangersky, P.J. (Ed.), *Marine Chemistry, The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 193-223.

- Pinturier-Geiss L, Mejanelle L, Dale B, Karlsen DA, 2002. Lipids as indicators of eutrophication in marine coastal environment. *J Microbiol Methods*. 48, 239-57.
- Purcell, S.W., 2004. Rapid growth and bioturbation activity of the sea cucumber *Holothuria scabra* in earthen ponds. *Proceedings of Australasian Aquaculture 2004*, p. 244
- Rajendran, N., Suwa, Y., Urushigawa, Y., 1993. Distribution of phospholipid ester-linked fatty acid biomarkers for bacteria in the sediment of Ise Bay, Japan. *Marine Chemistry*, 42(1), 39-56.
- Soudant, P., Marty, Y., Moal, J., Samain, J.F., 1995. Separation of major polar lipids in *Pecten maximus* by High Performance Liquid-Chromatography and subsequent determination of their fatty acids using Gas-Chromatography. *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications* 673 (1), 15-26.
- Svetashev, V.I., Levin, V.S., Lam, C.N., Nga, D.T., 1991. Lipid and fatty acid composition of Holothurians from tropical and temperate waters. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 98 (4), 489-494.
- Tacon, A. J., 2003. Aquaculture production trends analysis. *FAO Fisheries Circular*, 886, 5-29.
- Thomas, Y., Courties, C., El Helwe, Y., Herbland, A., Lemonnier, H., 2010. Spatial and temporal extension of eutrophication associated with shrimp farm wastewater discharges in the New Caledonia lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 61(7), 387-398.
- Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.I., Garland, C.D., 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 128 (3), 219-240.
- Yu, H.B., Gao, Q.F., Dong, S.L., Wen, B., 2015. Changes in fatty acid profiles of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) induced by terrestrial plants in diets. *Aquaculture* 442, 119-124.

Annexes



Annexe 1 - Schéma des mésocosmes du projet HOBICAL à la station expérimentale IFREMER de St Vincent

Traitement	Numéros de bac
Non enrichi	5 - 9 - 14
Farine de Maïs	3 - 8 - 11
Farine de Poisson	7 - 10 - 13

Annexe 2 - Tableau de résumé des différentes conditions expérimentales

Annexe 3 – Tableau des principaux acides gras de la fraction du Biofilm (à T_{final} n=3) et des Farines (à T₀ n=3 ; T_{final}n=3) aux différents temps d'échantillonnage (en % massique du total des AG (moyenne ± écart-type))

Traitement	Biofilm				Farine	
	T _{Final}				Mais	Poisson
	Non enrichi	Farine de Mais	Farine de Poisson	Témoin		
Branchés	1,5 ± 0,3	2,0 ± 0,7	1,9 ± 0,4	1,8	0,1 ± 0,5	0,7 ± 0,0
14:0	5,9 ± 0,2	9,4 ± 2,6	5,8 ± 1,1	6,2	0,3 ± 0,1	6,8 ± 0,1
15:0	0,4 ± 0,1	0,8 ± 0,6	1,2 ± 0,5	1,6	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,0
16:0	27,1 ± 1,6	25,0 ± 1,3	25,2 ± 1,5	26,4	17,7 ± 0,9	22,0 ± 0,6
17:0	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,0
18:0	1,8 ± 1,0	2,0 ± 0,9	2,1 ± 0,9	2,5	5,2 ± 1,2	4,9 ± 0,0
19:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0
20:0	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5	1,2 ± 0,3	0,2 ± 0,0
22:0	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,4	0,2	2,0 ± 0,2	0,1 ± 0,0
24:0	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0	1,2 ± 0,2	0,3 ± 0,1
ΣSFA	36,4 ± 2,4	38,6 ± 2,2	35,9 ± 2,7	38,1	28,4 ± 3,3	34,9 ± 0,2
16:1n-9	0,7 ± 0,2	5,5 ± 3,5	4,1 ± 3,8	8,5	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,4
16:1n-7	12,6 ± 4,0	9,7 ± 1,8	10,2 ± 8,5	4,2	0,8 ± 0,2	7,6 ± 0,3
16:1n-5	0,7 ± 0,1	1,1 ± 1,3	0,3 ± 0,0	5,4	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0
17:1n-8	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,4	0,8	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1
18:1n-9	1,6 ± 0,4	2,7 ± 2,1	5,9 ± 2,3	5,4	26,5 ± 0,1	7,7 ± 0,1
18:1n-7	4,7 ± 0,8	3,4 ± 1,4	2,4 ± 0,6	2,1	0,7 ± 0,2	3,7 ± 0,0
20:1n-11	0,3 ± 0,4	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,0
22:1n-7	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0
23:1n-9	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:1n-9	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,1	0,8 ± 0,5	1,2	0,0 ± 0,0	0,9 ± 0,2
ΣMUFA	23,0 ± 4,4	25,3 ± 2,3	25,2 ± 6,0	28,5	29,2 ± 0,3	22,4 ± 0,1
18:2n-6	2,5 ± 0,6	1,7 ± 0,5	3,1 ± 2,2	1,7	38,7 ± 4,7	0,9 ± 0,0
18:3n-3	3,9 ± 1,6	1,6 ± 0,9	4,2 ± 4,8	3,7	2,2 ± 0,4	0,5 ± 0,0
18:4n-3	5,9 ± 1,3	5,1 ± 1,6	4,4 ± 3,2	3,3	0,0 ± 0,0	2,3 ± 0,1
20:3n-3	0,3 ± 0,1	1,9 ± 2,5	3,5 ± 2,8	5,8	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:4n-6	4,3 ± 2,4	3,2 ± 0,6	3,7 ± 2,1	1,8	0,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0
20:5n-3	10,5 ± 2,3	9,9 ± 3,5	7,6 ± 0,3	6,3	0,1 ± 0,2	14,8 ± 0,1
22:6n-3	0,2 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,0	0,3 ± 0,1	11,1 ± 0,0
ΣPUFA	27,9 ± 1,5	24,3 ± 3,1	27,1 ± 10,0	22,9	42,1 ± 3,8	39,6 ± 1,6

Annexe 4 – Tableau des principaux acides gras de la fraction des lipides neutres (à T0 n=5 ; T2 n=3 ; Tf n=9) aux différents temps d'échantillonnage (en % massique du total des AG (moyenne ± écart-type))

Traitement	Lipide Neutre (LN)						
	T ₀	T ₂			T _{Final}		
		Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson	Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson
Branchés	1,5 ± 1,2	2,2 ± 0,4	3,6 ± 1,4	5,3 ± 4,9	3,7 ± 0,8	4,9 ± 1,9	7,5 ± 2,5
14:0	1,8 ± 0,9	1,7 ± 0,4	2,4 ± 0,0	1,8 ± 0,5	2,6 ± 0,4	4,0 ± 2,4	2,6 ± 0,8
15:0	0,9 ± 0,7	1,2 ± 0,4	1,4 ± 0,6	1,9 ± 0,8	1,4 ± 0,2	1,8 ± 1,0	1,6 ± 0,6
16:0	13,7 ± 5,4	10,5 ± 0,1	7,9 ± 2,5	10,9 ± 0,5	11,5 ± 2,3	12,3 ± 4,4	11,7 ± 3,3
17:0	0,7 ± 0,5	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,8 ± 0,6
18:0	17,7 ± 2,7	10,3 ± 2,5	7,3 ± 1,2	13,6 ± 7,5	11,5 ± 3,2	8,5 ± 3,5	10,4 ± 0,8
19:0	1,4 ± 1,0	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,1 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,5 ± 1,2	1,8 ± 0,4
20:0	2,3 ± 0,4	2,1 ± 0,3	2,5 ± 0,5	1,6 ± 0,3	2,7 ± 0,6	2,1 ± 1,3	2,5 ± 0,5
22:0	4,6 ± 2,1	3,9 ± 0,2	5,1 ± 2,7	2,6 ± 1,7	5,0 ± 1,2	3,5 ± 2,1	4,2 ± 0,6
24:0	1,9 ± 0,9	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,4	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,4
ΣSFA	45,2 ± 8,3	33,6 ± 2,5	31,0 ± 4,3	35,2 ± 6,2	38,2 ± 11,5	35,7 ± 5,3	37,8 ± 4,6
16:1n-9	1,8 ± 1,4	1,8 ± 0,7	2,3 ± 1,3	2,6 ± 1,3	2,4 ± 1,0	5,4 ± 6,7	2,1 ± 2,2
16:1n-7	1,8 ± 0,6	3,0 ± 0,3	4,2 ± 0,3	1,6 ± 0,4	3,2 ± 0,3	2,8 ± 2,4	2,9 ± 1,2
16:1n-5	5,6 ± 3,4	3,8 ± 2,3	1,1 ± 1,0	2,0 ± 1,9	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,2 ± 0,1
17:1n-8	0,7 ± 0,7	0,4 ± 0,6	0,3 ± 0,5	0,7 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,6	0,3 ± 0,3
18:1n-9	5,7 ± 1,6	4,3 ± 0,2	7,7 ± 5,7	4,8 ± 1,3	4,2 ± 1,7	5,0 ± 2,1	3,9 ± 0,7
18:1n-7	1,1 ± 0,7	2,1 ± 0,0	4,2 ± 0,7	2,8 ± 1,0	2,8 ± 0,5	2,5 ± 1,4	3,9 ± 1,1
20:1n-11	2,1 ± 0,4	3,5 ± 1,3	2,4 ± 0,4	1,9 ± 1,1	2,6 ± 0,3	2,8 ± 2,8	3,2 ± 2,8
22:1n-7	2,4 ± 0,9	2,2 ± 0,2	3,5 ± 1,4	1,5 ± 0,9	2,4 ± 0,2	2,4 ± 1,7	2,8 ± 0,6
23:1n-9	0,8 ± 0,5	1,7 ± 0,0	1,4 ± 0,5	1,7 ± 1,0	2,1 ± 0,1	2,4 ± 2,5	3,2 ± 3,0
24:1n-9	3,2 ± 1,1	3,1 ± 0,4	4,7 ± 2,7	2,9 ± 1,4	2,9 ± 0,2	2,7 ± 2,0	4,0 ± 0,7
ΣMUFA	25,3 ± 2,8	26,3 ± 2,2	31,8 ± 2,0	22,9 ± 7,3	21,2 ± 3,6	27,3 ± 0,6	26,6 ± 4,1
18:2n-6	4,8 ± 3,6	4,7 ± 1,9	1,5 ± 1,3	2,8 ± 2,0	1,8 ± 1,3	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,4
18:3n-3	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,4	0,4 ± 0,4	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,2
18:4n-3	2,0 ± 2,2	1,8 ± 0,2	1,6 ± 1,4	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,1 ± 0,8	0,8 ± 0,4
20:3n-3	0,3 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,4	8,2 ± 11,8	1,7 ± 1,4
20:4n-6	4,3 ± 0,9	12,3 ± 2,5	6,5 ± 1,6	4,4 ± 2,5	6,4 ± 1,6	4,3 ± 3,4	4,4 ± 2,5
20:5n-3	2,9 ± 0,5	7,3 ± 2,9	7,9 ± 0,9	4,0 ± 2,2	4,7 ± 0,8	3,1 ± 1,7	4,3 ± 1,8
22:6n-3	0,3 ± 0,4	0,8 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,8	1,1 ± 0,3	1,5 ± 1,5	1,8 ± 0,9
ΣPUFA	14,7 ± 1,9	26,9 ± 3,8	19,0 ± 0,6	15,6 ± 7,2	14,9 ± 2,6	19,6 ± 6,9	14,0 ± 1,9

Annexe 5 – Tableau des principaux acides gras de la fraction des lipides polaires (à T0 n=5 ; T2 n=3 ; Tf n=9) aux différents temps d'échantillonnage (en %massique du total des AG (moyenne ± écart-type))

Traitement	Lipide Polaire (LP)						
	T ₀	T ₂			T _{Final}		
		Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson	Non enrichi	Farine de Maïs	Farine de Poisson
Branchés	0,4 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2
14:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0
15:0	0,2 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0
16:0	3,1 ± 5,4	1,6 ± 0,4	0,9 ± 0,2	0,5 ± 0,1	1,1 ± 1,3	1,3 ± 1,3	0,3 ± 0,1
17:0	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
18:0	5,6 ± 3,0	6,2 ± 0,1	5,1 ± 0,9	5,1 ± 0,1	4,4 ± 1,1	3,8 ± 1,2	4,2 ± 0,9
19:0	1,3 ± 0,4	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1
20:0	3,5 ± 1,0	3,3 ± 0,5	2,9 ± 0,2	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1
22:0	2,0 ± 0,4	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,2	1,7 ± 0,4	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1
24:0	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0
ΣSFA	16,5 ± 7,6	15,1 ± 1,1	12,1 ± 1,2	12,0 ± 0,4	11,2 ± 2,4	10,8 ± 2,7	10,0 ± 1,0
16:1n-9	0,5 ± 1,0	0,3 ± 0,4	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0
16:1n-7	0,6 ± 0,5	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0
16:1n-5	1,0 ± 0,7	1,4 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,3	1,9 ± 0,4	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,4
17:1n-8	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1
18:1n-9	3,1 ± 3,4	1,7 ± 0,4	2,7 ± 1,2	1,9 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2
18:1n-7	2,8 ± 0,6	2,4 ± 0,4	3,1 ± 0,4	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,7 ± 0,3
20:1n-11	10,0 ± 2,5	10,2 ± 0,3	9,1 ± 1,2	9,8 ± 0,7	12,0 ± 0,9	11,6 ± 0,9	11,4 ± 0,4
22:1n-7	3,3 ± 1,2	3,3 ± 0,5	3,7 ± 0,3	3,7 ± 0,2	4,1 ± 0,5	3,7 ± 0,4	3,8 ± 0,6
23:1n-9	2,1 ± 0,5	2,7 ± 0,2	2,3 ± 0,1	3,2 ± 0,6	3,2 ± 0,1	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,8
24:1n-9	3,2 ± 0,9	2,9 ± 0,4	3,0 ± 0,4	3,1 ± 0,4	2,8 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,5 ± 0,6
ΣMUFA	26,8 ± 1,4	25,4 ± 1,6	26,1 ± 1,2	26,4 ± 0,5	28,7 ± 1,7	28,9 ± 0,9	29,3 ± 1,7
18:2n-6	2,1 ± 1,5	2,3 ± 0,3	2,7 ± 0,6	2,4 ± 0,4	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2
18:3n-3	0,3 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
18:4n-3	0,2 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
20:3n-3	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:4n-6	23,9 ± 5,7	26,7 ± 5,3	21,1 ± 3,0	21,7 ± 1,4	26,6 ± 0,9	22,8 ± 0,7	18,9 ± 2,8
20:5n-3	14,1 ± 4,1	14,5 ± 2,4	18,4 ± 1,9	17,9 ± 2,2	11,4 ± 0,7	12,8 ± 1,5	16,7 ± 3,7
22:6n-3	0,4 ± 0,3	0,3 ± 0,5	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,7 ± 0,3
ΣPUFA	42,1 ± 7,5	44,7 ± 2,9	44,3 ± 1,2	44,5 ± 0,9	42,8 ± 0,4	40,5 ± 1,2	40,7 ± 1,2

Écologie trophique et potentiel de bioremédiation d'*Holothuria scabra* dans le contexte de la crevetticulture en Nouvelle-Calédonie

De nos jours, la Nouvelle Calédonie a fait de la production de crevettes *Litopenaeus stylirostris* son deuxième produit d'exportation après le nickel. Avec une production de plus de 2 000 tonnes.an⁻¹, les 19 fermes de l'île doivent cependant faire face à d'importantes mortalités causées par des vibrioses se développant sur les sédiments enrichis en matière organique. Dans le but de diversifier son activité aquacole et de pallier à ces problèmes environnementaux, des solutions intermédiaires sont envisagées, incluant notamment la co-culture avec l'échinoderme dépositif *Holothuria scabra*. Afin d'évaluer la capacité d'*H. scabra* à assimiler le sédiment issu d'élevages crevetticoles et la potentielle pertinence de suppléments alimentaires visant à optimiser sa croissance, des mésocosmes recevant trois traitements (sédiment crevetticole brut, additionné de farine de maïs ou de poisson) ont été mis en place pendant sept mois. À la suite de ces expériences, nous nous sommes intéressés à la composition en acides gras et en isotopes stables des holothuries et du sédiment, permettant d'identifier les sources alimentaires et les effets de l'activité des holothuries sur la composition du sédiment. Les résultats montrent que si les holothuries semblent capables de s'alimenter à partir du sédiment crevetticole, l'addition de farine de maïs n'affecte que peu leur alimentation. En revanche, l'apport de farine de poisson semble représenter un complément azoté non négligeable. Les effets des différents traitements sur la composition du sédiment restent, eux, très limités, mettant en doute la pertinence de cette coculture dans une perspective de bioremédiation du sédiment crevetticole.

Mots clés : *Holothuria scabra*, culture en alternance, écologie trophique, bioremédiation, sédiment

Trophic ecology and bioremediation potential of *Holothuria scabra* in the shrimps' culture context in New Caledonia

Shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) farming is nowadays the second exportation product of New Caledonia after nickel. With an annual production of ca. 2000t, the 19 shrimp farms of the island are currently facing important mortalities caused by vibrioses, due to excessive organic enrichment of shrimp-farm sediments. To diversify the New Caledonian aquaculture sector, new solutions are considered, including the co-culture of shrimps with the deposit-feeding echinoderm *Holothuria scabra*. In order to evaluate the assimilation of shrimp-farm sediment by *H. scabra* and the relevance of additional food addition to the system, sea-cucumbers have been reared in mesocosms receiving three different treatments (raw shrimp-farm sediment, additional maize and fish meal) during seven months. At the end of the experiment, fatty acids and stable isotopes were measured in *H. scabra* and sediments, in order to identify the sources assimilated and assess the effect of *H. scabra* activity on the sediments. The results show that *H. scabra* assimilates shrimp-farm sediment, although the addition of maize meal does not affect its trophic ecology. The addition of fish meal provides an additional source of nitrogen that is assimilated. The effects on sediment composition remain limited, challenging the relevance of this co-culture system in a perspective of sediment bioremediation.

Key words : *Holothuria scabra*, crop rotation, trophic ecology, bioremediation, sediment