



**HAL**  
open science

**Application de techniques aquariologiques à la  
production d'alevins de truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus  
mykiss w.*, en circuit fermé: importance des facteurs  
alimentaires**

Pascal Fontaine

► **To cite this version:**

Pascal Fontaine. Application de techniques aquariologiques à la production d'alevins de truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss w.*, en circuit fermé: importance des facteurs alimentaires. Biologie animale. Institut National Polytechnique de Lorraine, 1994. Français. NNT : 1994INPL145N . tel-01776534

**HAL Id: tel-01776534**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01776534>**

Submitted on 24 Apr 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

94 INPL 4511

**INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**  
**Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires**  
**Laboratoire des Sciences Animales**

**UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1**  
**Laboratoire de Biologie Appliquée / Aquarium du Musée de Zoologie**

**THESE**  
présentée à  
l'Institut National Polytechnique de Lorraine

en vue de l'obtention du  
**DOCTORAT de l'INPL**  
par

**Pascal Fontaine**

Service Commun de la Documentation  
INPL  
Nancy-Brabois

**APPLICATION DE TECHNIQUES AQUARIOLOGIQUES A LA  
PRODUCTION D'ALEVINS DE TRUITE ARC-EN-CIEL**  
*Oncorhynchus mykiss* W. EN CIRCUIT FERME :

**IMPORTANCE DES FACTEURS ALIMENTAIRES**

Soutenue publiquement le 9 Décembre 1994 devant la commission d'examen

Membres du jury

**Alain BELAUD (Rapporteur)**  
**Roland BILLARD (Rapporteur)**  
**André G**  
**François**  
**Denis TE**  
**Bernard**



**ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE et SANTE de NANCY**





1360079099

94 IN PL 145N

**INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**  
**Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires**  
**Laboratoire des Sciences Animales**

**UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1**  
**Laboratoire de Biologie Appliquée / Aquarium du Musée de Zoologie**

[M] 1994 FONTAINE, P.

**THESE**  
présentée à  
l'Institut National Polytechnique de Lorraine

en vue de l'obtention du  
**DOCTORAT de l'INPL**  
par

**Pascal Fontaine**

Service Commun de la Documentation  
INPL  
Nancy-Brabois

**APPLICATION DE TECHNIQUES AQUARIOLOGIQUES A LA  
PRODUCTION D'ALEVINS DE TRUITE ARC-EN-CIEL**  
*Oncorhynchus mykiss* W. EN CIRCUIT FERME :

**IMPORTANCE DES FACTEURS ALIMENTAIRES**

Soutenue publiquement le 9 Décembre 1994 devant la commission d'examen

Membres du jury

**Alain BELAUD (Rapporteur)**  
**Roland BILLARD (Rapporteur)**  
**André GEORGES (Co-Directeur de Thèse)**  
**François LAURENT (Directeur de Thèse)**  
**Denis TERVER (Examineur)**  
**Bernard VIGNON (Président)**

**ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE et SANTE de NANCY**

## AVANT-PROPOS

Ce document représente l'aboutissement d'un long périple, auquel je me dois d'associer de nombreuses personnes;

Tout particulièrement, je tiens à remercier M. André Georges, Professeur Emérite, responsable du Laboratoire de Biologie Appliquée, et M. Denis Terver, Maître de Conférences, Directeur-adjoint du Musée de Zoologie et de son Aquarium Tropical (Université Henri Poincaré, Nancy 1, Ville de Nancy), pour leur soutien permanent et leur indéfectible confiance.

Mes remerciements s'adressent également à M. François Laurent, Professeur de Génie des Systèmes Biologiques (ENSAIA-INPL), pour ses nombreux conseils et son extrême disponibilité.

Parallèlement, j'exprime toute ma gratitude à M. Gérard Grasmuck et à tout le personnel de la SCEA Grasmuck pour leur aide et leur grande compréhension.

Je souhaite aussi remercier M. Bernard Vignon, Professeur de Sciences Animales (ENSAIA-INPL) et président de ce jury, pour m'avoir accepté dans son équipe de recherche. A cette occasion, je remercie les différentes personnes du Laboratoire des Sciences Animales qui m'ont aidé, et plus particulièrement M. Jean Noël Gardeur, Maître de Conférences (IUT-Université Henri Poincaré, Nancy 1) pour son étroite collaboration dans la réalisation des traitements statistiques.

Mes remerciements s'adressent également à M. Roland Billard, Professeur au Muséum National d'Histoires Naturelles de Paris, et M. Alain Belaud, Professeur, Directeur du Laboratoire d'Ichthyologie Appliquée (ENSA-INPT), pour avoir accepté de juger ce travail.

De même, je remercie M. Bruno Condé, Professeur Emérite, Directeur du Musée de Zoologie et de son Aquarium, pour les innombrables compléments d'informations qu'il m'a régulièrement apporté.

J'associe à ces remerciements M. Michel Morlot, Responsable du Laboratoire d'Hygiène et de Recherches en Santé Publique (Université Henri Poincaré, Nancy I), et M. Claude Leray, Directeur de Recherche au Centre d'Ecologie et de Physiologie Energétique (CNRS, Strasbourg), ainsi que leur équipe, pour leur très appréciable collaboration.

Je remercie vivement M. Bruno Alenda (Musée de Zoologie) pour sa participation déterminante aux réalisations graphiques.

Je n'oublie pas d'associer à ces remerciements tout le personnel fort sympathique du Musée de Zoologie et de son Aquarium qui a contribué activement aux différents aménagements des locaux expérimentaux. Conjointement, je suis très reconnaissant de l'aide que m'ont apporté mes collègues étudiants du Laboratoire de Biologie Appliquée.

Enfin, que ma famille et mes amis soient convaincus qu'ils sont intimement liés aux motivations qui m'ont animé durant ces années de travail.

## RESUME

Des disponibilités limitées en eau, des pathologies ou un approvisionnement en eau trop froide impliquant de longs cycles de production, amènent souvent les pisciculteurs à opter pour les techniques de recyclage des effluents piscicoles. Dans ce contexte, les techniques aquarologiques utilisées à l'Aquarium Tropical de Nancy et appliquées à l'aquaculture sont testées dans le cadre d'une production d'alevins de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* W.) de 1 g en eau recyclée et échauffée (18-20°C).

L'adaptation de ces techniques aux exigences d'un élevage intensif et à la réalisation d'un prototype de bassin d'alevinage (volume total de 1,8 m<sup>3</sup>) s'est effectuée sans difficultés majeures.

A partir de larves d'un poids moyen initial de 0,12-0,19 g et d'une densité à l'empoissonnement de 12 000 à 15 000 individus par bassin, cet équipement, fonctionnant en circuit fermé total, permet la production en 28 jours et avec un taux de survie supérieur à 90% d'alevins de 1 g, d'un état sanitaire irréprochable.

Les performances zootechniques enregistrées sont satisfaisantes. Des taux moyens de croissance favorables (22,8 mg/j/ind. pour la phase alevin de 0,12-0,5 g) et des indices de conversion alimentaire compris entre 0,70 et 0,74, proches des valeurs standards (0,69) sont obtenus à l'aide d'un aliment pressé traditionnel. L'utilisation d'un aliment à plus haute valeur énergétique enrichi en lipides (4 %) et appauvri en protéines (6%) assure une amélioration de ces performances et réduit les rejets azotés inorganiques.

Cependant, les insuffisances au niveau de la filtration biologique entraînent une accumulation de substances azotées inorganiques toxiques, principal facteur limitant de la capacité de production de l'équipement proposé. Une brusque élévation des teneurs en nitrites fixe la charge piscicole maximale admissible à 15-16 kg/bassin et la capacité de production à 200 kg/an.

A court terme, l'intégration du bassin d'alevinage dans un cycle de production reste toutefois envisageable.

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	9
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b> .....	11
<b>Avantages et inconvénients de l'élevage en circuit fermé</b>	
I - Elevage en eau recyclée .....	11
1.1 - Limites de l'aquaculture traditionnelle	11
1.2 - Traitement et recyclage des effluents piscicoles	11
1.3 - Aquaculture en circuit fermé	12
II - Toxicité des substances azotées inorganiques.....	15
2.1 - Azote ammoniacal	15
2.2 - Azote nitreux	19
2.3 - Azote nitrique	21
III - Biofiltration .....	22
3.1 - Description	22
3.2 - Activation d'un biofiltre	23
3.3 - Qualité de l'eau et biofiltration	24
IV - Excrétion azotée chez les poissons .....	26
4.1 - Substances excrétées	26
4.2 - Ammoniogénèse	27
4.3 - Mécanismes physiologiques de l'excrétion ammoniacale	28
4.4 - Uréogénèse	29
V - Facteurs contrôlant l'excrétion ammoniacale.....	30
5.1 - Généralités	30
5.2 - Alimentation	30
5.3 - Facteurs biotiques	33
5.4 - Facteurs abiotiques	33
VI - Conclusions .....	35
 <b>Deuxième partie : Etude expérimentale</b> .....	 36
 A - Elaboration et présentation des structures expérimentales .....	 36
I - Présentation du procédé.....	36
II - Local expérimental .....	37

III - Description des équipements expérimentaux.....	37
3.1 - Ecloserie piscicole intégrée modulable	37
3.2 - Bassin d'alevinage	38
IV - Chaîne de traitement des effluents.....	38
4.1 - Circulation de l'eau	39
4.2 - Filtration mécanique et biologique	39
4.3 - Purification bactérienne	40
4.4 - Oxygénation	40
4.5 - Thermorégulation	41
4.6 - Régulation du pH	41
4.7 - Conclusions	41
 B - Potentialités du bassin d'alevinage	 42
 I - Performances zootechniques et variations physico-chimiques de la qualité de l'eau.....	 42
1.1 - Introduction	42
1.2 - Matériel et méthodes	44
1.2.1 - Matériel biologique	44
1.2.2 - Matériel expérimental	45
1.2.3 - Méthodes	46
a - Transfert des alevins et suivi zootechnique	46
b - Alimentation	47
c - Entretien	48
d - Régulation du pH	48
e - Suivi physico-chimique hebdomadaire	48
f - Variations nyctémérales des teneurs en azote ammoniacal et nitreux	49
1.3 - Résultats	50
1.3.1 - Performances zootechniques	50
a - Mortalité	50
b - Croissance	51
c - Conversion alimentaire et état sanitaire	52
1.3.2 - Régulation du pH	53
1.3.3 - Variations de la physico-chimie de l'eau	54
1.3.4 - Evolution des concentrations en ammonium et en nitrites	60
1.3.5 - Variations nyctémérales des teneurs en ammonium et en nitrites	62



a - Ammonium	62
b - Nitrites	67
1.4 - Discussion	71
<b>II - Influence du taux de rationnement .....</b>	<b>76</b>
2.1 - Introduction	76
2.2 - Matériel et méthodes	77
2.2.1 - Matériel biologique	77
2.2.2 - Matériel expérimental	78
2.2.3 - Méthodes	78
a - Transfert des alevins et suivi zootechnique	78
b - Alimentation	79
c - Entretien	79
d - Suivi physico-chimique	79
e - Etude statistique	80
2.3 - Résultats	81
2.3.1 - Performances zootechniques	81
a - Mortalité	81
b - Croissance	82
c - Conversion alimentaire	84
2.3.2 - Variations de la physico-chimie de l'eau	85
a - Température	85
b - Oxygène dissous	85
c - pH	86
d - Bilans ioniques initiaux et finaux	87
e - Demande chimique en oxygène	89
2.3.3 - Variations des teneurs en azote ammoniacal et nitreux	90
a - Azote ammoniacal	90
b - Azote nitreux	91
2.4 - Discussion	92
<b>III - Influence de la composition de l'aliment .....</b>	<b>95</b>
3.1 - Introduction	95
3.2 - Matériel et méthodes	96
3.2.1 - Matériel biologique	96
3.2.2 - Matériel expérimental	96
3.2.3 - Méthodes	97
a - Transfert des alevins et suivi zootechnique	97

b - Alimentation	98
c - Entretien	99
d - Suivi physico-chimique	99
e - Etude statistique	99
3.3 - Résultats	99
3.3.1 - Performances zootechniques	99
a - Mortalité	99
b - Croissance	100
c - Conversion alimentaire	103
3.3.2 - Variations de la physico-chimie de l'eau	104
a - Température	104
b - Oxygène dissous	105
c - pH	106
d - Bilans ioniques initiaux et finaux	107
3.3.3 - Variations des teneurs en azote ammoniacal et nitreux	108
a - Azote ammoniacal	108
b - Azote nitreux	110
3.4 - Discussion	111
<b>Troisième partie : Discussion générale</b>	<b>113</b>
I - Techniques aquariologiques	113
II - Performances zootechniques	117
III - Qualité de l'eau	118
IV - Filtration biologique et fluctuations des concentrations en ammoniac et en nitrites	119
V - Aménagements et améliorations en perspective	121
5.1 - Alimentation	121
5.2 - Mode de fonctionnement	122
5.3 - Biofiltre	122
VI - Facteurs économiques	123
<b>Conclusion générale</b>	<b>124</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>125</b>
<b>Publications et communications</b>	<b>153</b>

## INTRODUCTION

La présente étude a pour objectif d'examiner l'application de techniques aquariologiques simples (Terver, 1977 ; 1979a ; 1979b ; 1989 ; Belhasnat, 1988 ; Fontaine, 1989 ; Terver et Fontaine, 1994), utilisées depuis 25 ans à l'Aquarium Tropical de Nancy, à la mise au point d'un procédé d'élevage intensif d'alevins de truite arc-en-ciel (TAC) *Oncorhynchus mykiss* W. de 1 g en eau échauffée (18-20 °C) et recyclée. Il y a encore quelques années, cette espèce s'appellait *Salmo gairdneri* R. (Billard et Nadot, 1989).

Cette démarche s'inscrit dans le cadre d'une convention CIFRE signée avec la SCEA Grasmuck, salmoniculture située à Pierre la Treiche - 54200 Toul. Cette société a sollicité le Laboratoire de Biologie Appliquée (LBA) dans le but de résoudre les problèmes qu'elle rencontre au niveau de son alevinage.

- Les disponibilités en eau sont limitées, notamment pendant les périodes printanière et estivale, ce qui impose l'arrêt de la production d'alevins durant ces périodes.
- Lors de fortes précipitations, la Rochotte, résurgence alimentant la pisciculture, se charge en matières en suspension. L'apparition d'une turbidité importante induit des mortalités, un ralentissement de la croissance et l'émergence de pathologies.
- Comme un grand nombre de piscicultures du Nord-Est de la France (Hattenberger, com. pers., de Kinkelin, com. pers.), cet établissement est confronté à de sévères problèmes sanitaires.

Tous ces inconvénients, ajoutés à des cycles de production longs liés aux basses températures (8-10 °C), constituent de réelles contraintes et limitent la rentabilité de l'alevinage. L'aménagement de structures fonctionnant en circuit fermé demeure une solution possible pour remédier efficacement aux problèmes posés : augmentation des disponibilités en eau et maintien d'une qualité microbienne et physico-chimique de l'eau compatible avec les exigences d'une production d'alevins de truite.

De plus, l'élevage en eau recyclée autorise notamment une thermorégulation de l'eau entre 18-20 °C, ce qui apparaît souhaitable, dans le cas présent, pour plusieurs raisons :

- Le maintien d'une température supérieure à 16 °C inhibe le développement de viroses ichthyopathogènes, telles que la nécrose pancréatique infectieuse (Dorson, 1982 ; 1985).

- Cette gamme de températures est favorable à la croissance des alevins de truite arc-en-ciel (Mc Cauley et Pond, 1971 ; Dickson et Kramer, 1971 ; Speece, 1973 ; Brocksen et Bugge, 1974 ; Mc Kay et van Toever, 1981 ; Austreng *et al.*, 1987), même si, pour cette espèce, l'optimum de croissance semble se situer entre 16-18°C (Hokanson *et al.*, 1977 ; Wurtsbaugh et Davis, 1977 ; Bahamondes-Rojas, 1982). Une étude préliminaire (Bourriel, 1993) laisse envisager qu'un séjour initial en eau échauffée assure un raccourcissement d'un mois du cycle de production par comparaison avec un élevage en salmoniculture traditionnelle.
- Toute élévation de température augmente le rendement du biofiltre et, par conséquent, les potentialités du procédé proposé (Anderson et Mavinic, 1993).

Au niveau des structures, les objectifs fixés nécessitent l'utilisation d'une écloserie et de bassins d'alevinage (BA). Le LBA disposant d'une écloserie piscicole intégrée modulable (EPIM) opérationnelle, cette étude portera principalement sur l'élaboration, à partir des techniques aquariologiques concernées, de bassins d'alevinage expérimentaux et sur la définition de leurs caractéristiques.

- Dans un premier temps, les performances de ces prototypes sont suivies au travers de l'évolution de la qualité physico-chimique de l'eau et des principaux paramètres zootechniques (croissance, conversion alimentaire, mortalité).
- Dans un deuxième temps, des expérimentations sur le rôle de l'alimentation (rationnement, composition de l'aliment) sont menées pour définir le nourrissage le plus adapté en regard du système proposé et des objectifs fixés.

Lors de ces différents protocoles expérimentaux, une attention particulière est accordée à la dynamique des substances azotées inorganiques et à la capacité bioépuratrice du lit bactérien nitrifiant.

**Tableau 1 : Taux moyens des pollutions engendrées par les piscicultures.**

	Source				
	Willoughby <i>et al.</i> , 1972 (1)	Liao et Mayo, 1974	Clark <i>et al.</i> , 1985	Bergheim <i>et al.</i> , 1989 (2)	Fivelstad <i>et al.</i> , 1991 (2)
	(g/kg aliment/jour)				
Azote ammoniacal total (N-NH <sub>3</sub> )	26,4	29,9	31-37	19	12-20
Phosphate (P-PO <sub>4</sub> )	1,63	16	5,2-5,9	7	2-11
Nitrate (N-NO <sub>3</sub> )	20	24	8-15		
Matières décantables (MS)	30				
Matières en suspension (MS)		52	40-90	235	
Demande biochimique en oxygène (O <sub>2</sub> )	34	60			

1 : données issues de Clark *et al.*, 1985.

2 : données issues de Bergheim *et al.*, 1991a.

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'ELEVAGE EN CIRCUIT FERME

#### I - Elevage en eau recyclée

##### 1.1 - Limites de l'aquaculture traditionnelle

L'aquaculture a connu un essor important ces trente dernières années et entrevoit encore de belles perspectives. En effet, les prévisions concernant les produits aquatiques indiquent que la demande augmentera dans les prochaines décennies (Hempel, 1993). Comme les productions issues des pêches stagnent, l'essentiel de ces nouveaux marchés devrait incomber à l'aquaculture. Pour satisfaire ces besoins croissants (Liao et Mayo, 1974), la profession ne dispose souvent que de structures et de techniques traditionnelles aux performances limitées, n'autorisant pas son développement et *a fortiori* l'adaptation de l'offre à la demande.

Les principaux facteurs qui restreignent l'extension et même la maîtrise des productions, sont :

- la détérioration de la qualité de l'eau (Burrows et Combs, 1968 ; Maurel, 1983 ; Hilge et Rakelmann, 1984 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990);
- le confinement géographique des aires naturelles de propagation des espèces (Burrows et Combs, 1968 ; Lucchetti et Gray, 1988 ; Chen *et al.*, 1993);
- les faibles disponibilités hydrauliques, énergétiques ou spatiales (Liao et Mayo, 1972 ; Scott et Gillespie, 1972 ; Mc Kay et van Toever, 1981 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; Chiang et Lee, 1986 ; Yang-Liang, 1990);
- le développement des pathologies (Burrows et Combs, 1968);
- les pollutions engendrées (Liao, 1970a ; Mantle, 1982 ; Querellou *et al.*, 1982 ; Butz et Vens-Cappell, 1982 ; Solbé, 1982 ; Bergheim *et al.*, 1984, 1991a, 1991b).

##### 1.2 - Traitement et le recyclage des effluents piscicoles

Pour assurer un approvisionnement en eau de bonne qualité et pour remédier aux pollutions, des procédés de traitement de l'eau sont installés soit en amont des piscicultures afin d'obtenir une qualité de l'eau compatible avec les exigences des espèces élevées, soit en aval afin de conformer les rejets piscicoles à la législation en vigueur (Liao et Mayo, 1972).

Les principales pollutions induites (Tableau 1) se résument à un enrichissement en matières organiques, en matières en suspension, en phosphates, en nitrates et en azote



ammoniacal, et à un appauvrissement en oxygène dissous (Liao, 1970a ; Ruane *et al.*, 1977 ; Mantle, 1982 ; Querellou *et al.*, 1982 ; Solbé, 1982 ; Bergheim *et al.*, 1984, 1991a).

L'intensité de ces rejets varie essentiellement avec la masse du cheptel (Liao, 1970a ; Ruane *et al.*, 1977 ; Bergheim *et al.*, 1984), la gestion du nourrissage (Butz et Vens-Cappell, 1982 ; Warrer-Hansen, 1982 ; Bergheim *et al.*, 1991a, 1991b) et la charge hydraulique traversant les enceintes d'élevage (Butz et Vens-Cappell, 1982 ; Bergheim *et al.*, 1984). La pollution engendrée augmente notamment avec la charge piscicole et une alimentation inadaptée (aliment de médiocre qualité, suralimentation...). En général, du fait d'une forte charge hydraulique (Chiang et Lee, 1986), les effluents piscicoles, pauvres en carbone (rapport C/N/P = 10/20/1 - Petit, 1974), sont peu concentrés (Brune et Gunther, 1981 ; Warrer-Hansen, 1982 ; Clark *et al.*, 1985 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990).

En moyenne, un kilogramme de Salmonidés produit 1,13 à 4,08 g N-NH<sub>3</sub>/j, 2,5 à 5 g DBO/j et 10 à 30 mg P/j (Nicolas, 1979 ; Fivelstad *et al.*, 1990). Parallèlement, pour chaque kilogramme d'aliment distribué, ces poissons rejettent 259 g de matières sèches ou MS (Butz et Vens-Cappell, 1982).

Etant donné les caractéristiques de ces rejets, les procédés d'épuration comportent normalement deux filtres : l'un mécanique et l'autre biologique.

Le premier peut être un bac de sédimentation (Henderson et Bromage, 1988 ; Lo et Liao, 1993), un concentrateur à courant tangentiel (Warrer-Hansen, 1982), un filtre triangle (Cripps, 1991) ou un tamis (Mäkinen *et al.*, 1988 ; Bergheim et Forsberg, 1993).

Le second, moins fréquent, se constitue soit d'une station de lagunage (Liao, 1970b) soit d'un filtre biologique (Cripps, 1991 ; Lo et Liao, 1993).

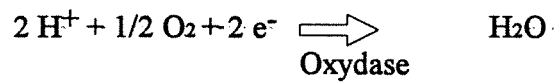
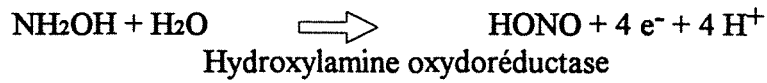
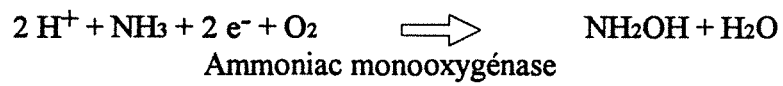
Pour lutter contre les manques d'eau et d'espace, les techniques usuelles d'épuration ont été affinées et complétées (aération, purification microbienne...) dans le but de recycler les effluents. Une revue des différents procédés existants est fournie par Liao et Mayo (1972, 1974), Petit (1974), Maurel (1983) et Chiang et Lee (1986). Ces aménagements assurent une considérable économie d'eau et d'espace, tout en garantissant un accroissement de la production (Liao et Mayo, 1974 ; Paller et Lewis, 1988). Un établissement fonctionne en eau recyclée lorsque 10 à 70 % des effluents sont réutilisés (Wheaton, 1991).

### 1.3 - Aquaculture en circuit fermé

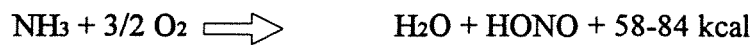
La recherche d'une plus grande maîtrise des productions et d'une indépendance accrue vis-à-vis des conditions climatiques, notamment thermiques, a conduit à la notion de circuit fermé, qui correspond à un système dont le taux de renouvellement d'eau journalier est inférieur à 10 % du volume total (Losordo, 1991).

**Figure 1** : Equations de la nitrification selon Sharma et Ahlert (1977) et Hooper (1989).

a/ Nitritation par *Nitrosomonas*.



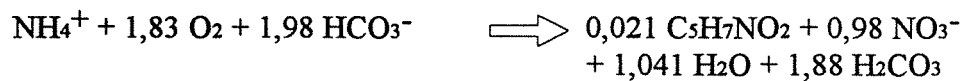
**BILAN**



b/ Nitratation par *Nitrobacter*.



c/ Equation globale de la nitrification.



Le recyclage quasi complet des effluents nécessite une chaîne de traitement comprenant une filtration mécanique, une épuration biologique, un ajustement du pH, une thermorégulation, une purification microbienne et une oxygénation de l'eau (Spotte, 1970 ; Liao et Mayo, 1972 ; Liao, 1981 ; Lucchetti et Gray, 1988 ; Hoose et Riley, 1991).

La filtration mécanique, principalement responsable de l'élimination des matières en suspension (MES), s'effectue globalement à partir des techniques exposées précédemment (Møller et Bjerck, 1981 ; Scott et Allard, 1984 ; Bovendeur *et al.*, 1987 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990 ; Losordo, 1991 ; Tchobanoglous et Burton, 1991). Quelquefois l'utilisation de clarificateurs améliore la rétention des MES et des substances colloïdales (Bohl, 1977 ; Chiang et Lee, 1986 ; Bergheim *et al.*, 1991a).

Les MES, dont les particules ont majoritairement un diamètre de quelques dizaines de micromètres (Alanärä et Cripps, 1991 ; Chen *et al.*, 1993), sont souvent responsables de toxicités physiques (Chapman *et al.*, 1987).

L'épuration biologique, qui assure la fixation et l'élimination de l'azote ammoniacal (Figure 1), est réalisée par un filtre biologique (Spotte, 1970 ; Speece, 1973 ; Johnson et Sieburth, 1974 ; Kaiser et Wheaton, 1983), au sein duquel l'ammonification, conversion de l'azote organique en azote ammoniacal, et la nitrification, transformation de ce dernier en azote nitrique, sont actives (Sharma et Ahlert, 1977 ; Martin, 1979 ; Hooper, 1989).

Ces biofiltres peuvent être :

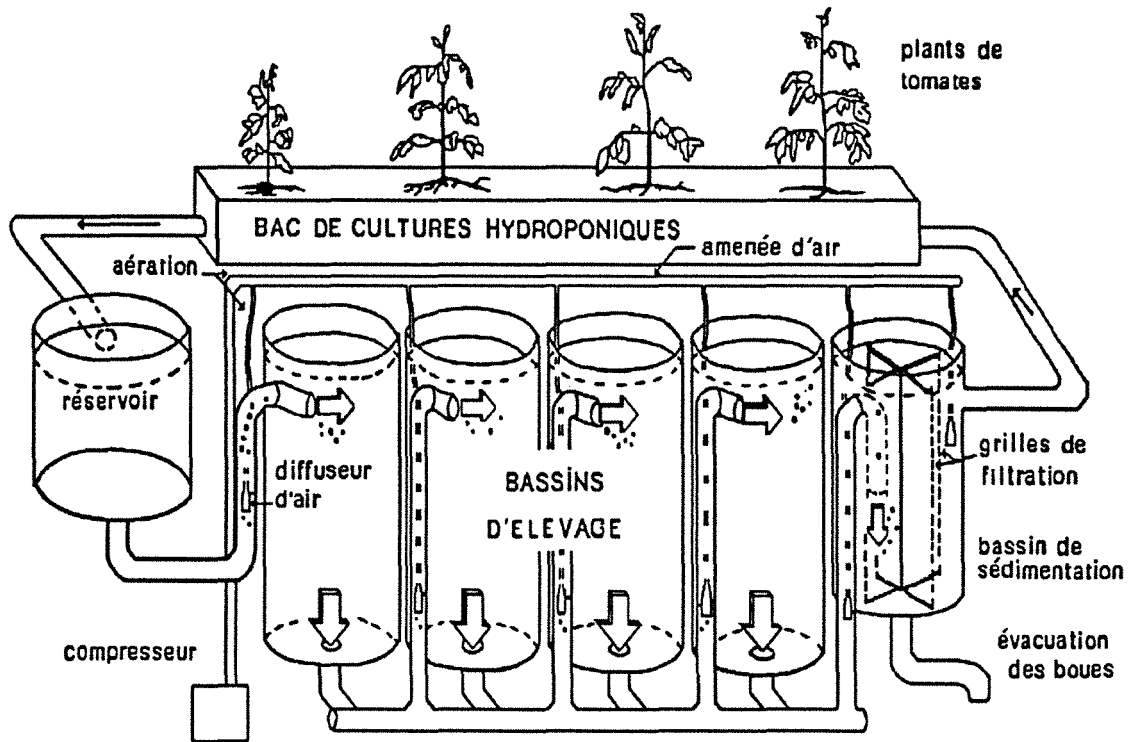
- des filtres émergés à ruissellement (Otte et Rosenthal, 1979 ; Møller et Bjerck, 1981 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990 ; van Rijn et Rivera, 1990 ; van Rijn et Arbiv, 1993) ;
- des filtres submergés à lit bactérien fixé gravitaire ou sous pression (Petit, 1974 ; Hilge et Rakelmann, 1984 ; Bovendeur *et al.*, 1987 ; Poquillon et Petit, 1989) ;
- des filtres submergés à lit bactérien fluidisé (von Scherb et Braun, 1971 ; Paller et Lewis, 1988 ; Losordo, 1991) ;
- des filtres rotatifs immergés à 40 % (Kaiser et Wheaton, 1983 ; Losordo, 1991).

Du fait des charges hydrauliques élevées, les filtres à lit fluidisé sont cependant peu applicables à l'aquaculture en circuit fermé (Liao et Mayo, 1974 ; Bovendeur *et al.*, 1987). Parfois ces unités nitrifiantes sont accompagnées d'un dénitrificateur (Reeves, 1972 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990 ; van Rijn et Arbiv, 1993) pour lutter contre les fortes teneurs en nitrates fréquemment observées dans les circuits fermés (de Graaf, 1964 ; Kawai *et al.*, 1964 ; Mc Crimmon et Berst, 1966 ; von Scherb et Braun, 1971 ; Sidall, 1974 ; Hirayama, 1974).

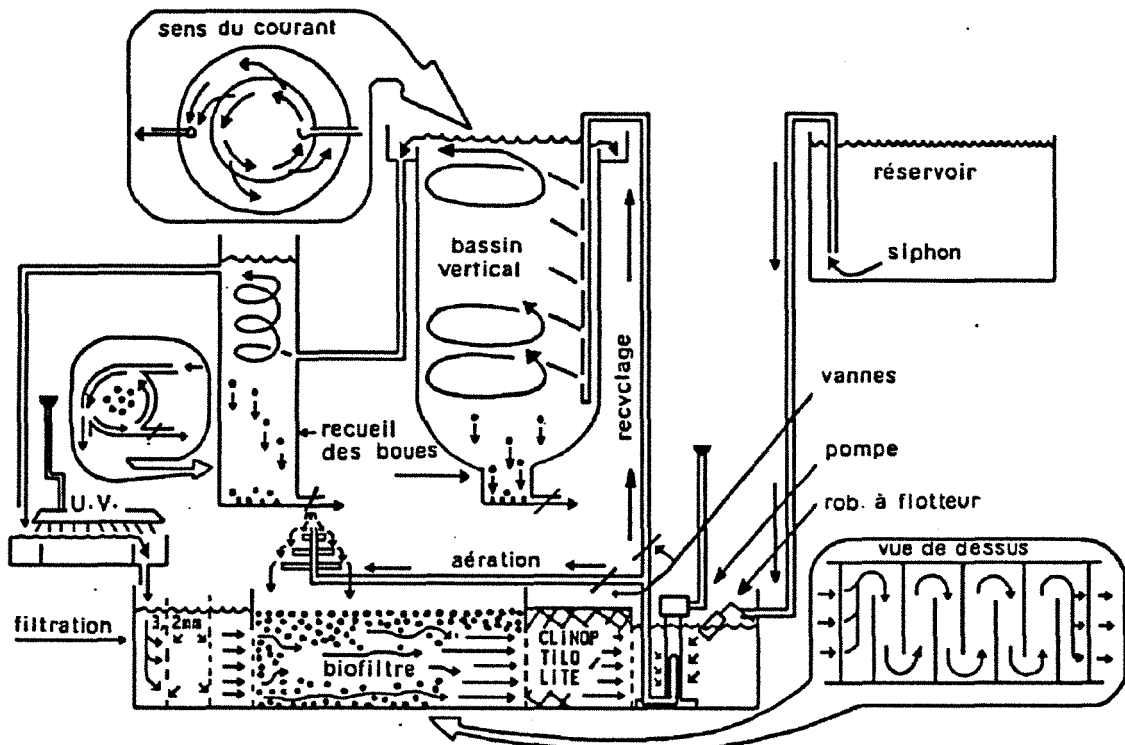
D'autres traitements physiques ou chimiques, tels que le brassage de l'eau (Reeves, 1972 ; Chiang et Lee, 1986), les échangeurs ioniques type charbon actif, zéolithe ou

Figure 2 : Présentation de deux circuits fermés expérimentaux.

Circuit fermé expérimental canadien (Mc Kay et van Toever, 1981).



Circuit fermé expérimental de l'université du Nouveau Mexique (Slone *et al.*, 1981).



clinoptilolithe (Reeves, 1972 ; Johnson et Sieburth, 1974 ; Slone *et al.*, 1981 ; Bergero *et al.*, 1991) ou l'ozone (Kobayshi *et al.*, 1993), sont parfois mis en œuvre en appoint pour éliminer l'azote ammoniacal.

Une intervention chimique est un choix opérationnel courant pour lutter contre l'acidification de l'eau (Saeki, 1958 ; Kawai *et al.*, 1964 ; Sidall, 1974 ; Hirayama, 1974). Ainsi Liao et Mayo (1974) et Jespersen (1989) utilisent le déversement d'additifs carbonatés.

La purification microbienne est obtenue soit par irradiation de rayonnement ultra-violet germicide, soit par ozonisation (Spotte, 1970 ; Otte et Rosenthal, 1979 ; Liao, 1981 ; Rosenthal, 1981 ; Haag *et al.*, 1984 ; Lucchetti et Gray, 1988 ; Tchobanoglous et Burton, 1991).

L'oxygénation et la thermorégulation sont aussi réalisées selon différentes modalités (Petit, 1986).

Pour chaque niveau de la chaîne de recyclage des effluents, il existe un grand nombre de techniques susceptibles d'être mises en œuvre, ce qui conduit à l'émergence d'une vaste panoplie de circuits fermés (von Scherb et Braun, 1971 ; Mc Kay et van Toever, 1981 ; Mayo, 1981 ; Fridman, 1981 ; Maurel, 1983 ; Petit, 1986 ; Blancheton et Coves, 1993). Cette diversité (Figure 2) est accentuée par l'adaptation de ces procédés aux exigences des différents stades physiologiques de l'espèce : reproduction (Koiller et Avtalion, 1985 ; Tamazouzt *et al.*, 1993), élevage larvaire (Cornellie *et al.*, 1993 ; Kentouri *et al.*, 1993) et grossissement.

Ceci explique partiellement la complexité de ces ouvrages qui, associée à une technicité trop importante et à des investissements élevés, handicape fortement le développement de telles piscicultures (Liao et Mayo, 1972 ; Hilge et Rakelmann, 1984 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990 ; Eikebrokk, 1990 ; Losordo, 1991 ; Chen *et al.*, 1993). De ce fait, ces procédés sont souvent restés des équipements de laboratoire (Nicolas, 1979) et de nombreux auteurs ont conclu à la nécessité de techniques simples et de petites unités autonomes (Otte et Rosenthal, 1979 ; Koiller et Avtalion, 1985 ; Lucchetti et Gray, 1988 ; Ulgenes et Eikebrokk, 1993).

A ces problèmes d'ordre technique et économique, s'ajoutent des problèmes biologiques principalement liés à l'évolution de la qualité de l'eau. Dans un élevage fonctionnant en circuit fermé, l'activité métabolique du cheptel et l'impact des techniques de recyclage modifient considérablement la physico-chimie de l'eau. Ainsi, la respiration des poissons et le déroulement de la nitrification contribuent-ils, conjointement et progressivement, à l'acidification et à la désoxygénation de l'eau (Otte et Rosenthal, 1979 ; Rosenthal *et al.*, 1981). Parallèlement, le milieu s'enrichit en nitrates (von Scherb et Braun, 1971 ; Hirayama, 1974), en azote ammoniacal et nitreux (Mc Kay et van Toever, 1981 ; Poxton *et al.*, 1981 ; Rosenthal *et*

**Tableau 2 : Rôle des excréctions branchiales ammoniacale et uréique dans l'excrétion azotée des poissons.**

Auteurs	Espèces	Eau	Observations
Smith, 1929	<i>Carassius auratus</i> <i>Cyprinus carpio</i>	eau douce	Eb = 80-90% de At
Wood, 1958	<i>Leptocottus armatus</i> <i>Platyichthys stellatus</i> <i>Taeniotoxa lateralis</i>	eau de mer	Aa + Au = 75-98% de At
Fromm, 1963	<i>Salmo gairdneri</i>	eau douce	Eba = 60% de At
Thornburn et Matty, 1963	<i>Carassius auratus</i> <i>Salmo trutta</i>	eau douce	Aa = 75% de At
Olson et Fromm, 1971	<i>Salmo gairdneri</i> <i>Carassius auratus</i>	eau douce	Aa + Au + Ap = 94% de At
McCarthy et Whitley, 1972	<i>Engraulis mordax</i> <i>Engraulis ringens</i> <i>Trachurus symmetricus</i>	eau de mer	Aa (83%) + Au (16%) + Ac (1%) = 82% de At
Vellas et Serfaty, 1974	<i>Cyprinus carpio</i>	eau douce	Aa = 55-80% de At Au = 6-14% de At
Durbin et Durbin, 1981	<i>Brevoortia tyrannus</i>	eau de mer	Aa = 69,6% de At
Jobling, 1981	<i>Pleuronectes platessa</i>	eau de mer	Aa = 75-85% de At
Tatrai, 1981a	<i>Abramis brama</i>	eau douce	Aa = 56% de At
Tatrai, 1981b	<i>Abramis brama</i>	eau douce	Aa = 45-60% de At
Beamish et Thomas, 1984	<i>Salmo gairdneri</i>	eau douce	Ab = 96% de At
Saha <i>et al.</i> , 1988	<i>Heteropneuste fossilis</i>	eau douce	Eba = 99% de Aa Ebu = 75% de Au
Cockroft et du Preez, 1990	<i>Lithognathus mormyrus</i>	eau de mer	Aa = 75-95% de At Au = 0-10% de At
Jayaram et Beamish, 1992	<i>Salvelinus namaycush</i>	eau douce	Aa = 74-93% de At Au = 4,6-17,8% de At

Eb = Excrétion branchiale, Eba = Excrétion branchiale ammoniacale, Ebu = Excrétion branchiale uréique, At = Azote total excrété, Aa = Azote ammoniacal excrété, Au = Azote uréique excrété, Ap = Azote protéique excrété, Ac = Azote créatinique excrété



*al.*, 1981 ; Jespersen, 1989), en phosphates (Mc Kay et van Toever, 1981), en sulfates (Mc Crimmon et Berst, 1966 ; Sidall, 1974), en chlorures (Hilge et Rakelmann, 1984) et en matières organiques (Kawai *et al.*, 1964 ; Liao et Mayo, 1974). Il faut noter que l'enrichissement en matières organiques, principalement à partir des particules alimentaires non ingérées et des fécès, conduit au jaunissement de l'eau (Kawai *et al.*, 1964 ; Hirayama, 1974) et à une augmentation du taux de MES. Chen *et al.* (1993) ont établi que, dans un élevage en circuit fermé, au moins 95% des MES ont, en moyenne, un diamètre inférieur à 20  $\mu\text{m}$ , une densité de 1,19 et un poids de  $10,6 \cdot 10^{-7}$  mg.

Dans ce contexte, un des facteurs primordiaux qui limitent les performances des élevages en circuit fermé, est l'accumulation de substances azotées inorganiques toxiques (Scott et Gillespie, 1972 ; Otte et Rosenthal, 1979 ; Bovendeur *et al.*, 1987 ; Paller et Lewis, 1988). Les entités concernées sont l'azote ammoniacal, nitreux et nitrique. Différents auteurs ont effectué un bilan des connaissances : EIFAC, 1971 ; Smith et Piper, 1975 ; Colt et Tchobanoglous, 1976 ; Colt et Armstrong, 1981 ; Haywood, 1983 ; EIFAC, 1984 ; Meade, 1985 ; Russo, 1985 ; Lewis et Morris, 1986 ; Eddy et Williams, 1987 et Handy et Poxton, 1993.

## II - Toxicité des substances azotées inorganiques

### 2.1 - Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal, qui provient de l'excrétion des poissons (Tableau 2) et de la décomposition des déchets organiques (fécès, résidus alimentaires), affecte considérablement les performances d'un élevage. En fonction de la toxicité présente, il induit différents types de problème.

En pisciculture, des retards de croissance sont souvent imputables à une élévation de la concentration en azote ammoniacal (Burrows, 1964 ; Larmoyeux et Piper, 1973 ; Robinette, 1976 ; Wajsbrodt *et al.*, 1993a ; Guillén *et al.*, 1993). Ainsi, Schulze-Wiehenbrauck (1976) observe, sur des TAC de 20 à 30g élevées pendant 3 à 7 semaines, une diminution de la croissance lorsque la concentration en  $\text{NH}_3$  atteint 0,15 mg/l. Chez des alevins âgés de 60 jours, Beamish et Tandler (1990) enregistrent une réduction significative de la prise alimentaire avec 0,36 mg  $\text{NH}_3$ /l. Ce problème a également été rencontré chez d'autres espèces élevées intensivement. Par exemple, le taux de croissance du poisson-chat américain *Ictalurus punctatus* est proportionnel à la concentration en ammoniac, lorsque celle-ci varie entre 0,06 et 1 mg  $\text{NH}_3$ /l (Colt et Tchobanoglous, 1978).

De plus, l'ammoniac affaiblit les populations piscicoles et les prédispose à certaines pathologies opportunistes qui peuvent être soit des bactérioses à *Flexibacter* (Daoust et Ferguson, 1983), soit des parasitoses à *Costia* ou *Trichodina* (Soderberg *et al.*, 1983).

Enfin si la concentration en azote ammoniacal est très élevée, le milieu devient toxique et de sévères mortalités surviennent (Flis, 1968a ; Soderberg *et al.*, 1983 ; Solbé et Shurben, 1989). Dans le cadre d'une production de juvéniles de daurade *Sparus aurata*, Wajsbrodt *et al.* (1993a) signalent un ralentissement de la croissance et une élévation du taux de mortalité lorsque la concentration en azote ammoniacal total atteint respectivement 4,8 et 13 mg/l.

Aux niveaux anatomique et physiologique, cette substance agit de différentes façons. Elle initie notamment des changements histopathologiques branchiaux, rénaux et hépatiques tels que des hyperplasies basales, des déchirements d'épithélium, des nécroses et des anévrismes (Thurston *et al.*, 1984 ; Daoust et Ferguson, 1983). Burrows (1964) et Klontz *et al.* (1985) mentionnent l'apparition d'hyperplasies branchiales sur des TAC respectivement soumises à 0,006 et 0,05 mg NH<sub>3</sub>/l. Au niveau branchial, ces perturbations, principalement rencontrées lors de toxicités chroniques, gênent l'absorption de l'oxygène dissous (Smart, 1976 ; Robinette, 1976). En général, sur le plan comportemental, cela se traduit par une hausse de la fréquence et de l'amplitude des mouvements respiratoires (Smart, 1978 ; Lang *et al.*, 1987). Dans certains cas, ces modifications branchiales pourraient résulter de l'action de résidus chlorés comme la monochloramine (Mitchell et Cech, 1983). Le sang et le système circulatoire sont aussi considérablement affectés par l'ammoniac. Une élévation de la teneur ammoniacale du milieu ambiant modifie les concentrations plasmatiques de différents composés. Par exemple, on observe un appauvrissement en ions Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (Buckley *et al.*, 1979 ; Paley *et al.*, 1993) et un enrichissement en acides aminés (Dabrowska et Wlasow, 1986) et en corticostéroïdes (Tomasso *et al.*, 1981 ; Spotte et Anderson, 1989). En même temps, d'après Wlasow et Dabrowska (1989), le pool de cellules sanguines subit certains remaniements (nombre, hématoците...). Il induit aussi des lésions et des congestions du système circulatoire (Flis, 1968b ; Redner et Stickney, 1979).

A coté de ces changements histologiques majeurs, cette substance demeure également un cardiotoxique (Bubien et Meade, 1986) et un neurotoxique (Smart, 1978 ; Hillaby et Randall, 1979 ; Daoust et Ferguson, 1984). Au niveau cérébral, l'ammoniac affecte le métabolisme énergétique en imposant une hypoxie (Arillo *et al.*, 1981 ; Schenone *et al.*, 1981) ou en provoquant des lésions (Thurston *et al.*, 1986).

De même, occasionnellement, il augmente l'activité diurétique (Lloyd et Orr, 1969), perturbe le comportement reproducteur et le développement des oocytes (Victor, 1990) et inhibe l'activité des glandes surrénales (Ram et Singh, 1988).

Etant donné que l'azote ammoniacal est présent dans l'eau sous une forme ionisée  $\text{NH}_4^+$  et sous une forme non ionisée  $\text{NH}_3$ , dont les proportions sont régies par la physico-chimie du milieu (Trussell, 1972 ; Bower et Bidwell, 1978 ; Ruffier *et al.*, 1981 ; Erickson, 1985 ; Rogers et Kemetson, 1985), la qualité de l'eau influence fortement sa toxicité. Ainsi le pH, la température, l'oxygène dissous, la salinité et la composition ionique interviennent dans l'expression de la toxicité ammoniacale.

Du fait d'une part d'un accroissement du pourcentage de  $\text{NH}_3$  avec une alcalinisation de l'eau (Emerson *et al.*, 1975) et d'autre part de la plus forte toxicité de la forme gazeuse (Wuhrmann et Woker, 1948), une élévation du pH augmente le pouvoir toxique de l'azote ammoniacal total (Brown, 1968 ; Armstrong *et al.*, 1978 ; Bergerhouse, 1993). Toutefois, l'ion ammonium possède, bien qu'à un degré moindre, un réel pouvoir toxique et la toxicité de  $\text{NH}_3$  semble diminuer avec une baisse du pH (Thurston *et al.*, 1981a ; Broderius *et al.*, 1985). Vu l'importance du système calco-carbonique dans l'expression du pH, le gaz carbonique est souvent perçu comme un inhibiteur de la toxicité ammoniacale (Lloyd et Herbert, 1960 ; Tabata, 1962 ; Robinette, 1976). Selon Alabaster et Herbert (1954), des teneurs de 15 à 60 mg  $\text{CO}_2/\text{l}$  réduiraient la toxicité ammoniacale.

La température influence aussi cette toxicité, mais les résultats sont contradictoires. Woker (1949) et Burrows (1964) ne décèlent aucune influence. Pour Brown (1968), Wilson *et al.* (1969) et Hazel *et al.* (1971), une élévation de la température accentue le pouvoir toxique. Par opposition, Colt et Tchobanoglous (1976) et Thurston *et al.* (1983) observent un effet inverse chez un poisson-chat et un vairon. Cette constatation a également été réalisée sur des alevins de TAC dont la température d'élevage avait été augmentée de 12 à 19°C (Thurston et Russo, 1983). Chez cette espèce, l'incidence du facteur thermique semble fonction de la taille des poissons (Ministry of Technology, 1967). En effet, la corrélation est positive chez les adultes et négative chez les juvéniles.

Contrairement au précédent paramètre, le rôle de l'oxygène dissous apparaît plus clairement. En fait, une forte teneur en oxygène dissous accroît la résistance des organismes aquatiques (Downing et Merckens, 1955 ; Lloyd, 1961 ; Bailey *et al.*, 1980 ; Krom *et al.*, 1985 ; Wajsbrodt *et al.*, 1991, 1993b). Ainsi, Larmoyeux et Piper (1973) remarquent un ralentissement de la croissance de TAC avec des concentrations de 5 mg  $\text{O}_2/\text{l}$  et de 0,5 mg  $\text{NH}_3/\text{l}$ , tandis que des teneurs de 7 mg  $\text{O}_2/\text{l}$  et de 1 mg  $\text{NH}_3/\text{l}$  n'induisent aucun changement. De même, Thurston *et al.* (1981b) montrent, à partir d'alevins de TAC âgés de 4-6 mois, que la CL50-96h évolue linéairement en fonction de la teneur en oxygène. Seuls Thurston *et al.* (1983) n'observent pas une telle influence chez le vairon, *Pimephales promelas*.

Une augmentation de la salinité atténue également l'impact d'une concentration en azote ammoniacal élevée (Herbert et Shurben, 1965 ; Miller *et al.*, 1990 ; Handy et Poxton, 1993). Un milieu isotonique (9-10 g/l) semble le plus favorable (Alabaster *et al.*, 1979 ; Harader et Allen, 1983).

**Tableau 3 : Données bibliographiques concernant les teneurs en ammoniac maximales admissibles en salmoniculture.**

Auteurs	Stade physiologique	Concentration limite
Brockway, 1950		0,3 mg/l AAT
EIFAC, 1971		0,025 mg/l NH <sub>3</sub>
Rice et Stokes, 1975	oeuf et larve	0,072 mg/l NH <sub>3</sub>
Hampson, 1976		0,38 mg/l AAT
Schulze-Wiehenbrauck, 1976	truitelle	0,13 mg/l NH <sub>3</sub>
Burkhalter et Kaya, 1977	oeuf	0,06 mg/l NH <sub>3</sub>
Fedorov et Smirnova, 1978	oeuf	0,05-0,1 mg/l NH <sub>3</sub>
Fedorov et Smirnova, 1978		0,025 mg/l NH <sub>3</sub>
Nicolas, 1979		0,025 mg/l NH <sub>3</sub>
Calamari <i>et al.</i> , 1981		0,02 mg/l NH <sub>3</sub>
Slone <i>et al.</i> , 1981		5 mg/l AAT
Wickins, 1981		0,13 mg/l NH <sub>3</sub>
Haywood, 1983		0,002 mg/l NH <sub>3</sub>
Petit, 1986		1 mg/l AAT
Beamish et Tandler, 1990	truitelle	0,24 mg/l NH <sub>3</sub>
Bejerano et Nizan, 1990		0,06 mg/l NH <sub>3</sub>

AAT : azote ammoniacal total

Enfin, la composition ionique de l'eau peut éventuellement jouer un rôle important dans l'expression de la toxicité ammoniacale (Grindley, 1945 ; Brown, 1968 ; Thurston et Russo, 1983 ; Sheehan et Lewis, 1986). La dureté (Tomasso *et al.*, 1980a) et la teneur en sodium (Colt et Tchobanoglous, 1976 ; Colt et Armstrong, 1981) sont les principaux facteurs qui interviennent. L'implication du sodium dans l'excrétion azotée explique son influence (Buckley *et al.*, 1979).

A ces paramètres abiotiques, s'ajoutent des facteurs biotiques qui modifient la sensibilité de l'ichthyofaune à l'azote ammoniacal. A ce niveau, il faut en priorité citer les variations interspécifiques (Kawanato, 1961 ; Ball, 1967 ; Oppenborn et Goudie, 1993 ; Person le Ruyet *et al.*, 1993). Tous ces auteurs confirment la plus grande sensibilité des Salmonidés vis-à-vis de l'azote ammoniacal.

Au sein d'une même espèce, la sensibilité à l'ammoniac change en fonction du stade physiologique concerné. Si les œufs sont très résistants (Daniels *et al.*, 1987), le stade larvaire constitue l'étape la plus sensible (Rice et Stokes, 1975 ; Rice et Bailey, 1980). A l'issue de cette phase, les juvéniles sont moins vulnérables (Holt et Arnold, 1983 ; Thurston et Russo, 1983 ; Yongxin *et al.*, 1986). Cependant, les adultes sont généralement plus sensibles que les juvéniles (Thurston et Russo, 1983). Ainsi pour la TAC, Calamari *et al.* (1981) trouvent des valeurs de CL50-96h supérieures à 0,486 mg NH<sub>3</sub>/l pour les œufs, de 0,160 mg NH<sub>3</sub>/l pour les alevins de 70 jours et de 0,440 mg NH<sub>3</sub>/l pour les truitelles d'une année.

Logiquement, une dégradation de l'état sanitaire accroît la sensibilité du cheptel (Thurston *et al.*, 1984).

Après un séjour dans des solutions sublétales, l'élévation des seuils létaux démontre une acclimatation des poissons à l'azote ammoniacal (Ministry of Technology, 1967 ; Lloyd et Orr, 1969 ; Schulze-Wiehenbrauck, 1976 ; Redner et Stickney, 1979 ; Thurston *et al.*, 1981c).

La toxicité ammoniacale est également fonction du temps de contact (Flis, 1968b) et des fluctuations de concentrations (Thurston *et al.*, 1981c ; Soderberg, 1985 ; Klontz *et al.*, 1985).

Enfin il faut noter que, jusqu'à un degré d'intoxication défini, cette pathologie est réversible (Thurston *et al.*, 1984 ; Wise *et al.*, 1989).

De manière schématique, la figure 3 résume les principaux facteurs affectant la toxicité de l'azote ammoniacal.

Globalement, la vie aquatique se déroule convenablement lorsque la concentration en ammoniac est inférieure à la gamme 0,0125-0,2 mg NH<sub>3</sub>/l. Pour les élevages salmonicoles, des

**Tableau 4** : Données bibliographiques concernant la toxicité aiguë de l'azote ammoniacal et de l'ammoniac (mg/l) sur les Salmonidés.

Auteurs	Stade physiologique	Paramètre	N-NH <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub>
Herbert et Shurben, 1965	adulte	CL <sub>50</sub> - 24 heures *	0,50	0,61
Brown, 1968	adulte	CL <sub>50</sub> - 48 heures	0,20-0,60	0,20-0,70
EIFAC, 1971	alevin	CL <sub>50</sub> - 24 heures	0,16	0,20
Smart, 1976	adulte	CL <sub>50</sub> - 2 heures	0,65	0,79
Smart, 1976	adulte	CL <sub>50</sub> - 55 heures	0,50	0,61
Smart, 1976	adulte	CL <sub>50</sub> - 24 jours	0,25-0,30	0,30-0,36
Burkhalter et Kaya, 1977	larve	CL <sub>50</sub> - 21 jours	0,25	0,30
Calamari <i>et al.</i> , 1981	oeuf	CL <sub>50</sub> - 96 heures	>0,4	> 0,49
Calamari <i>et al.</i> , 1981	alevin	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,13	0,16
Calamari <i>et al.</i> , 1981	truitelle	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,36	0,44
Thurston <i>et al.</i> , 1981c	adulte	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,25-0,41	0,30-0,50
Haywood, 1983	adulte	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,16-0,25	0,20-0,30
Russo, 1985	adulte	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,16-0,90	0,20-1,10
Daniels <i>et al.</i> , 1987	larve	CL <sub>50</sub> - 24 jours	0,28	0,34
Handy et Poxton, 1993	adulte	CL <sub>50</sub> - 96 heures	0,68-2,00	0,83-2,43

\* CL<sub>50</sub> - 24heures : concentration létale induisant 50% de mortalité après 24 heures d'exposition.



teneurs inférieures à 0,002-0,06 mg NH<sub>3</sub>/l sont conseillées (Tableau 3). Chez ces espèces, les seuils de toxicité aiguë donnés sont variables ; ils oscillent entre 0,083 et 2,43 mg NH<sub>3</sub>/l (Tableau 4). Chez la TAC, Miller *et al.* (1990) mentionnent que le rapport de concentrations entre les seuils de toxicité aiguë et chronique est de l'ordre de 10 à 30.

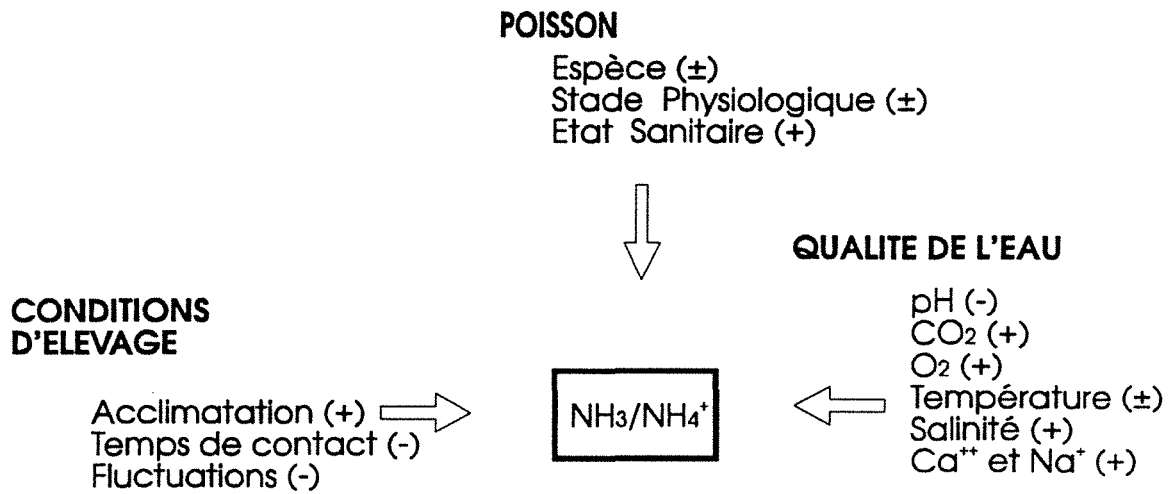
## 2.2 - Azote nitreux

L'azote nitreux, issu de la première étape du processus de nitrification (Figure 1) qui opèrent dans les filtres biologiques (Brown et Mc Leay, 1975), est également très néfaste pour la faune aquatique (Russo *et al.*, 1974 ; Konikoff, 1975). Selon la toxicité du milieu ambiant, il diminue la croissance, prédispose aux maladies et induit de brutales mortalités (Smith et Williams, 1974 ; Brown et Mc Leay, 1975). A ce sujet, lors d'un élevage de poissons-chats *Ictalurus punctatus* pendant 31 jours, Colt *et al.* (1981) constatent une diminution de la croissance à une concentration de 1,6 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l et l'apparition de mortalités à 3,7 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l. Dans des essais concernant la même espèce, Hanson et Grizzle (1985) prouvent que les nitrites diminuent la résistance de ces poissons face à deux bactéries pathogènes, *Aeromonas hydrophyla* et *Flexibacter columnaris*. De même, une élévation de la teneur en azote nitreux réduit la tolérance de cette espèce aux fortes températures (Watenpaugh *et al.*, 1985).

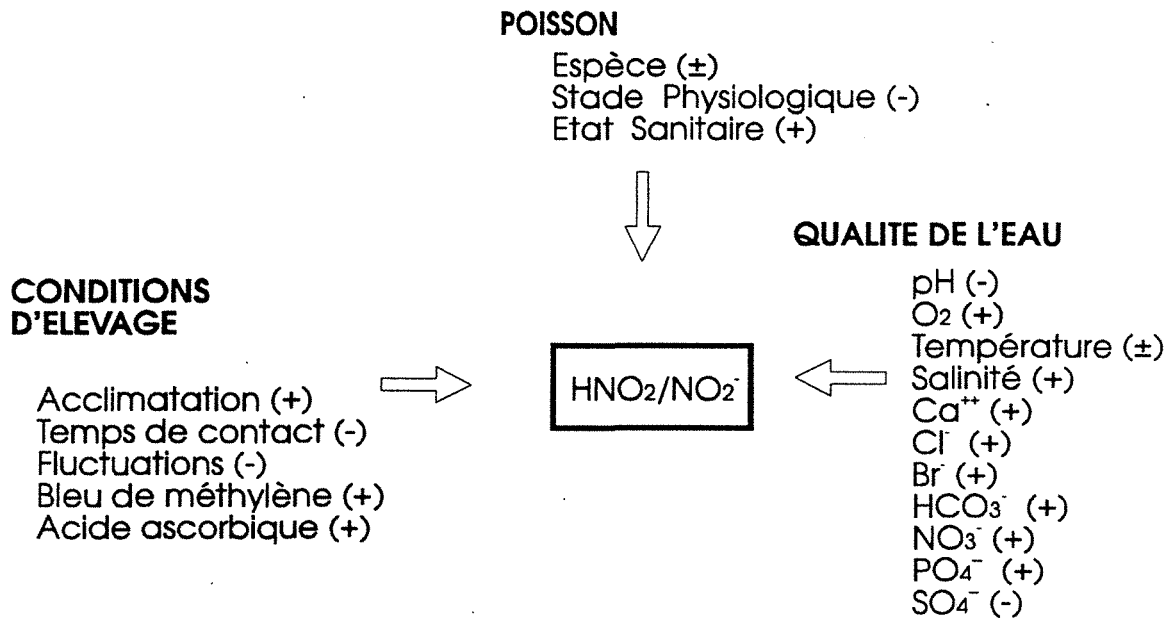
Après avoir pénétré dans le sang soit par le biais d'un transport actif au niveau des ionocytes branchiaux (Bath et Eddy, 1980 ; Krous *et al.*, 1982 ; Eddy *et al.*, 1983 ; Gaino *et al.*, 1984) soit par une diffusion branchiale passive sous la forme de HNO<sub>2</sub> (Eddy *et al.*, 1983), les nitrites induisent de nombreux changements hématologiques et notamment une hausse de la méthémoglobinémie (Shterman, 1970 ; Cameron, 1971 ; Smith et Russo, 1975). A partir de 5 lots de jeunes poissons-chats (10 g) exposés à 1, 2, 3, 4 et 5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l pendant 24 heures, Huey *et al.* (1980) notent respectivement des taux de méthémoglobine de 35, 79, 79, 85 et 90%. Ce taux est directement lié à la concentration en nitrites. Scarano *et al.* (1984), Scarano et Saroglia (1984) et Tucker *et al.* (1989) observent que ces changements s'accompagnent d'une anémie hémolytique provoquée par des macrophages de la rate. Avec une réduction de l'hématocrite, Jenssen *et al.* (1987), Jenssen (1990) et Williams *et al.* (1993) relèvent des effets drastiques des nitrites sur la respiration d'une part, du fait d'un abaissement de pression artérielle en oxygène, et sur la composition plasmatique en électrolytes d'autre part. Dans ce dernier cas, ils enregistrent une diminution des chlorures et une forte augmentation des ions potassium (94%), des bicarbonates et des lactates.

Toutefois l'action d'une méthémoglobine réductase dans les érythrocytes atténue l'intoxication, surtout si les conditions d'élevage redeviennent plus favorables (Huey et Beitinger, 1982 ; Freemann *et al.*, 1983 ; Scott et Harrington, 1985). De même, le développement d'une méthémoglobinémie en présence de nitrites n'apparaît pas être l'unique mécanisme d'intoxication (Crawford et Allen, 1977 ; Margiocco *et al.*, 1983). L'action de cette

**Figure 3** : Principaux paramètres influençant la toxicité de l'azote ammoniacal.



**Figure 4** : Principaux paramètres influençant la toxicité de l'azote nitreux.



(+) : Inhibition  
 (-) : Stimulation  
 (±) : Sans effet ou effet variable

substance sur des organes vitaux tels que le foie (Arillo *et al.*, 1984), le cerveau (Margiocco *et al.*, 1983) et la rétine (Hofer et Gatumu, 1994) pourrait être la principale cause de mortalité. Dans ces organes oxyphiles, l'hypoxie, engendrée par les nitrites, provoque des dommages biochimiques et ultrastructuraux irréversibles telles que la nécrose des neurones rétiens (Hofer et Gatumu, 1994) et l'altération des lysosomes et mitochondries hépatiques (Arillo *et al.*, 1984).

Comme dans le cas de l'azote ammoniacal, le pouvoir toxique des nitrites est corrélé à la qualité de l'eau. Le pH et la minéralisation de l'eau nuancent l'agressivité de l'acide nitreux. Ainsi, une élévation du pH diminue la toxicité des ions nitrites (Wedemeyer et Yasutake, 1978), mais accentue celle de  $\text{HNO}_2$  (Russo *et al.*, 1981). Considérant les rapports de concentration rencontrés aux pH usuels en pisciculture, seule la teneur en  $\text{NO}_2^-$  importe. Conjointement au pH, quelques ions jouent un rôle majeur. Indéniablement, les chlorures inhibent le pouvoir toxique des nitrites (Perrone et Meade, 1977 ; Tucker *et al.*, 1989 ; Alcaraz et Espina, 1994 ; Rodriguez-Moreno et Tarazona, 1994). Il s'agit d'une inhibition compétitive au niveau des sites de pénétration des  $\text{NO}_2^-$  (Meade et Perrone, 1980). La présence de  $\text{Cl}^-$  évite le développement de la méthémoglobinémie (Tomasso *et al.*, 1980b). En fait, le taux de méthémoglobine est fonction du rapport  $a = \text{Cl}^-/\text{NO}_2^-$  (Schwedler et Tucker, 1983 ; Hasan et Mc Intosh, 1986). Une protection maximale est obtenue lorsque ce rapport est de 15-16 (Tomasso *et al.*, 1979 ; Bath et Eddy, 1980). Pour Eddy et Williams (1987), un rapport de cet ordre ( $a = 17$ ) s'avère uniquement nécessaire pour les Salmonidés, un rapport inférieur ( $a = 8$ ) étant suffisant pour les autres espèces. Les chlorures ne sont pas les seuls ions à intervenir. Ainsi avec une teneur en  $\text{Cl}^-$  de 200 mg/l, Wedemeyer et Yasutake (1978) remarquent, chez des truitelles arc-en-ciel, une diminution de la CL50-96h par 2 et par 35 en utilisant respectivement du NaCl et du  $\text{CaCl}_2$ . Ces résultats confirment les observations de Crawford et Allen (1977). Le calcium, en modifiant les perméabilités membranaires, s'oppose également à la pénétration des nitrites. Cependant, son impact semble s'estomper avec l'âge (Wedemeyer et Yasutake, 1978) et varier selon l'espèce concernée (Tomasso *et al.*, 1980b). D'autres anions interviennent plus modestement dans l'expression de la toxicité de  $\text{NO}_2^-$ . Les nitrates et les bicarbonates atténuent la sensibilité des poissons face aux nitrites, tandis que les sulfates la renforcent (Bath et Eddy, 1980 ; Russo *et al.*, 1981).

L'importance de la physico-chimie de l'eau est telle, que de nombreux auteurs envisagent la pratique d'une réelle chimiothérapie pour lutter contre une intoxication aux nitrites. Wedemeyer et Yasutake (1978) préconisent l'adjonction, à titre préventif, de 50 mg  $\text{CaCl}_2$ /l. Des amendements en  $\text{CaCl}_2$ , KCl, NaCl et  $\text{NaHCO}_3$  peuvent être pratiqués (Huey *et al.*, 1980), l'introduction de  $\text{NaHCO}_3$  demeurant moins efficace (Bowser *et al.*, 1983).

**Tableau 5 : Données bibliographiques concernant les teneurs en nitrite maximales admissibles en salmoniculture.**

Auteurs	concentration limite (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /l)
Bohl, 1977	0,012
Nicolas, 1979	0,2
Wickins, 1981	0,33
Petit, 1986	0,049
Eddy et Williams, 1987	0,05

**Tableau 6 : Données bibliographiques concernant la toxicité aiguë de l'azote nitreux (mg/l) sur la truite arc-en-ciel.**

Auteurs	Poids (g)	Température (°C)	pH	Dureté calcique (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	Cl <sup>-</sup> (mg/l)	* CL <sub>50</sub> - 96 heures
Russo <i>et al.</i> , 1974	2,3	9,5-12,3	7,9	199		0,39
	12,1					0,22
	235					0,20
Brown et Mc Leay, 1975	9,1	12	6,4	3-9		0,23
Russo et Thurston, 1977	70	10	7,9	199	1,2	0,4
	99		7,7		41	12,2
Wedemeyer et Yasutake, 1978	5	10	6,8	25	1,0	0,5
	5		8,4	300	8,4	10,3
	10		6,8	25	1,0	0,9
	10		8,4	300	8,4	12,1
Russo <i>et al.</i> , 1981	28	10	7,5	174	10,9	3,7
	79		7,9	177	10,4	3,5
	147		8,5	188	10,6	4,3
	244		8,6	184	10,5	5,3
Eddy <i>et al.</i> , 1983	10-25	10	6,8	8ppm Ca <sup>++</sup>	7,0	3,9

\* CL<sub>50</sub> - 96 heures : concentration létale provoquant 50% de mortalité après 96 heures.

La présence de bleu de méthylène dans l'eau et le taux d'acide ascorbique compris dans l'aliment diminuent aussi cette toxicité (Wedemeyer et Yasutake, 1978 ; Blanco et Meade, 1980). L'acide ascorbique s'oppose à la formation de méthémoglobine (Wise *et al.*, 1988).

Pour une concentration donnée, la nocivité est fonction de l'espèce, du stade physiologique et du temps d'exposition. Ainsi, Palachek et Tomasso (1984a) ont défini des CL50-96h de 7,1, 16,2 et 140,2 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l respectivement pour *Ictalurus punctatus*, *Tilapia aurea* et *Micropterus salmoides*. Tomasso (1986) confirme la grande résistance des Centrarchidés vis-à-vis des nitrites et remarque que ces espèces ne concentrent pas les NO<sub>2</sub><sup>-</sup> dans leur plasma. Au contraire, les Salmonidés, qui présentent des taux plasmatiques jusqu'à 60 fois supérieurs à la concentration externe (Margiocco *et al.*, 1983), y sont très sensibles (Smith et Williams, 1974). Ces derniers indiquent également que les alevins sont moins vulnérables que les TAC âgées d'une année. Palachek et Tomasso (1984b) confirment, chez le vairon *Pimephales promelas*, le développement de cette sensibilité avec le vieillissement des poissons. Cette constatation pourrait découler de la plus grande affinité de l'hémoglobine des larves pour l'oxygène (Iuchi, 1973). Toutefois, il faut noter que Russo *et al.* (1981) ne vérifient pas cette évolution sur des TAC de 2 à 387 g.

Enfin pour une concentration donnée, le temps d'exposition au toxique influence la réponse des poissons (Margiocco *et al.*, 1983). Ce paramètre joue également un rôle dans les phénomènes d'acclimatation (Urrutia et Tomasso, 1987).

A titre de remarque, il faut souligner l'observation de changements histopathologiques hépatiques (métastases, proliférations des canaux biliaires, tumeurs) liés à la formation de nitrosamines cancérigènes à partir de nitrites (Ashley et Halver, 1968 ; Sato *et al.*, 1973).

La figure 4 résume succinctement l'influence des divers paramètres qui interviennent dans la toxicité de l'azote nitreux.

Pour les élevages salmonicoles, des teneurs inférieures à 0,012-0,33 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l sont conseillées (Tableau 5). Pour ces espèces, les seuils de toxicité aiguë donnés sont variables, ils oscillent entre 0,33-2,89 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l (Tableau 6).

### 2.3 - Azote nitrique

L'azote nitrique, découlant de la seconde phase de la nitrification, présente beaucoup moins de danger pour les poissons, d'où son accumulation dans les élevages en circuit fermé.

Cependant, à de très fortes concentrations, des problèmes surviennent (Trama, 1954 ; Knepp et Arkin, 1973 ; Bohl, 1977). de Graaf (1964) et Westin (1974) fixent le taux maximal

Tableau 7 : Liste non exhaustive de matériaux utilisés comme support de biofiltration.

Catégorie	Type
Matériaux naturels bruts	Roches volcaniques : - Alumino-silicates (Zéolithe, Clinoptilolithe) - Pouzzolanes Sable ou graviers Charbon
Matériaux naturels façonnés	Argiles expansées (biolites, biogrog, bioaluminolites...)
Matériaux synthétiques	Copeaux de polyéthylène Bandes de polyuréthane Mousses de polyether Bioballes Structures rotatives

admissible en pisciculture aux alentours de 250-350 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l, tandis que Colt et Armstrong (1981) et Wickins (1981) fixent cette limite vers 400-450 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l. Ces concentrations ne sont pas mortelles ; les seuils de toxicité aiguë apparaissent en général à des taux supérieurs à 4000 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l (Colt et Armstrong, 1981 ; Russo, 1985).

Les nitrates affectent alors principalement l'appareil circulatoire, les organes hématopoïétiques et les branchies (Grabda *et al.*, 1974 ; Jha et Pandey, 1989). La sensibilité est variable (Pierce *et al.*, 1993). Pour quatre espèces de poissons marins, ces auteurs trouvent des CL50-96h allant de 573 à plus de 3000 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

Selon Rubin et Elmaraghy (1977), la toxicité des nitrates est influencée par le pool cationique.

La maîtrise des teneurs en azote inorganique demeure donc un défi permanent pour la réussite des élevages en circuit fermé. L'impact de ces nuisances dépend étroitement des performances du filtre biologique nitrifiant et des modalités de l'excrétion azotée des peuplements piscicoles en place (Hilge et Rakelmann, 1984).

### III - Biofiltration

#### 3.1 - Description

Un filtre biologique est principalement constitué d'un lit bactérien plurispécifique (Anthonisen *et al.*, 1976 ; Martin, 1979 ; Gijs-Kuenen et Robertson, 1987 ; Bianchi *et al.*, 1992).

Ses performances sont directement corrélées à ses caractéristiques techniques (Heinsbroek et Kamstra, 1990). Les colonies bactériennes étant fixées à un support, la capacité d'épuration est liée à la surface disponible (Spotte, 1970 ; Speece, 1973 ; Lesel, 1979 ; Nicolas, 1979 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990), ce qui conduit à l'utilisation de matériaux de filtration variés (Tableau 7) présentant de hautes surfaces spécifiques (500-2000 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>).

Le besoin de tels supports est intimement lié au fait que la capacité de filtration est fonction du nombre de germes nitrifiants (Sharma et Ahlert, 1977 ; Brune et Gunther, 1981 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; van Niel *et al.*, 1993a).

La gestion du biofiltre, notamment la régulation de la charge hydraulique et l'entretien, influence également son efficacité. Le lavage des filtres, souvent réalisé à contre-courant et à une vitesse de l'ordre de 30 cm/mn (Haug et Mc Carty, 1972), implique un décrochement

partiel des germes nitrifiants (Kawai *et al.*, 1965 ; Spotte, 1970). Ce type d'opération diminue donc ponctuellement les performances du biofiltre. De même, le taux d'élimination des divers substrats de la nitrification augmente avec une élévation du temps de contact micro-organisme/polluant (Petit, 1974 ; Hilge et Rakelmann, 1984). Liao et Mayo (1974) obtiennent une épuration de 20% et de 60% de la concentration initiale en azote ammoniacal avec respectivement des temps de rétention de 20 et 38 minutes. La nitratisation est la phase la plus sensible aux hausses de la charge hydraulique (Hilge et Rakelmann, 1984).

Toutefois, si l'on considère la quantité de substrat fixée quotidiennement, il s'avère préférable d'accroître le flux d'eau en circulation (Forster, 1974). Il faut noter que les filtres submergés acceptent des débits élevés (Petit, 1974). Brune et Gunther (1981) enregistrent des taux d'élimination de  $\text{NH}_3$  de 95 à 99% avec un temps de contact de 3 mn et une concentration initiale de 0,02 N- $\text{NH}_3$  mg/l.

En fait, un abaissement de la charge hydraulique semble uniquement intéressant lorsque les conditions ambiantes sont défavorables (Sharma et Ahlert, 1977).

### 3.2 - Activation d'un biofiltre

Des problèmes liés à la mise en place initiale des microflore bactériennes retardent fréquemment l'empoisonnement des cuves d'élevage. En effet, l'émergence de pics successifs d'azote ammoniacal et de nitrites corrélée avec l'obtention tardive d'une population bactérienne équilibrée constitue un sérieux inconvénient (Kawai *et al.*, 1964 ; Spotte, 1970 ; Otte et Rosenthal, 1979 ; Krüner et Rosenthal, 1984). En utilisant la voie naturelle, la mise en service de nouvelles structures nécessitent beaucoup de temps pour obtenir un filtre bienensemencé : 30-35 jours pour Forster (1974) et Collins *et al.* (1975a) et 40-60 jours pour Hirayama (1974).

Dans un filtre neuf, des apports partiels de filtres actifs (Spotte, 1970 ; Carmignani et Bennett, 1977), des ensemencements chimiques (Manthe et Malone, 1987 ; Sun et Klontz, 1990) et des inoculations avec des cellules lyophilisées (Poquillon et Petit, 1989) ou gelées (Perfettini et Bianchi, 1990) sont souvent pratiqués pour accélérer cette phase transitoire. En pratique, la première technique est la plus couramment utilisée, avec une incorporation de substratsensemencés à hauteur de 5-20% du volume du biofiltre (Bower et Turner, 1981). Mais la possible introduction de germes pathogènes a conduit à l'élaboration de solutions commerciales contenant des bactéries lyophilisées (Bower et Turner, 1984).

Le procédé d'accélération de l'établissement de la nitrification dans un filtre biologique, breveté par Mc Carty et Carmignani (1975), permet de ramener la durée de cette phase à 10-15 jours. Les ensemencements les plus efficaces descendent jusqu'à 8 jours (Drouin *et al.*, 1989).



### 3.3 - Qualité de l'eau et biofiltration

La qualité de l'eau agit directement sur le rendement de la nitrification (Spotte, 1970 ; Nicolas, 1979).

A cause du caractère aérobie de ce processus (Figure 1), la teneur en oxygène dissous est particulièrement importante (Kawai *et al.*, 1965 ; Liao et Mayo, 1974 ; Martin, 1979 ; Kaiser et Wheaton, 1983). Ainsi de faibles teneurs en oxygène dissous réduisent le taux de nitrification, notamment en inhibant l'activité des germes du genre *Nitrobacter* (Hanaki *et al.*, 1990). Cela se traduit logiquement par une augmentation de la teneur en nitrites (van Rijn et Rivera, 1990). Yang et Alleman (1992) considèrent que les faibles concentrations en oxygène dissous n'agissent pas directement sur le métabolisme microbien, mais favorisent l'accumulation d'un inhibiteur de la nitrification : l'hydroxylamine.

Pour Strenstrom et Poduska (1980) et Poquillon et Petit (1989), le seuil minimal tolérable est de 4 mg O<sub>2</sub>/l, alors que d'autres auteurs fixent la limite aux environs de 2 mg O<sub>2</sub>/l (Tchobanoglous et Burton, 1991 ; Balmelle *et al.*, 1992). Une inhibition complète de la nitrification interviendrait vers 0,6-0,7 mg O<sub>2</sub>/l (Forster, 1974).

En moyenne, il faut 4,3 à 4,6 mg d'oxygène pour nitrifier 1 mg d'azote ammoniacal (Haug et Mc Carty, 1972 ; Petit, 1974 ; Sharma et Ahlert, 1977 ; Tchobanoglous et Burton, 1991). D'une manière synthétique, on admet que, dans un élevage en circuit fermé, les besoins en oxygène du biofiltre sont identiques à ceux de la biomasse piscicole (Scott et Gillespie, 1972 ; Hirayama, 1974 ; Losordo, 1991).

De plus, lors de la traversée du filtre, un épuisement progressif du taux d'oxygène dissous induit une répartition hétérogène du lit bactérien (Hirayama, 1965 ; Kawai *et al.*, 1965 ; Otte et Rosenthal, 1979). Cette zonation affecte les performances du filtre.

Le taux de nitrification varie également suivant les disponibilités en azote ammoniacal (Liao et Mayo, 1974 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; Tchobanoglous et Burton, 1991). En fait, ce paramètre intervient conjointement avec l'oxygène, le rapport (b) O<sub>2</sub>/N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> définit la cinétique de la nitrification (Bovendeur *et al.*, 1987 ; Bovendeur et Klpawijk, 1989 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990). Celle-ci est d'ordre 0 si b < 3,6 et d'ordre 0,5 si b ≥ 3,6. Auparavant, la nitrification était perçue, selon l'application, soit d'ordre 0 (Wong-Chong et Loehr, 1975) soit d'ordre 1 (Martin, 1979 ; Weatherley, 1984).

Toutes ces observations engagent souvent les aquaculteurs à oxygéner l'eau avant son entrée dans le biofiltre (Heinsbroek et Kamstra, 1990).

L'autotrophie des germes nitrifiants (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*...) vis-à-vis du carbone implique une consommation de la réserve alcaline de l'eau (Haug et Mc Carty, 1972 ; Collins *et al.*, 1975a ; Anderson et Mavinic, 1993). Globalement, 6 à 7,4 mg de bicarbonate sont

Tableau 8 : Influence des oligoéléments sur la nitrification.

Oligoélément	Action	Auteur
Ca <sup>++</sup>	positive, surtout pour la nitrification	Marshall <i>et al.</i> , 1971 Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977
Cl <sup>-</sup>	positive	Kaiser et Wheaton, 1983
Co <sup>++</sup>	négative sur la nitrification	Kaiser et Wheaton, 1983
Cu <sup>++</sup>	positive sur la nitrification négative sur la nitrification, si en excès	Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977 Kaiser et Wheaton, 1983
Fe <sup>++</sup>	positive	Sidall, 1974 Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977
Fe <sup>+++</sup>	négative sur la nitrification	Kaiser et Wheaton, 1983
K <sup>+</sup>	positive sur la nitrification	Kaiser et Wheaton, 1983
Mg <sup>++</sup>	positive, surtout pour la nitrification	Marshall <i>et al.</i> , 1971 Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977 Martin, 1979 Kaiser et Wheaton, 1983
Mn <sup>++</sup>	positive	Kaiser et Wheaton, 1983
Mo <sup>++</sup>	positive	Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977 Kaiser et Wheaton, 1983
Na <sup>+</sup>	positive	Sharma et Ahlert, 1977
PO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	positive, surtout pour la nitrification	Mc Carty et Carmignani, 1976 Sharma et Ahlert, 1977 Martin, 1979 Kaiser et Wheaton, 1983
SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	aucune	Kaiser et Wheaton, 1983
Zn <sup>++</sup>	négative sur la nitrification	Kaiser et Wheaton, 1983

consommés pour la dégradation d'1 mg d'azote ammoniacal (Sharma et Ahlert, 1977 ; Otte et Rosenthal, 1979). Cette observation indique clairement la nécessité d'une eau alcaline pour le développement de tout lit bactérien. Balmelle *et al.* (1992) conseillent une alcalinité minimale de 8,64 mg HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l.

Globalement, la nitrification s'opère convenablement dans une gamme de pH allant de 6 à 9 (Kawai *et al.*, 1965 ; Haug et Mc Carty, 1972 ; Wong-Chong et Loehr, 1975), avec une zone optimale située entre 8 et 8,5 (Reeves, 1972 ; Martin, 1979 ; Balmelle *et al.*, 1992). Quinlan (1984) mentionne que la valeur de l'optimum varie en fonction de la concentration en azote ammoniacal. De même, selon Kaiser et Wheaton (1983) et Balmelle *et al.* (1992), il semble que la nitrification nécessite un pH plus élevé (7,8-8,5) que la nitrification (6,6-6,7).

Cependant, l'incidence de ce paramètre prête encore à confusion puisque de nombreux auteurs observent une diminution de l'activité de la nitrification dès que le pH est inférieur à 7,2 (Spotte, 1970 ; Petit, 1974), alors que d'autres n'enregistrent ce phénomène qu'à 6,5-6,6 (Haug et Mc Carty, 1972 ; Collins *et al.*, 1975a). Si l'acidification de l'eau se poursuit, une inactivation totale de la nitrification survient à un pH de 5,5 (Forster, 1974).

Entre 5°C et 35°C, la croissance bactérienne, et par conséquent le taux de nitrification, augmente avec une élévation de la température (Knowles *et al.*, 1965 ; Reeves, 1972 ; Wong-Chong et Loehr, 1975 ; Martin, 1979 ; Kaiser et Wheaton, 1983). Seuls Haug et Mc Carty (1972) ne mentionnent qu'une faible évolution de la nitrification avec un passage de 15 à 25°C. Le *preferendum* thermique oscille entre 30 et 35°C (Kawai *et al.*, 1965 ; Spotte, 1970 ; Sharma et Ahlert, 1977). Donc en deçà de cette plage optimale, toute élévation thermique augmente le rendement de la nitrification (Reeves, 1972 ; Liao et Mayo, 1974 ; Sharma et Ahlert, 1977 ; Nicolas, 1979). A noter que Seaman et Schwarz (1991) observent une nitrification active dans un élevage ostréicole à des températures proches de 0°C.

Ce processus biologique est aussi très sensible à la richesse en matières organiques (Reeves, 1972 ; Liao et Mayo, 1974 ; Sharma et Ahlert, 1977 ; Hanaki *et al.*, 1990) car celles-ci favorisent le développement de germes nitrifiants, hétérotrophes vis-à-vis du carbone, concurrençant la microflore autotrophe (Verhagen et Laanbroek, 1991 ; Wijffels *et al.*, 1993). Or les germes hétérotrophes ont une croissance plus rapide (Haug et Mc Carty, 1972 ; Hilge et Rakelmann, 1984) et présentent, en moyenne, un taux de nitrification 100 à 1000 fois inférieur à celui des populations autotrophes (van Niels *et al.*, 1993b). Selon ces auteurs, un rapport C/N ≥ 10,4 provoque la disparition des bactéries autotrophes.

Un autre problème demeure la possibilité d'auto-intoxication des germes nitrifiants à partir de leurs nutriments. En effet, Anthonisen *et al.* (1976) et Suthersan et Ganczarczyk (1986) ont établi que NH<sub>3</sub> et HNO<sub>2</sub> inhibent la nitrification, et plus particulièrement la

Tableau 9 : Influence des pesticides et des antibiotiques sur la nitrification.

Substance	Action	Auteur
Bleu de méthylène (5 mg/l)	négative	Collins <i>et al.</i> , 1975b
Chloramphénicol (50 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1976
Cl <sub>2</sub> (1,5 mg/l)	négative	Marstaller <i>et al.</i> , 1992
CuSO <sub>4</sub> (1 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b
Erythromycine (50 mg/l)	négative	Collins <i>et al.</i> , 1976
Formol (25 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b
Formol (25 mg/l) + Vert Malachite (0,1 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b
KMnO <sub>4</sub> (4 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b
NaCl (5 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b
NaClO <sub>2</sub>	négative	Hynes et Knowles, 1983
NaClO <sub>3</sub>	négative	Hynes et Knowles, 1983
Nifurpirinol (1 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1976
Oxytétracycline (50 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1976
Sulfamérazine (50 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1976
Vert Malachite (0,1 mg/l)	nulle	Collins <i>et al.</i> , 1975b

nitratation. Dans le cadre de procédés de potabilisation des eaux, une élévation de la teneur en nitrites est observée quand la concentration en azote ammoniacal atteint 0,1-5 mg N-NH<sub>3</sub>/l (Balmelle *et al.*, 1992 ; Abeling et Seyfried, 1992 ; Liu et Capdeville, 1994). En aquaculture, van Rijn et Rivera (1990) mentionnent une élimination correcte des nitrites lorsque la teneur en N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> est maintenue inférieure à 1 mg/l.

Un lit bactérien subit également l'influence d'autres facteurs physico-chimiques : la salinité (Kawai *et al.*, 1965 ; Nijhof et Bovendeur, 1990), les oligoéléments (Tableau 8), la lumière (Sharma et Ahlert, 1977 ; Olson, 1981) et les pesticides ou antibiotiques (Tableau 9).

D'une manière générale, les bactéries nitrifiantes sont plus sensibles aux variations physico-chimiques que les bactéries nitrifiantes (Alleman, 1984 ; Jayamohan *et al.*, 1988 ; Diab et Shilo, 1988).

Ces données permettent d'une part une estimation des capacités d'épuration des filtres en fonction des conditions de fonctionnement et d'autre part le dimensionnement et l'ajustement du filtre en fonction des besoins. Ces derniers dépendent principalement des mécanismes de l'excrétion azotée rencontrés chez les poissons et des facteurs qui les affectent.

## IV - Excrétion azotée chez les Poissons

### 4.1 - Substances excrétées

De longue date, les travaux menés sur l'excrétion azotée des poissons supportent des études de physiologie comparée (Denis, 1913 ; Grollmann, 1929 ; Delaunay, 1929 ; Baldwin, 1948 ; 1960 ; Black, 1960 ; Prosser, 1962 ; Florkin, 1965 ; Forster et Goldstein, 1969 ; Fontaine, 1969 ; Brown, 1970 ; Goldstein, 1972, Vellas, 1979 ; Mommsen et Walsh, 1991), qui ont notamment permis la distinction des deux modes d'excrétion azotée rencontrés dans ce phylum : l'ammoniotélisme et l'uréotélisme. Les poissons uréotéliques, qui excrètent essentiellement de l'urée, regroupent les Elasmobranches, les Crossoptérygiens et les Bradyodontes ; alors que les espèces ammoniotéliques, qui rejettent majoritairement de l'azote ammoniacal N- (NH<sub>3</sub> + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), se composent des Téléostéens (Salmonidés), des Holostéens, des Brachyptérygiens et des Dipneustes (Fischer, 1976 ; Vellas, 1979 ; Tatrai, 1981a ; Durbin et Durbin, 1981 ; Cockroft et du Preez, 1990).

Toutefois, si l'azote ammoniacal et l'urée sont les deux principaux composés azotés éliminés (Tableau 2), les poissons rejettent également d'autres métabolites azotés tels que des acides aminés (Tableau 10), de la triméthylamine, de l'oxyde de triméthylamine, de la créatine,

**Tableau 10 :** Composition moyenne en acides aminés libres ( $\mu\text{mole/dl}$ ) dans l'urine de carpe, *Cyprinus carpio*, et de poisson-chat, *Ictalurus punctatus* (Ogata et al., 1983).

Acide aminé	Carpe	Poisson-chat
Phosphosérine	0,6	1,9
Taurine	65,2	76,9
Acide aspartique	0,2	0,1
Thréonine	1,2	0,3
Sérine	0,2	0,2
Acide glutamique	0,2	0,3
Glutamine	0,2	
Sarcosine	0,7	
Glycine	0,6	0,5
Alanine	0,2	0,2
Valine	1,1	1,2
Cystine	0,3	
Méthionine	0,1	0,2
Cystathionine	0,1	
Isoleucine	0,2	0,4
Leucine	0,5	0,6
Tyrosine	0,2	
Phénylalanine	0,3	
$\beta$ -Alanine	0,6	
$\beta$ -Acide amino-iso-butylique		0,8
Ethanolamine	0,6	0,7
Ornithine	0,1	
Lysine	1,2	0,2
1-Méthylhistidine		0,8
Histidine	1,4	
3-Méthylhistidine		
Arginine	0,5	0,2
Asparagine	0,7	
Proline	0,9	
TOTAL	78,1	85,5
Azote ammoniacal	123,9	110,9
Urée	419,4	66,1
Azote (mg/dl)	15,4	9,1

de la créatinine et de l'acide urique (Goldstein et Forster, 1970 ; Watts et Watts, 1974 ; Vellas et Serfaty, 1974 ; Vellas, 1979). La triméthylamine et son oxyde sont plus particulièrement excrétés par les formes marines (Shewan, 1951 ; Prosser, 1962 ; Watts et Watts, 1974).

Chez les Téléostéens, l'excrétion azotée est largement extrarénale (Smith, 1929 ; Wood, 1958). Ainsi, hormis quelques cas précis (Davenport et Sayer, 1986), l'azote ammoniacal et l'urée sont éliminés par les branchies (Pequin et Serfaty, 1963 ; Vellas et Serfaty, 1967 ; Maetz, 1971 ; Balm *et al.*, 1988), l'urine assurant uniquement l'évacuation de la créatine, de la créatinine et de l'acide urique (Forster et Goldstein, 1969).

L'azote urinaire ne représente que 3% de l'excrétion azotée totale (Fromm, 1963 ; de Vooyo, 1968). En fait, chez les Téléostéens marins et dulcicoles (Black, 1960), l'excrétion azotée s'effectue à 90% au niveau des branchies où l'azote ammoniacal et l'urée représentent respectivement 55-80% et 6-14% de l'azote total excrété (Vellas et Serfaty, 1974). Globalement, l'excrétion ammoniacale est au moins 4 fois plus élevée que l'excrétion uréique (Mc Carthy et Whitley, 1972 ; Vellas et Serfaty, 1974 ; Davenport et Sayer, 1986).

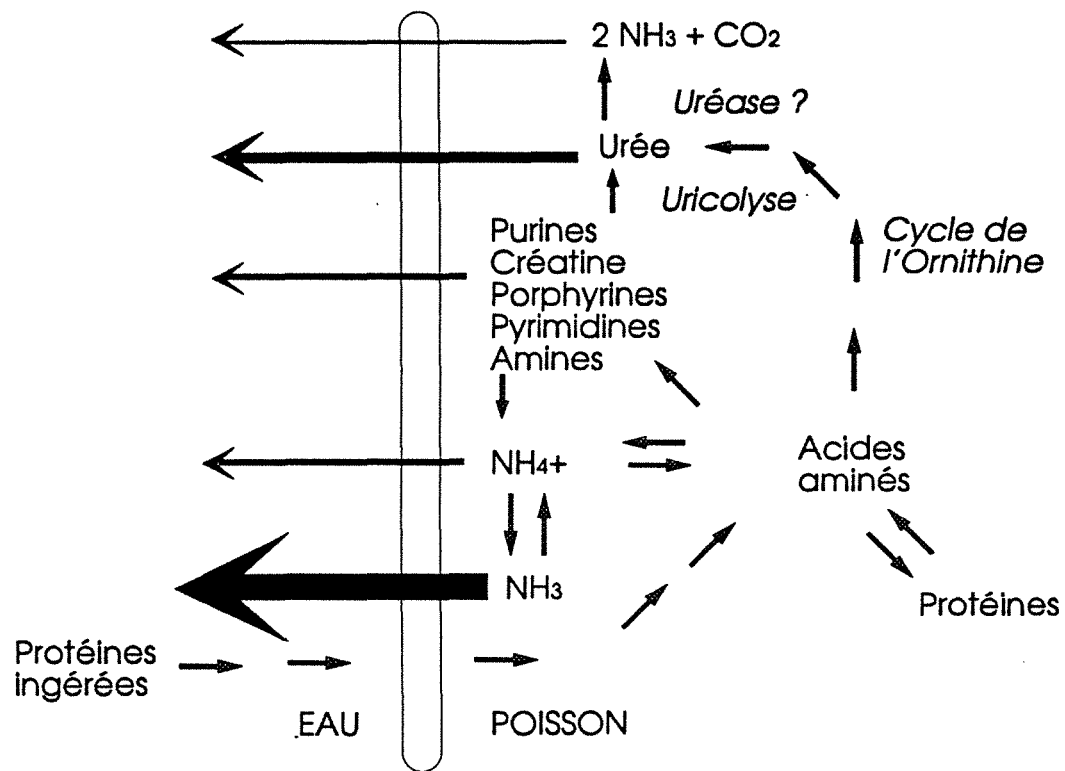
Parfois, dans des situations précises, l'excrétion uréique est plus importante (Korsgaard, 1994). Ainsi une période de jeûne alimentaire favorise l'excrétion uréique (Vellas, 1973 ; Fischer, 1977 ; Cui et Wootton, 1988 ; Jayaram et Beamish, 1992). Sur des bars *Dicentrarchus labrax* de 5 à 235 g soumis à un jeûne alimentaire pendant 9 jours, Guerin-Ancey (1976a) observe un abaissement rapide des taux d'excrétions ammoniacale et uréique. Le premier se stabilise au bout de 6 à 8 jours et le second après 4 à 5 jours. L'excrétion ammoniacale est sensiblement plus affectée par un tel jeûne. De même, une baisse des disponibilités en eau, en relation avec une rapide accumulation des excréments, conduit à des effets identiques (Janssens et Cohen, 1968 ; Olson et Fromm, 1971 ; Saha *et al.*, 1988 ; Saha et Ratha, 1990 ; Walsh *et al.*, 1990). Enfin, la spécificité de certaines eaux, notamment une hypercalinité (pH = 9,6-10), favorise l'uréotélisme (Randall *et al.*, 1989 ; Wright *et al.*, 1993 ; Wilkie *et al.*, 1993).

Pour une espèce donnée, la quantité d'azote éliminée varie, mais les proportions des différentes substances rejetées demeurent constantes. Par opposition à cette faible variabilité intraspécifique, il existe une forte variabilité interspécifique (Wood, 1958).

#### 4.2 - Ammoniogenèse

L'azote ammoniacal éliminé par les branchies n'est pas élaboré au niveau de cet organe, mais préformé dans le foie et les reins, puis véhiculé jusqu'aux branchies *via* le coeur (Pequin et Serfaty, 1968 ; Mc Bean *et al.*, 1966 ; de Vooyo, 1969 ; Pequin *et al.*, 1970 ; Janicki et Lingis, 1970 ; Payan et Pic, 1977 ; Randall *et al.*, 1982).

**Figure 5** : Les principales voies de l'ammoniogenèse chez les poissons dulcicoles, d'après Randall et Wright (1987).





L'ammoniogenèse hépatique apparaît deux fois plus importante que celle qui se réalise au niveau rénal (Pequin, 1962 ; Stieber et Cvancara, 1977 ; Walton et Cowey, 1982).

Une production ammoniacale intervient également dans les muscles pendant les périodes d'intense activité (Hochachka et Driedzic, 1978 ; van Waarde, 1981 ; van Waarde et Kesbeke, 1982).

L'hypothèse d'une importante ammoniogenèse dans les branchies (Goldstein et Forster, 1961 ; Goldstein *et al.*, 1964 ; Maetz et Garcia-Romeu, 1964 ; Payan et Matty, 1975) semble définitivement abandonnée, bien que Wilson et Fowlkes (1976) et Walton et Cowey (1977) mentionnent une production branchiale occasionnelle.

Les voies métaboliques ammoniogéniques (Figure 5) sont fortement liées au catabolisme protéique (Gerking, 1955a ; Cho *et al.*, 1982 ; Randall et Wright, 1987 ; Cho et Kaushik, 1990) et à la gluconéogenèse (Demaël-Suard *et al.*, 1974 ; van den Thillart et Kesbeke, 1978 ; French *et al.*, 1981 ; Walton, 1986 ; Singh et Singh, 1989).

Dans les organes ammonioformateurs (foie, rein, muscle), des désaminations, des désamidations, des transaminations et des transdésaminations, principalement au niveau mitochondrial, sont responsables de la production d'azote ammoniacal (Makarewicz et Zydowo, 1962 ; Pequin et Serfaty, 1968 ; Salvatore *et al.*, 1965 ; Pequin, 1967 ; van Waarde, 1981 ; van Waarde et Kesbeke, 1981 ; Campbell *et al.*, 1983).

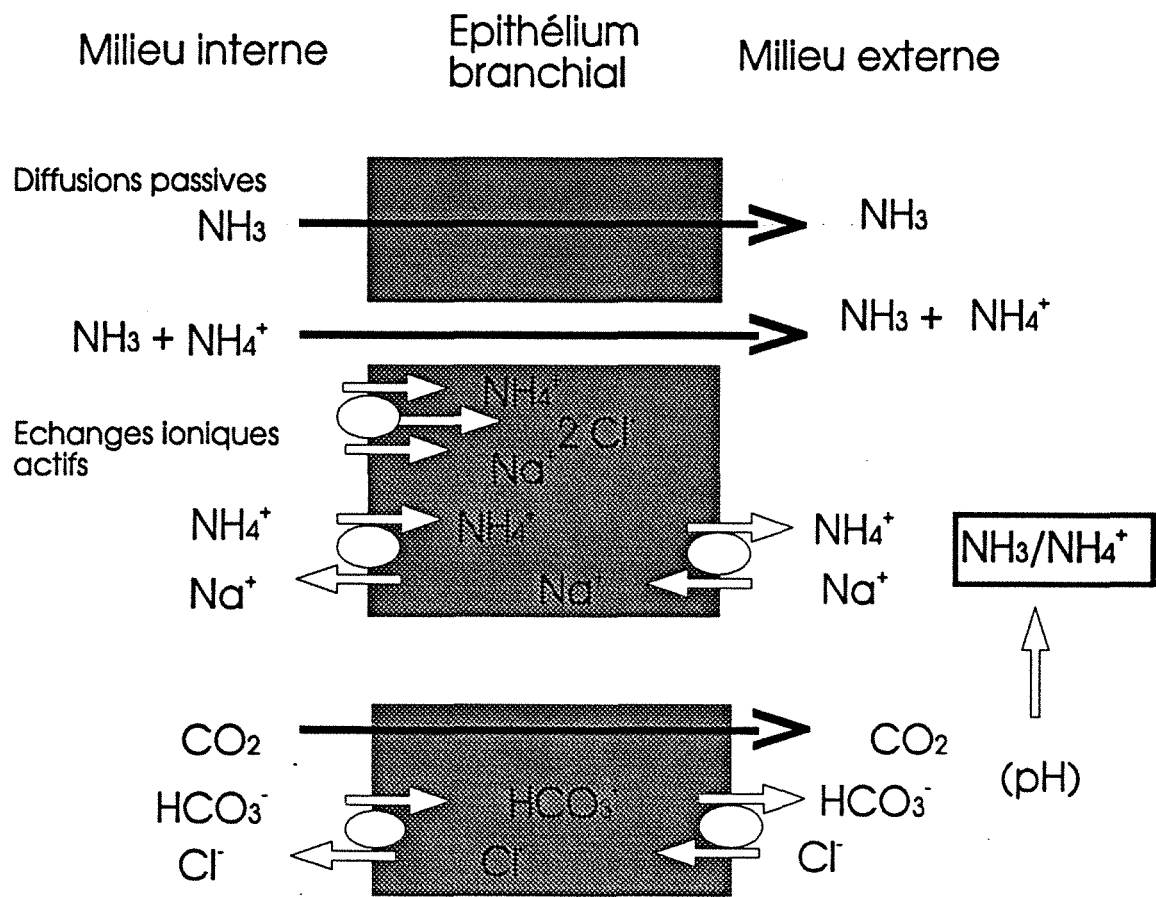
L'importance relative des différents organes ammoniogéniques varie en fonction d'une part de l'état physiologique et nutritionnel de l'animal (Watts et Watts, 1974) et d'autre part de la qualité de l'eau (van Waarde, 1983). Dans le premier cas, un régime alimentaire riche en acides aminés implique principalement une sollicitation des transdésaminases hépatiques et rénales à l'encontre du cycle de l'AMP désaminase musculaire. Dans le second cas, une diminution de la teneur en oxygène dissous favorise une production ammoniacale par des mécanismes anaérobies musculaires au détriment d'une production hépatique aérobie.

Il faut également noter le rôle majeur des amides, comme la glutamine et l'asparagine, dans la régulation de l'ammoniémie (Parent, 1969 ; Pequin *et al.*, 1969 ; Vellas et Serfaty, 1975 ; van Waarde, 1988) et la protection des organes ammoniosensibles, tel que le cerveau (Wu, 1963 ; Vellas, 1961, 1968 ; Mehrle et Bloomfield, 1974 ; Levi *et al.*, 1974 ; Iwata, 1988).

#### 4.3 - Mécanismes physiologiques de l'excrétion ammoniacale

L'ammoniac est une molécule de petite taille, très liposoluble et de faible coût énergétique, qui peut facilement traverser les membranes cellulaires (Goldstein et Forster, 1970).

**Figure 6** : Mécanismes branchiaux intervenant dans l'excrétion ammoniacale, d'après Evans *et al.* (1989) et Heisler (1990).



Au niveau des branchies, différents mécanismes physiologiques (Evans et Cameron, 1986), présentés par la figure 6, assurent son élimination : diffusion passive d'ammoniac, sous forme ionisée  $\text{NH}_4^+$  et non ionisée  $\text{NH}_3$  (Maetz, 1972) et échanges ioniques actifs  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  (Krogh, 1938 ; Maetz et Garcia-Romeu, 1964 ; Maetz, 1971 ; Kerstetter et Keeler, 1976 ; Evans, 1977, 1980). La diffusion passive d'ammonium est surtout rencontrée chez les espèces marines (Goldstein *et al.*, 1982 ; Evans et Cameron, 1986 ; Evans et More, 1988 ; Evans *et al.*, 1989).

Chez les Téléostéens d'eau douce, une excrétion mixte, à partir d'une diffusion de  $\text{NH}_3$  et d'échanges  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ , est observée (Maetz, 1973 ; Payan, 1978 ; Hillaby et Randall, 1979 ; Wright et Wood, 1985 ; Balm *et al.*, 1988). L'importance relative de ces deux voies varie avec l'activité physique (Holeton *et al.*, 1983) et la qualité de l'eau, notamment la charge ammoniacale, l'acidité et la concentration en sodium (Randall *et al.*, 1982 ; Cameron et Heisler, 1983 ; Randall et Wright, 1987, 1989 ; Claiborne et Evans, 1988). Ainsi une élévation de la teneur ammoniacale du milieu ambiant favorise les échanges ioniques  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ , du fait de la disparition du gradient de concentration favorable à l'élimination directe de  $\text{NH}_3$  (Heisler, 1990 ; Walsh et Henry, 1991 ; Paley *et al.*, 1993). Les échanges  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  sont fortement liés à l'élimination du dioxyde de carbone (Wright *et al.*, 1989), car le  $\text{CO}_2$  excrété intervient dans la régulation du pH à la surface de l'épithélium branchial. Or le gradient de pH transmembranaire influence fortement son homologue ammoniacal, impliqué dans les transports passifs de  $\text{NH}_3$ .

#### 4.4 - Uréogénèse

Si chez les Elasmobranches, les Holocéphales et les Dipneustes, le cycle de Krebs-Henseleit ou ornithine-urée et l'uricolyse (Figure 5) interviennent conjointement dans l'uréogénèse (Brunel, 1937a ; Brown, 1970 ; Goldstein et Forster, 1970, 1971 ; Goldstein, 1972), cette dernière concerne essentiellement la voie uricolytique chez les Téléostéens (Vellas, 1961, 1968 ; Vellas et Serfaty, 1967 ; Cvanvara, 1969a, 1969b ; van Waarde, 1983 ; Randall *et al.*, 1989).

En fait, bien qu'un cycle de l'ornithine-urée complet ait été identifié chez certains Téléostéens (Huggins *et al.*, 1969 ; Read, 1971 ; Wilson, 1973 ; Depêche et Chiapello, 1977 ; Saha et Ratha, 1989), cette voie de synthèse y joue, d'une manière générale, un rôle limité pour plusieurs raisons : cycle incomplet (Forster et Goldstein, 1965, 1969 ; Chiu *et al.*, 1986), faible activité des enzymes du cycle (Vellas-Clos, 1973 ; Walton et Cowey, 1977) ou perte de ses propriétés pendant l'ontogénèse (Depêche *et al.*, 1979).

Par contre, la dégradation de l'arginine, d'origine alimentaire ou tissulaire, est souvent considérée comme une voie uréogénique complémentaire (Vellas *et al.*, 1969 ; Cvanvara, 1969c ; Vellas et Creach, 1972 ; Rice et Stokes, 1973 ; Boudigue, 1978).

Les organes uréogéniques sont principalement le foie et, à un degré moindre, les reins (Brunel, 1937b ; Vellas et Serfaty, 1967 ; Vellas *et al.*, 1970 ; Vellas, 1979).

L'urée est une molécule bipolaire, peu liposoluble, plus grosse que NH<sub>3</sub> et plus coûteuse sur le plan énergétique, ce qui implique une traversée des membranes cellulaires par l'intermédiaire de pores aqueux (Forster et Goldstein, 1969).

## V - Facteurs contrôlant l'excrétion ammoniacale

### 5.1 - Généralités

Comme l'indique le tableau 2, l'excrétion azotée est largement dominée par une élimination branchiale d'ammoniac. Or les teneurs en azote ammoniacal du milieu ambiant influencent fortement les performances zootechniques d'un élevage aquacole. Aussi du fait de la prépondérance du catabolisme protéique dans l'ammoniogenèse et de l'approvisionnement énergétique, des nutritionnistes ont étudié les bilans azotés et énergétiques dans le but de mieux définir les besoins nutritionnels et de limiter les pertes ammoniacales (Elliot, 1976, 1979 ; Cho *et al.*, 1982 ; Kaushik, 1983 ; Lelong, 1987 ; Iwata *et al.*, 1990 ; Cho et Kaushik, 1990 ; Cockroft et du Preez, 1990).

Ces réflexions regroupent des travaux sur la digestibilité des différents composés alimentaires (Inaba *et al.*, 1962 ; Nose, 1967 ; Kaushik et Luquet, 1976), sur le transit digestif (Possompes *et al.*, 1975 ; Windell *et al.*, 1976 ; Fauconneau *et al.*, 1983) et sur la respiration (Kutty, 1972, 1978 ; Peer et Kutty, 1981).

A titre de remarque, il faut noter l'hétérogénéité des résultats obtenus, souvent expliquée par la diversité des méthodes expérimentales employées (Cho *et al.*, 1982 ; Jobling, 1983 ; Lelong, 1987). Par exemple, pour la détermination de l'azote fécal, il existe un grand nombre de techniques pour la collecte des fécès (Gerking, 1952 ; Birkett, 1969 ; Ogino *et al.*, 1973 ; Windell *et al.*, 1978a ; Choubbert *et al.*, 1979).

Malgré ces problèmes, ces travaux ont apporté un grand nombre d'enseignements.

### 5.2 - Alimentation

L'excrétion ammoniacale apparaît directement liée à l'alimentation, car la quantité d'ammoniac excrétée est proportionnelle à la quantité d'azote ingérée (Iwata, 1970 ; Gerking, 1971 ; Savitz, 1971a ; Infante, 1974 ; Savitz *et al.*, 1977 ; Tatrai, 1981a ; Kaushik *et al.*, 1984 ; Cui et Wootton, 1988). Par opposition et excepté pour Dabrowski et Kaushik (1984),

Tableau 11 : Les pics d'excrétion postprandiaux observés chez différentes espèces.

Auteurs	Espèces	Conditions expérimentales	D
Brett et Zala, 1975	<i>Oncorhynchus nerka</i>	pm = 28,6g, t = 15°C	4-4,5h
Kutty, 1978	<i>Oncorhynchus nerka</i>		4h
Kaushik, 1980	<i>Salmo gairdneri</i>	pm = 130g, t = 15-18°C	3-4h
	<i>Cyprinus carpio</i>	pm = 350g, t = 16-18°C	6h
Paulson, 1980	<i>Salmo gairdneri</i>	pm = 15-154g, t = 12-12,5°C	7-8h
Durbin et Durbin, 1981	<i>Brevoortia tyrannus</i>	pm = 302g, t = 20°C	1-2h
Tatrai, 1981b	<i>Abramis brama</i>	pm = 8,1 et 40,3g, t = 15 et 20°C	4h
Buckley et Dillmann, 1982	<i>Paralychthys dentatus</i>	larves, t = 15-18°C	3-4h
Kaushik et Dabrowski, 1983a	<i>Cyprinus carpio</i>	larves et juvéniles t = 23°C	15-30mn
Lied et Braaten, 1984	<i>Gadus morhua</i>	pm = 256-482g, t = 8°C	5-6h
Kaushik et de Olivia-Teles, 1985	<i>Salmo gairdneri</i>	pm = 51g, t = 18°C	4-6h
Gallagher et Matthews, 1987	<i>Anguilla rostrata</i>	pm = 0,75-1g, t = 22-23°C	4h
Poxton et Allouse, 1987	<i>Scophthalmus maximus</i>	pm = 7-23g, t = 15-16°C	3-4h
Jayaram et Beamish, 1992	<i>Salvelinus namaycush</i>	pm = 171-268g, t = 10°C	4-12h
Koshio <i>et al.</i> , 1993	<i>Penaeus japonicus</i>	pm = 0,5-2g, t = 26°C	3h

D = durée entre la distribution du repas et l'apparition du pic d'excrétion ammoniacal, pm = poids moyen des individus testés, t = température

l'excrétion uréique est généralement indépendante du nourrissage (Brett et Zala, 1975 ; Tatrai, 1981b ; Beamish et Thomas, 1984).

En effet, l'excrétion ammoniacale présente des pics postprandiaux (Tableau 11), dont l'apparition et l'amplitude dépendent fortement des quantités ingérées et de la fréquence d'alimentation. Plus le repas est important, plus le pic d'excrétion apparaît tardivement (Kaushik, 1980 ; Tatrai, 1981b ; Ramnarine *et al.*, 1987) et plus son amplitude est élevée (Poxton et Allouse, 1987 ; Chakraborty *et al.*, 1992). Aussi les taux d'excrétion postprandiaux relevés sont très variables. Jobling (1981) observe chez de jeunes flets *Pleuronectes platessa* que l'excrétion ammoniacale postprandiale peut atteindre 2 à 11 fois le niveau de l'excrétion préprandiale (Ei). Des taux d'excrétion 4, 5, 9 et 10 fois supérieurs à Ei sont également enregistrés respectivement pour la TAC (Rychly et Marina, 1977), le saumon nerka *Oncorhynchus nerka* (Brett et Zala, 1975), la morue *Gadus morhua* (Lied et Braaten, 1984) et la larve de carpe *Cyprinus carpio* (Kaushik et Dabrowski, 1983a). Le nombre de pics dépend du nombre de repas, ce qui explique l'importance de la stratégie alimentaire adoptée (Kaushik, 1980 ; Poxton et Allouse, 1987). Par comparaison avec une fréquence de nourrissage de 6 repas/heure, Poxton et Lloyd (1989) démontrent, en anguilliculture, qu'une distribution de la ration en deux repas égaux réduit considérablement la pollution ammoniacale engendrée.

Ces fluctuations se superposeraient à un rythme biologique interne de l'excrétion (Rychly et Marina, 1977 ; Kaushik *et al.*, 1982 ; Bergheim *et al.*, 1991b ; Echevarria *et al.*, 1993), non décelé par Kutty (1978).

Cette excrétion postprandiale est qualifiée d'exogène par comparaison à une excrétion endogène indépendante de l'état nutritionnel (Kaushik, 1983). Cette dernière est généralement calculée soit à l'aide d'aliments dépourvus de protéines (Gerking, 1955a ; Ogino *et al.*, 1980 ; Kaushik et Dabrowski, 1983b), soit en faisant jeûner les poissons (Guerin-Ancey, 1976a ; Kaushik et Dabrowski, 1983b). Lorsqu'une période de jeûne intervient, l'excrétion azotée diminue rapidement (Storer, 1967 ; Savitz, 1971a ; Fischer, 1977), puis se stabilise vers le 6ème jour (Fromm, 1963 ; Infante, 1974).

La qualité de l'alimentation agit également sur l'excrétion azotée. Ainsi, des larves de corégone *Coregonus schinzi palea* présentent un pic d'excrétion 5 à 6 h après le début du nourrissage avec un aliment composé ou seulement au bout de 2 h à partir de proies vivantes (Dabrowski et Kaushik, 1984). A ce niveau, la qualité des protéines et le profil en acides aminés sont primordiaux (Tatrai, 1981a ; Cho *et al.*, 1982 ; Kaushik, 1991).

Etant donné la digestibilité limitée des glucides complexes chez les poissons (Bergot, 1979 ; Rychly et Spannhof, 1979 ; Hilton et Atkinson, 1982), les protéines et les lipides sont les principales sources énergétiques (Cho et Watanabe, 1986). Windell *et al.* (1978b) définissent, pour la truite arc-en-ciel, les coefficients de digestibilité suivants : 46-74% pour les

glucides, 80-89% pour les lipides et 73-93% pour les protéines. Les rejets ammoniacaux étant liés au taux protéique de l'aliment (Rychly, 1980 ; Beamish et Thomas, 1984 ; Chakraborty *et al.*, 1992 ; Li et Lovell, 1992) et les protéines restant coûteuses à l'achat (Watanabe *et al.*, 1979 ; Viola *et al.*, 1992), une utilisation préférentielle des lipides pour les besoins énergétiques est rapidement apparue bénéfique.

Ces observations ont conduit à la réalisation d'aliments appauvris en protéines et enrichis en matières grasses (Atherton et Aitken, 1970 ; Takeuchi *et al.*, 1978 ; Watanabe *et al.*, 1979 ; le Grow et Beamish, 1986). Ces aliments permettent une meilleure efficacité protéique (Beamish et Thomas, 1984 ; Cho et Kaushik, 1985), tout en maintenant une croissance maximale (Takeuchi *et al.*, 1978). Ainsi, à partir de truites arc-en-ciel de 250-550 g nourries soit à 0,5% du poids vif, soit à satiété, Beamish et Medland (1986) montrent l'intérêt d'une augmentation de la teneur en lipides de 12 à 24% pour la valorisation des protéines et de l'énergie. Seuls Garcia *et al.* (1981) n'enregistrent pas d'effets positifs.

Par comparaison aux aliments traditionnels, les aliments à haute valeur énergétique autorisent un abattement considérable des pollutions ammoniacales (Watanabe *et al.*, 1987a et b ; Johnsen et Wandsvik, 1991 ; Schuster *et al.*, 1992) et une atténuation des pics d'excrétion (Jayaram et Beamish, 1992). En comparant deux aliments possédant des teneurs respectives en lipides de 22 et 30%, Johnsen *et al.* (1991) enregistrent, avec l'aliment enrichi, des abattements de 35%, 22% et de 23% des pollutions en azote ammoniacal, en phosphore et en matières organiques. Chez les Salmonidés, une élévation de la température de l'eau, jusqu'à 15-18°C, accentue la valorisation de ces aliments à haute valeur énergétique (Atherton et Aitken, 1970 ; Windell *et al.*, 1972 ; Watts et Watts, 1974 ; Cho et Watanabe, 1986).

Des démarches similaires ont été menées avec les glucides. La mise au point de nouveaux procédés technologiques, tels que l'extrusion et la gélatinisation, a permis la biodisponibilité de ces substrats (Hilton *et al.*, 1981 ; Kaushik et de Olivia Teles, 1985). Dès lors, leur utilisation à des fins énergétiques a favorisé l'activité glycolytique (Walton, 1986) et a présenté les mêmes avantages que les lipides (Pieper et Pfeffer, 1980 ; Cho et Kaushik, 1985 ; Kaushik et de Olivia Teles, 1985 ; Alsted, 1991).

Les divers résultats obtenus soit avec les lipides soit avec les glucides montrent d'une part l'importance du rapport protéine/énergie (Lee et Putnam, 1973 ; Cho et Kaushik, 1985 ; Gallagher et Matthews, 1987) et d'autre part le rôle majeur de la consommation énergétique dans l'ingestion alimentaire (Lee et Putnam, 1973 ; Beamish et Medland, 1986). Des alevins de truite arc-en-ciel de 3,5 à 6,6 g nécessitent au moins 15 MJ d'énergie digestible/kg et un rapport protéine digestible/énergie digestible de 22-24 g/MJ pour optimiser la rétention d'azote (Cho et Woodward, 1989).

### 5.3 - Facteurs biotiques

Parmi les facteurs biotiques, il y a notamment les variations spécifiques (Fischer, 1977 ; Depêche *et al.*, 1979 ; Walton et Cowey, 1982). Celles-ci sont intimement liées au régime alimentaire, les espèces carnivores ayant des taux d'excrétion supérieurs (Tatrai, 1981a ; Cho *et al.*, 1982). Elles affectent également l'excrétion endogène (Savitz, 1969a ; Ogino *et al.*, 1980).

Des variations intraspécifiques, d'origine génétique, existent aussi. Kaushik *et al.* (1984) montrent que celles-ci sont corrélées avec la vitesse de croissance.

L'excrétion azotée évolue en fonction du stade physiologique considéré (Savitz, 1969a ; Gerking, 1971 ; Elliot, 1976, 1979 ; Paulson, 1980). Les jeunes stades, ayant des besoins protéiques supérieurs (Gerking, 1955b, Tatrai, 1981a ; Cowey et Luquet, 1983), ont des taux métaboliques supérieurs et, par conséquent, une excrétion azotée plus élevée (Guerin-Ancey, 1976b ; Kaushik et Dabrowski, 1983a) avec un rapport N-excrété/N-ingéré constant (Porter *et al.*, 1987). En effet, à partir de trois lots de jeunes daurades *Sparus aurata* (3, 40 et 90g), ces auteurs obtiennent une même répartition de l'azote ingéré : 30% retenus, 10% éliminés par les fécès, 30% excrétés en azote ammoniacal et 30% perdus sous forme d'azote organique dissous. Cependant d'autres auteurs observent soit une faible incidence de la taille des poissons (Cui et Wootton, 1988), soit l'absence d'effets (Guerin-Ancey, 1976a), soit des relations inverses (Jobling, 1981 ; Buckley et Dillmann, 1982).

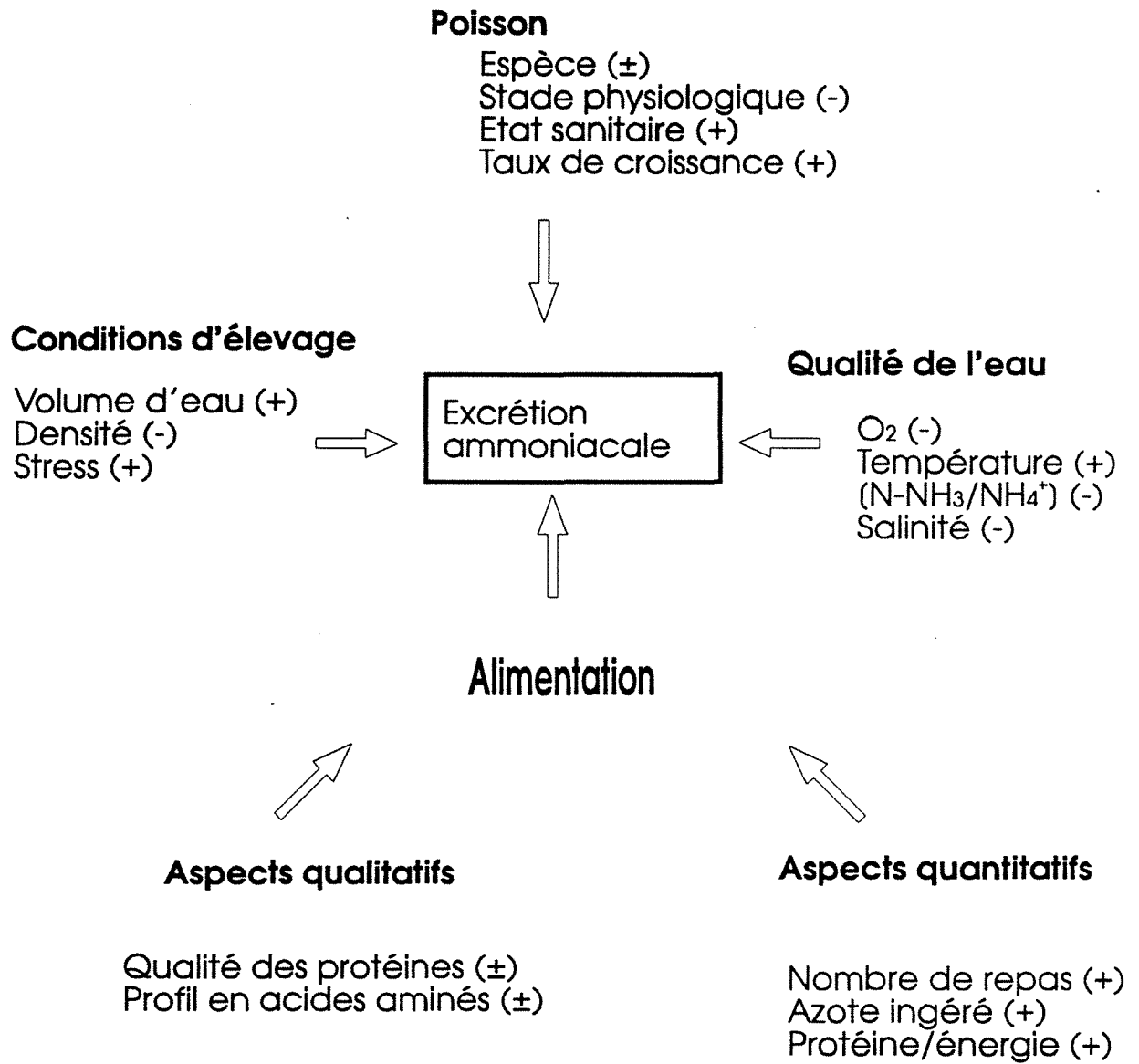
Les premiers stades de développement (incubation des oeufs, résorption du vitellus, premiers nourrissages) présentent des fluctuations spécifiques. Les Téléostéens possèdent des oeufs cleidoïques (Smith, 1947 ; Rice et Stokes, 1973 ; Kaushik *et al.*, 1982) qui assurent l'élimination des excréments azotés (Yarzhombek et Maslennikova, 1971). Ces rejets sont initialement faibles (Marty *et al.*, 1990), puis ils augmentent fortement pendant la période dite de pré-éclosion et à l'éclosion (Kaushik *et al.*, 1982 ; Dabrowski *et al.*, 1984 ; Finn *et al.*, 1991). Enfin une mauvaise utilisation des premiers aliments exogènes, notamment de l'azote ingéré, implique également une forte pollution ammoniacale par les larves nouvellement écloses (Kaushik et Dabrowski, 1983a ; Marty *et al.*, 1990). Buckley et Dillmann (1982) citent, pour des larves de carrelet d'été *Paralichthys dentatus*, des coefficients d'utilisation de l'azote ingéré variant de 27 à 68%.

### 5.4 - Facteurs abiotiques

La température joue un rôle fondamental évident, principalement du fait de la poïkilothermie des poissons. Logiquement, une élévation de la température augmente l'excrétion azotée (Savitz, 1969a ; Guerin-Ancey, 1976b ; Kaushik, 1981 ; Jobling, 1981 ; Kaushik *et al.*, 1982 ; From et Rasmussen, 1984 ; Cui et Wootton, 1988). Les effets engendrés



**Figure 7** : Principaux facteurs influençant l'excrétion ammoniacale des poissons.



(+) : Stimulation  
 (-) : Inhibition  
 (±) : sans effet ou effet variable

par une augmentation thermique sont positivement corrélés à un accroissement de l'activité (Savitz, 1969a ; Kaushik, 1983 ; Wiggs *et al.*, 1989) et à une hausse du rythme cardiaque (Vellas *et al.*, 1982).

Dans le milieu naturel, l'enregistrement de variations saisonnières de l'excrétion azotée (Vellas, 1973 ; Infante, 1974 ; Boudigue, 1978 ; Parent et Vellas, 1990) s'explique en grande partie par le thermopériodisme annuel.

Une élévation de la température accélère le transit digestif, favorise l'utilisation de la ration alimentaire et modifie le profil de l'excrétion postprandiale (Kaushik, 1981 ; Tatrai, 1981b ; Bergheim *et al.*, 1991b). En comparant l'excrétion postprandiale de deux lots de sandre *Stizostedion vitreum vitreum* élevés à 20 et 25°C, Forsberg et Summerfelt (1992) constatent l'influence d'une augmentation de la température : pics d'excrétion plus précoces et plus conséquents. L'incidence d'un tel changement varie en fonction de la plage thermique considérée et plus particulièrement de la proximité ou de l'éloignement de l'optimum thermique (Savitz, 1969a ; Guerin-Ancey, 1976b).

D'autres facteurs liés à la physico-chimie de l'eau modifient l'excrétion azotée. Ainsi un abaissement de la teneur en oxygène dissous accroît ce phénomène excrétoire (Kutty, 1972 ; Medale, 1985 ; Medale *et al.*, 1985 ; Parent et Vellas, 1990). Au contraire, un enrichissement du milieu en ammoniac l'abaisse (Fromm et Gillette, 1968 ; Olson et Fromm, 1971 ; Vellas et Serfaty, 1974 ; Guerin-Ancey, 1976c ; Fedorov et Smirnova, 1978). La salinité de l'eau peut également intervenir (Smith et Thorpe, 1976 ; Kaushik, 1977), les pertes azotées semblent inférieures en eau de mer.

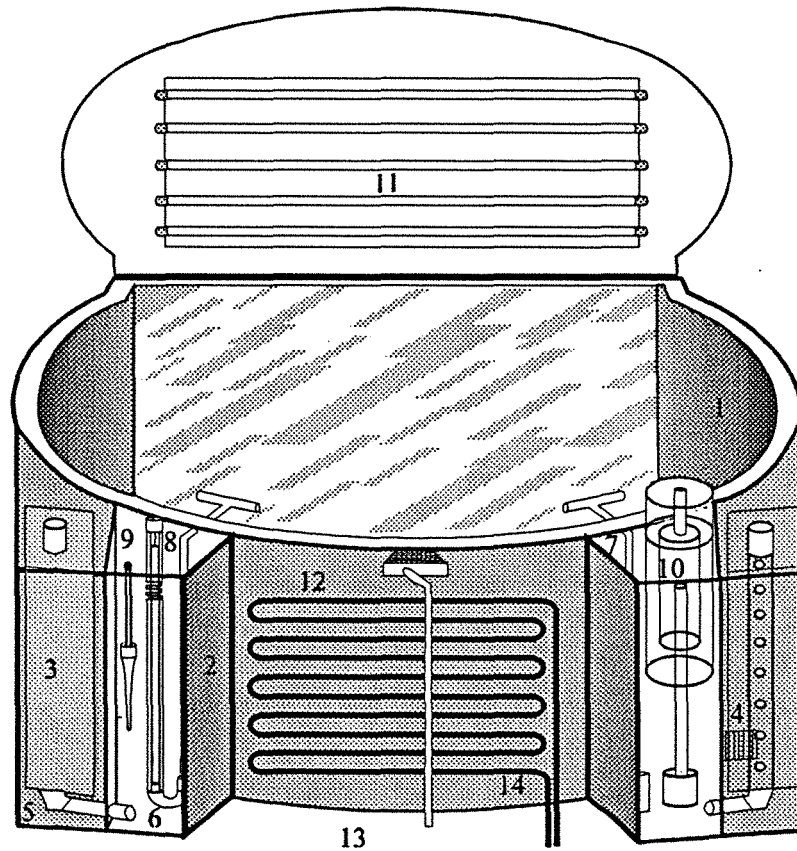
Enfin, les conditions d'élevage perturbent souvent l'excrétion azotée. Le volume d'eau et la densité d'élevage, en étroite relation avec la charge polluante, limitent l'excrétion (Pora et Precup, 1958 ; Guerin-Ancey, 1976c ; Kaushik, 1983). Inversement, toute manipulation ou stress excessif induit une élévation des quantités excrétées (Iwata, 1970 ; Savitz, 1973 ; Guerin-Ancey, 1976d ; Dabrowski *et al.*, 1984). L'efficacité d'anesthésiants pour éviter de telles conséquences est controversée (Savitz, 1969b ; Guerin-Ancey, 1976d). En fait, le stress implique des systèmes hormonaux complexes, dont les répercussions sur les mécanismes de l'excrétion sont multiples (Hoar, 1958 ; Thornburn et Matty, 1963 ; Pora et Precup, 1971 ; Smith et Thorpe, 1977).

La figure 7 résume les différents paramètres susceptibles de modifier l'excrétion ammoniacale.

## VI - Conclusions

L'élevage en circuit fermé présente de nombreux avantages, mais sa rentabilité dépend de l'application de techniques simples pour diminuer les coûts liés à l'investissement et au fonctionnement. Dans le même temps, les simplifications technologiques apportées doivent respecter des performances bien définies, plus particulièrement au niveau de l'élimination des substances azotées inorganiques toxiques. Dans cette optique, il faut d'une part rechercher les conditions de fonctionnement du biofiltre les plus proches possibles des conditions optimales et d'autre part limiter au maximum les pertes azotées engendrées par le peuplement piscicole.

**Figure 8** : Schéma d'un aquarium d'exposition de l'Aquarium Tropical de Nancy (Terver, 1989).



- 1 - Corps en polyester
- 2 - Filtre incorporé
- 3 - Blocs de filtration en polyéther
- 4 - Crépine
- 5 - Bac de décantation
- 6 - Compartiment des eaux filtrées
- 7 - Exhausteur
- 8 - Exhausteur à lampe U.V. incorporée
- 9 - Résistance chauffante
- 10 - Ecumeur
- 11 - Tubes d'éclairage
- 12 - Trop-plein
- 13 - Evacuation des eaux usées
- 14 - Serpentin de réfrigération

## DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

### A : ELABORATION ET PRESENTATION DES STRUCTURES EXPERIMENTALES

#### I - Présentation du procédé

Dans le cadre de collaborations Université - Entreprise, des techniques aquariologiques (Figure 8) sont testées en vue de leur application à un procédé original de pisciculture intensive en eau recyclée (Terver et Fontaine, 1994). Selon le stade physiologique, cinq structures élémentaires sont envisagées, chacune d'entre elles contribuant à la maîtrise d'une phase du cycle de développement de l'espèce élevée (Figure 9). Dans cette démarche, l'une des préoccupations majeures demeure l'élaboration de modules autonomes de faible technicité et d'encombrement limité, accessibles au plus grand nombre d'aquaculteurs. Cette conception prend également en considération la nécessité d'une réelle souplesse au niveau de la gestion de tels systèmes. Dans cette optique, ces équipements sont souvent démontables. A ce titre, il faut noter que Hovgaard (1993) et Ulgenes et Eikebrokk (1993) utilisent également des petits circuits fermés similaires pour la production de Salmonidés.

Figure 9 : Procédé d'élevage en eau recyclée proposé par le Laboratoire de Biologie Appliquée (Belhasnat, 1988).

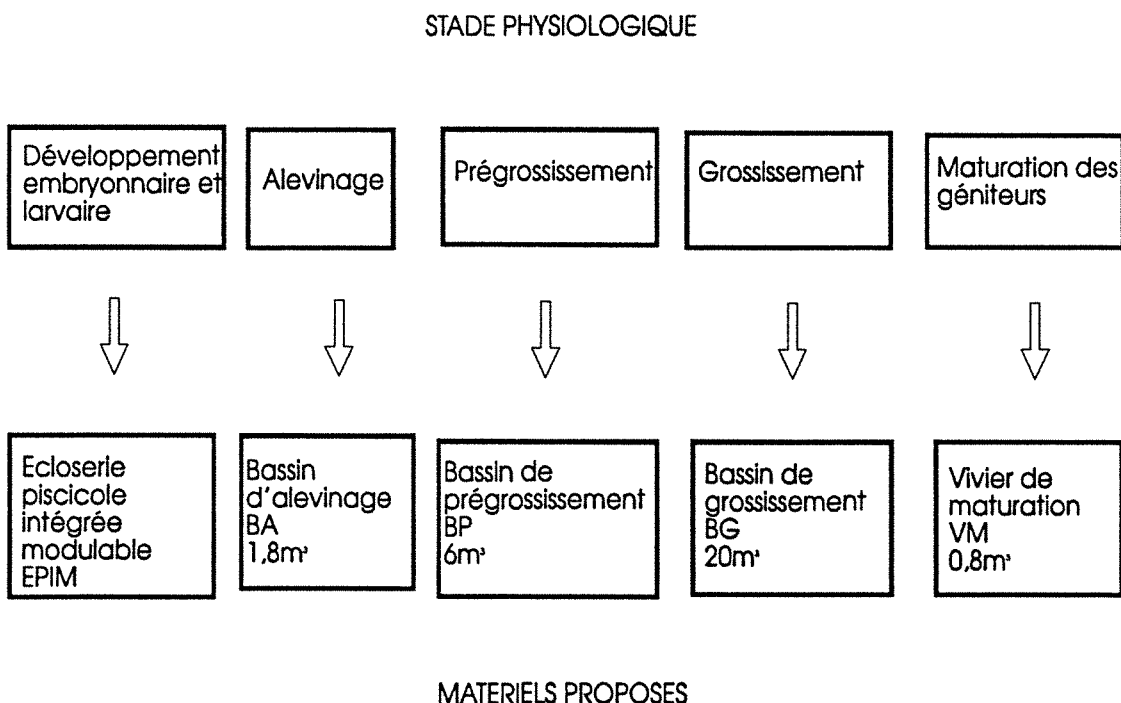
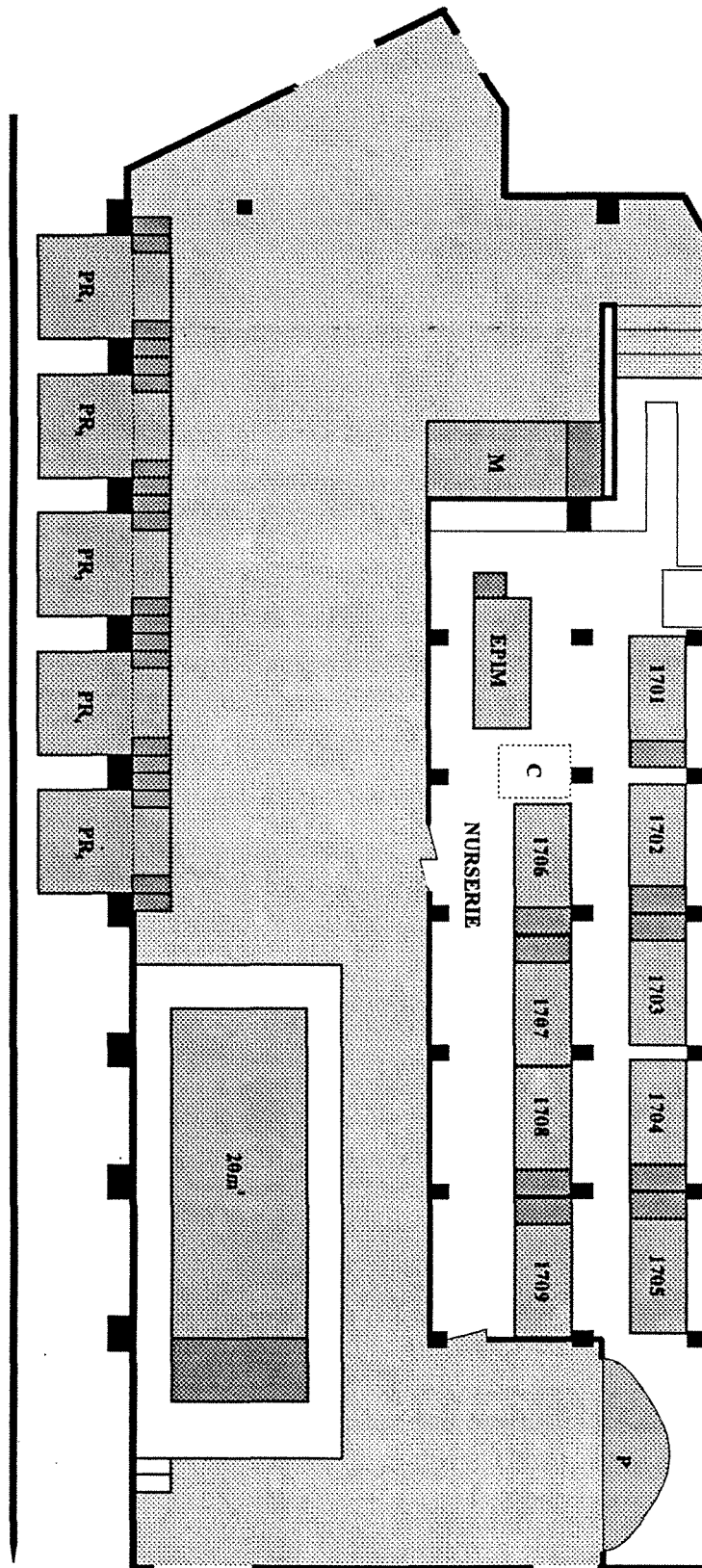


Figure 10 : Présentation du local expérimental.

Sud



Nord

C : Climatiseur ; M : Bac d'eau de mer tempérée ; P : Bac panoramique ; PR : Bac de présentation.

Echelle : 7mm pour un 1m

Actuellement, seule l'écloserie piscicole intégrée modulable est au point (Terver, 1980). En effet, les autres unités ont uniquement fait l'objet de travaux préliminaires (Belhasnat, 1988 ; Fontaine, 1989 ; Tamazouzt *et al.*, 1994) et, par conséquent, leurs capacités restent indéterminées.

## II - Local expérimental

Pour répondre aux objectifs, un espace de 90 m<sup>2</sup> (Figure 10) est progressivement aménagé et équipé d'une part d'une EPIM d'une capacité d'accueil de 200 000 oeufs et d'autre part de neuf prototypes de bassin d'alevinage (BA), conçus spécialement. Parallèlement, un climatiseur (type SANYO SAP 243G5, 7030W) et un extracteur d'air (type ALDES VEC 016B, 20W) sont installés pour réguler la température ambiante de la nurserie.

## III - Description des équipements expérimentaux

### 3.1 - Ecloserie piscicole intégrée modulable

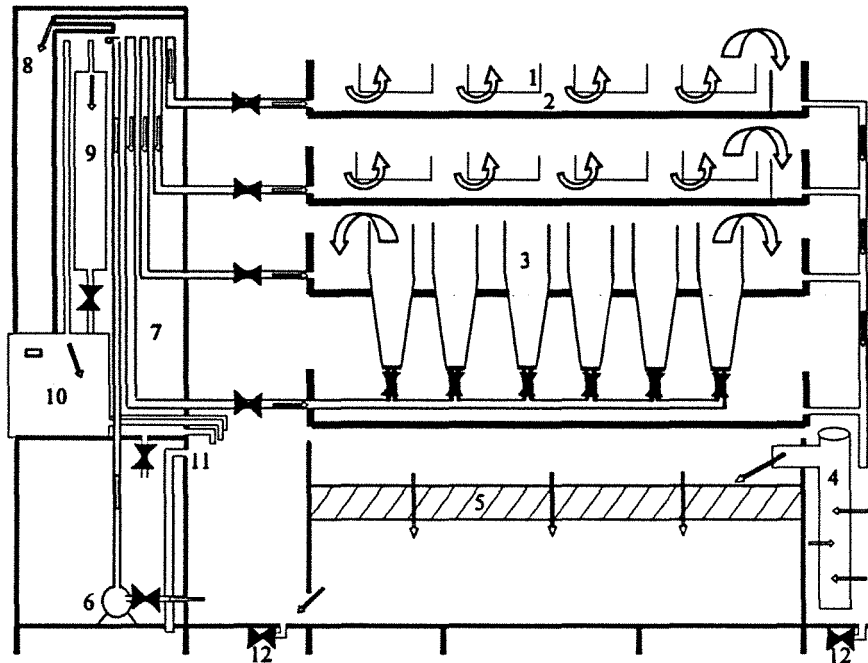
Cette structure est un assemblage, facilement démontable, d'éléments superposés (Figure 11) : une cuve de filtration et de réserve d'eau, une colonne hydraulique, 4 auges de résorption, 16 clayettes d'incubation et une rampe de bouteilles de Zoug.

L'EPIM est réalisée en PVC expansé, inerte, léger et calorifuge, qui constitue un matériau idéal pour l'aquaculture (Hoose et Riley, 1991), et utilisée au laboratoire depuis 1989. Son encombrement est de 3,51 m<sup>2</sup> (8,25 m<sup>3</sup>) avec une longueur de 2,70 m, une largeur de 1,30 m et une hauteur de 2,35 m. Elle pèse 500 kg à vide et 1700 kg en charge, le volume d'eau en circulation étant de 1200 l (90 l par auge, 670 l pour la cuve, 170 l pour la colonne hydraulique).

Les clayettes, au nombre de 4 par auge, sont de petites enceintes de 0,15 m<sup>2</sup> destinées à l'incubation des oeufs (Figure 12). Leur fond perforé (fentes de 2/20 mm) facilite la circulation de l'eau et favorise une bonne oxygénation des oeufs. De même, il permet le passage des larves éclos vers le fond de l'auge (surface = 0,97 m<sup>2</sup>, profondeur = 10 cm) où elles poursuivent leur développement. Les oeufs blancs morts ne passent pas au travers des fentes et sont par conséquent éliminés lors du retrait des clayettes. Ce système autorise également l'attente des éclosions tardives.

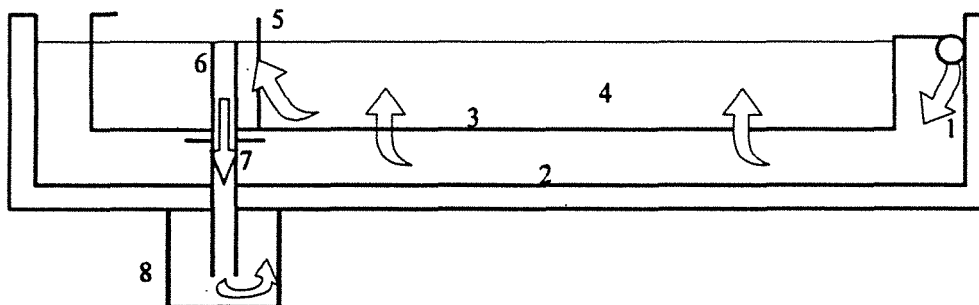
Après le retrait des clayettes, les embouts les supportant initialement sont munis de crépines calibrées en plastique souple pour éviter la fuite des larves par le trop-plein.

**Figure 11:** Principe de fonctionnement d'une EPIM.



- |                           |   |
|---------------------------|---|
| 1 - Clayette d'incubation | 7 - Colonne hydraulique                           |
| 2 - Auge de résorption    | 8 - Oxygénation par cascade                       |
| 3 - Carafe de Zoug        | 9 - Purification microbienne par rayonnement U.V. |
| 4 - Filtration mécanique  | 10 - Groupe de réfrigération                      |
| 5 - Epuration biologique  | 11 - Trop-plein                                   |
| 6 - Pompe de circulation  | 12 - Vannes de vidange                            |

**Figure 12 :** Principe de fonctionnement d'une clayette d'incubation en place dans une auge d'incubation de l' EPIM.



- |                           |                            |
|---------------------------|----------------------------|
| 1 - Arrivée d'eau         | 5 - Crépine                |
| 2 - Auge d'incubation     | 6 - Trop - plein           |
| 3 - Fond perforé          | 7 - Support de la clayette |
| 4 - Clayette d'incubation | 8 - Evacuation de l'eau    |



Une tuyauterie en PVC, équipée de vannes de réglage des débits, connecte les différents éléments entre eux.

La puissance électrique installée est de 1216 W : 620 W pour le groupe réfrigérant thermostaté, 560 W pour la pompe de circulation et 36 W pour le réacteur à rayonnement UV germicide.

### 3.2 - Bassin d'alevinage

Ce bassin (Figure 13) se présente comme une unité compacte en polyester stratifié, d'un encombrement de 2,31 m<sup>2</sup> (2,08 m<sup>3</sup>) avec une longueur de 2,60 m, une largeur de 1,10 m et une hauteur 0,90 m. Un BA pèse 200 kg à vide et 1975 kg en charge, le volume d'eau en circulation étant de 1775 l.

Arbitrairement, le compartiment de traitement de l'eau qui est juxtaposé au volume utile empoissonné (Figure 14), a été fixé à un volume de 355 l, soit 20% du volume d'eau total. Toutefois, il faut remarquer que ce choix coïncide avec les proportions des filtres (10 à 30%) en place dans les viviers de stabulation (Terver, 1979a).

Un jeu de crépines (fentes de 2/20 mm) et de plaques permet d'une part le confinement des alevins dans le volume utile et d'autre part le nettoyage des crépines. L'eau est amenée au sein du compartiment de traitement par des conduites en PVC rigide, équipées de robinets qui assurent la maîtrise des flux hydrauliques et notamment, le cas échéant, l'isolement du compartiment de filtration.

Une vitre frontale (1,90/0,7 m) d'une épaisseur de 15 mm a été intégrée sur une longueur du volume utile pour favoriser l'observation des poissons.

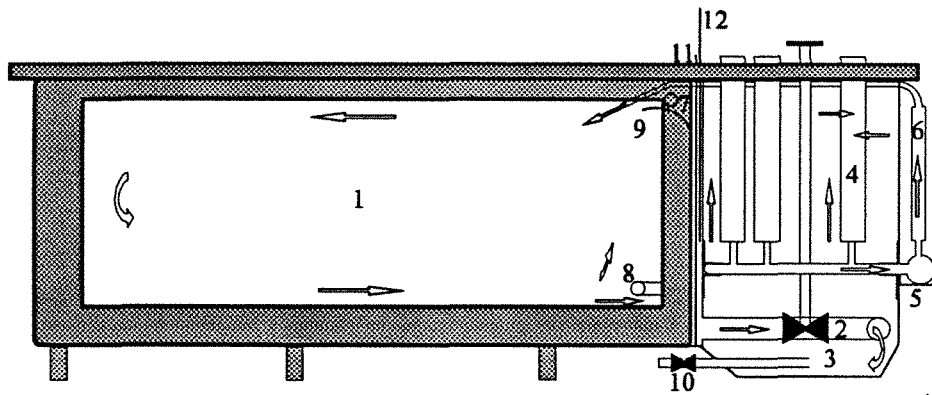
La puissance électrique installée est de 176 W : 140 W pour la pompe et 36 W pour le réacteur à rayonnement UV germicide.

## IV - Chaîne de traitement des effluents

Pour l'EPIM et les BA, la chaîne de traitement des effluents (Figure 15) est sensiblement identique :

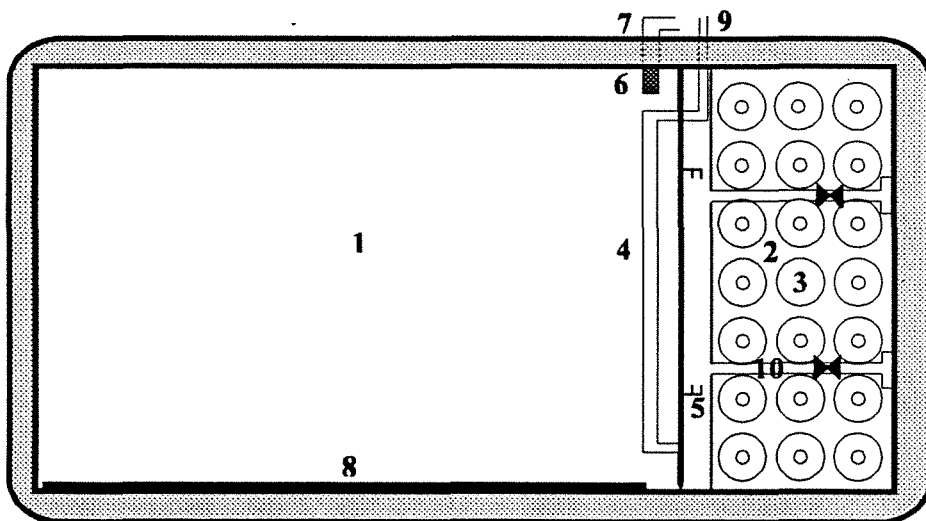
- Circulation de l'eau obtenue par une électropompe centrifuge refoulante.
- Filtration mécanique et biologique basse pression sur mousse de polyuréthane submergée.
- Purification par rayonnements UV germicide.
- Oxygénation par diffusion d'air surpressé.
- Thermorégulation par échanges caloriques air/eau (groupe réfrigérant autorégulé complémentaire pour l'EPIM).

**Figure 13 : Principe de fonctionnement d'un BA.**



- |  |                              |
|--|------------------------------|
| 1 - Volume utile                       | 7 - Trop-plein               |
| 2 - Vanne d'isolement du filtre        | 8 - Diffuseur en inox fritté |
| 3 - Bac de décantation                 | 9 - Déflecteur               |
| 4 - Filtration mécanique et biologique | 10 - Vanne de vidange        |
| 5 - Pompe de circulation               | 11 - Plaque perforée         |
| 6 - Stérilisation par rayonnement U.V. | 12 - Plaque pleine           |

**Figure 14 : Vue de dessus d'un BA.**



- |                                |                           |
|--------------------------------|---------------------------|
| 1 - Volume utile               | 6 - Crépine du trop-plein |
| 2 - Compartiment de filtration | 7 - Trop-plein            |
| 3 - Mousse de polyuréthane     | 8 - Vitre frontale        |
| 4 - Diffuseur                  | 9 - Arrivée d'air         |
| 5 - Supports de crépine        | 10 - Amenée d'eau sale    |

- Ajustement chimique du pH.

#### 4.1 - Circulation de l'eau

L'EPIM est équipée d'une pompe SIREM de type PB 1C 250 K1Z qui charge la colonne hydraulique, au sommet de laquelle une série de canalisations redistribue l'eau par gravité dans les différents éléments (Figure 11). La vitesse de recyclage est de 7 m<sup>3</sup>/h, ce qui signifie que la totalité de l'eau est quasiment traitée 6 fois par heure.

Alors que les débits alimentant le groupe réfrigérant et le stérilisateur restent stables, ceux traversant les auges varient pendant le cycle de production. En effet, ils augmentent en moyenne de 360 l/h pour l'incubation des œufs à 1200 l/h pour les premiers nourrissages.

Les BA sont équipés d'une pompe SIREM de type PB 1C 245 A1B. Le taux de recyclage est de 2077 l/h, équivalent à 1,2 fois le volume total d'eau.

Il faut également noter que l'action combinée du rejet de la pompe, de l'ascension des bulles d'air provenant du diffuseur, du déflecteur placé au dessus de l'aérateur et de la pente du fond du bassin (1 cm/m), permet une homogénéisation de l'eau dans le volume utile et un bon drainage des déchets (fécès, nourriture non ingérée) vers le filtre.

#### 4.2 - Filtration mécanique et biologique

Le filtre à décantation et à percolation horizontale qui limite fortement le colmatage, demeure le principal caractère innovant du procédé proposé. Des mousses de polyuréthane réticulées à base de polyol de polyéther sont utilisées pour les filtrations mécanique et biologique dans un filtre de type basse pression et submergé (Figure 16). Ce matériau, à cellules calibrées et complètement ouvertes, est très résistant à l'eau et possède une structure très homogène. Il présente une surface spécifique très élevée (500-4000 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>) et une rugosité superficielle favorable au développement d'un lit bactérien nitrifiant très actif (Brune et Gunther, 1981 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; Tsuno *et al*, 1992). Par opposition, Maurel (1983) considère que ce matériau dispose de faibles caractéristiques d'accrochage.

Dans notre application, le modèle couramment expérimenté est de type Filtren T30 RECTICEL, compromis entre un maillage trop fin facilement colmatable et un maillage grossier peu efficace. Il se caractérise par sa légèreté ( $d = 20-24 \text{ kg/m}^3$ ), sa résistance à la compression (3-4 kPa), son élasticité (élongation >100%), sa résistance à la rupture (>100 kPa) et sa porosité (60-90 pores/cm).

L'EPIM comporte un premier filtre mécanique indépendant d'un second filtre nitrifiant (Figure 11). En effet, l'eau sale, collectée dans les auges, passe d'abord au travers de 5

Figure 15 : La chaîne de traitement des effluents piscicoles dans un BA.

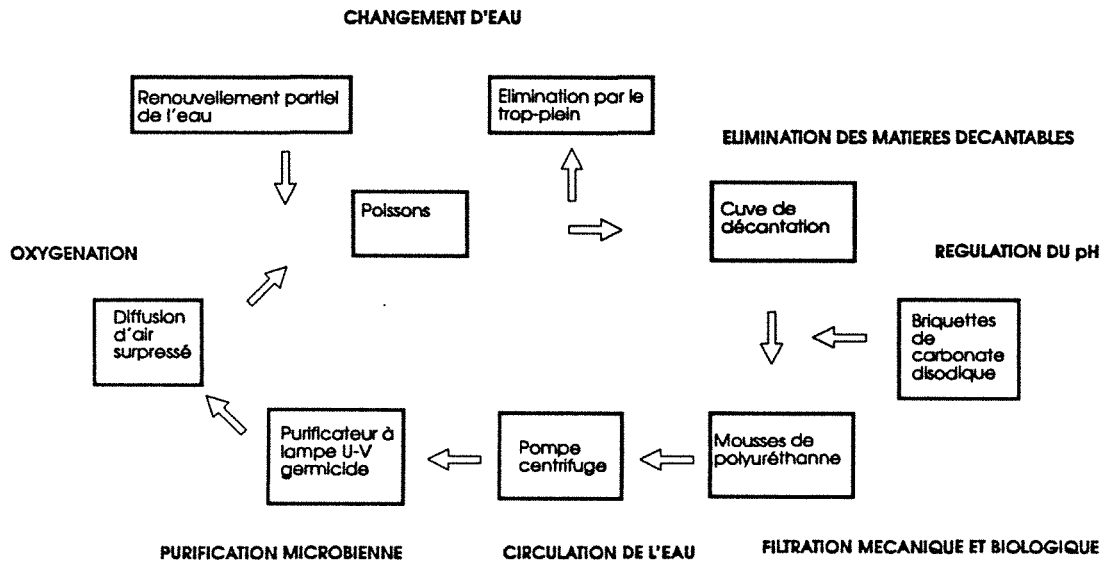
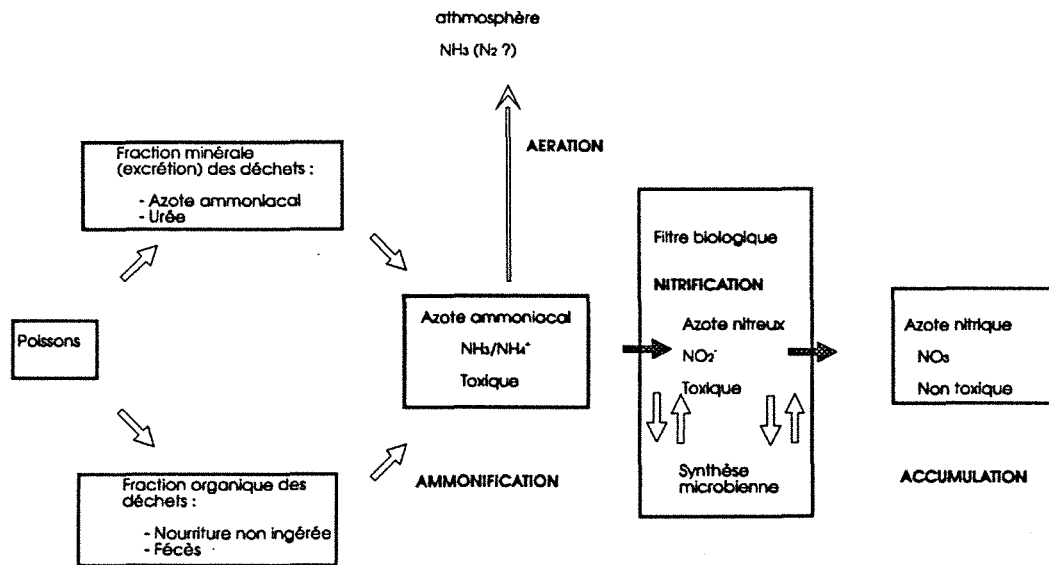


Figure 16 : Schéma de la chaîne dégradative des composés azotés rencontrée dans l'actuel procédé du Laboratoire de Biologie Appliquée (Université Henri Poincaré, Nancy 1).



cylindres verticaux ( $\varnothing = 15$  cm,  $h = 45$  cm), qui retiennent toutes les particules en suspension, avant de franchir ensuite un matelas horizontal ( $L = 150$  cm,  $l = 100$  cm,  $h = 10$  cm), uniquement destiné au processus de la nitrification aérobie autotrophe (Figure 16). Le filtre mécanique participe également, mais dans une moindre mesure, à ce processus.

Les BA ne disposent que d'un seul filtre à décantation composé de 21 blocs cylindriques ( $\varnothing = 10$  cm,  $h = 50$  cm), immergés en moyenne sur une hauteur de 42 cm. Leur pourtour retient les matières en suspension, alors que la partie interne est logiquement colonisée par les populations bactériennes responsables de la dégradation des composés azotés inorganiques. Axialement ces filtres sont soutenus par des tubes perforés en PVC qui permettent la récupération de l'eau filtrée par la pompe de circulation de l'eau filtrée.

En aquaculture, le filtre submergé apparaît souvent comme le procédé d'épuration le plus adapté et le moins coûteux (Petit, 1974 ; Hilge et Rakelmann, 1984).

### 4.3 - Purification microbienne

En aval du filtre, un purificateur à lampe UV germicide de 36 W, type S39 DEWERSE, équipe l'EPIM et les BA. Sa position verticale et la protection de la lampe par une gaine de quartz assurent un fonctionnement optimal de cet équipement. Les débits usuels relevés dans le purificateur sont de 1775 l/h pour les BA et de 1100 l/h pour l'EPIM pour un débit nominal de 2500 l/h.

Cette technique est fréquemment employée en aquariologie et en aquaculture (Escallier, 1976 ; Bullock et Stuckey, 1977 ; Maise *et al.*, 1980 ; Maise et Dorson, 1981 ; Petit, 1986 ; Litved et Landfald, 1993).

### 4.4- Oxygénation

Une turbine latérale, modèle SKG 390 2V RIETSCHLE, débitant 100 m<sup>3</sup>/h d'air à une pression de 450-500 mBar, alimente les deux modules par le biais de diffuseurs microporeux en inox fritté Sika-R SCHUMACHER.

Dans l'EPIM, ces diffuseurs ( $L = 80$  cm,  $\varnothing = 1,6$  cm) posés sur le fond des auges entrent en fonction dès les premiers nourrissages. Auparavant, pour les phases d'incubation et de résorption, le surversement de l'eau excédentaire de la colonne hydraulique, équipée d'une grille brise-lames, suffit aux besoins en oxygène.

**Tableau 12** : Composition chimique des briquettes de carbonate disodique obtenue par spectrométrie de masse et diffractométrie aux rayons X à l'aide d'une raie K du fer au Laboratoire de Géologie des ensembles sédimentaires (Université Henri Poincaré, Nancy 1).

composé	concentration en %
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	>92
H <sub>2</sub> O	<5
SiO <sub>2</sub>	<3
Cl <sup>-</sup>	<0.5
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	<0.06
Ca <sup>++</sup>	<0.05
Mg <sup>++</sup>	<0.05
Fe <sup>+++</sup>	<0.04

Dans les BA, un diffuseur ( $L = 45 \text{ cm}$ ,  $\varnothing = 5 \text{ cm}$ ) est placé en avant de la crépine d'accès au filtre et à 10 cm du fond du bassin (Figures 14 et 15). La hauteur de diffusion des bulles d'air est de 54 cm.

#### 4.5 - Thermorégulation

La climatisation du local assure indirectement la thermorégulation de l'eau des bassins d'alevinage.

En plus, l'EPIM est équipée d'un groupe réfrigérant d'appoint (Space cool 3000 ANSAB) autorisant un abaissement rapide de la température. Le débit d'eau traversant ce refroidisseur est de 1000 l/h.

#### 4.6 - Régulation du pH

Des adjonctions, dans le filtre, de briquettes (25 g,  $L = 4,5 \text{ cm}$ ,  $l = 3,5 \text{ cm}$ ,  $h = 2,5 \text{ cm}$ ) de carbonate disodique hydraté SOLVAY (Tableau 12) limitent considérablement les fluctuations du pH de l'eau, liées à la respiration des poissons et à l'activité du lit bactérien. Ce matériau est utilisé de longue date dans la lutte contre l'acidification des plans d'eau (Lindmark, 1982, 1984 ; Dessart 1990).

Le déversement de carbonates de calcium ou de sodium est normalement pratiqué pour maintenir le pH de l'eau dans les élevages en circuit fermé (Sidall, 1974 ; Hirayama, 1974 ; Sousa *et al.*, 1974 ; Otte et Rosenthal, 1979 ; Bovendeur *et al.*, 1987 ; Jespersen, 1989 ; Drouin *et al.*, 1989). La forte solubilité du carbonate disodique lui confère un atout supplémentaire (Mc Carty et Carmignani, 1976).

#### 4.7 - Conclusions

Sur le plan technique, l'adaptation des principes aquariologiques aux exigences d'un élevage piscicole intensif ne présente aucune difficulté primordiale (Tableau 13).

Cependant, il est nécessaire de définir les potentialités des bassins d'alevinage avant d'envisager tout transfert de technologie vers la profession. Cela est d'autant plus souhaitable que plusieurs aménagements, notamment en ce qui concerne le filtre biologique, relèvent d'un choix empirique et demeure, par conséquent, susceptibles d'être modifiés pour optimiser le système.

**Tableau 13** : Présentation des caractéristiques techniques d'un aquarium de 500 litres, d'une EPIM et d'un BA.

Traitements de l'eau		Aquariologie	Aquaculture	
		Aquarium	EPIM	BA
Circulation	- Technique	Exhausteur	Pompe	Pompe
	- Taux de recyclage (vol./h)	1-2	5-6	1-2
Filtration	-Matériau	Polyether	Polyuréthane	Polyuréthane
	-Volume du filtre /volume total %	10	17	20
	-Surface externe (m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> )	0.75	0.78 (*)	1.56
	-Volume (dm <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )	24	150	35
Purification	-Puissance de la lampe UV (W)	15	36	36
Oxygénation	-Matériau	Céramique	Inox fritté	Inox fritté
	- Pression (mBar)	200-250	450-500	450-500
Thermorégulation	-Technique	Résistances chauffantes	Climatiseur	Climatiseur
Régulation du pH	-Technique	Goutte à goutte	Carbonate disodique	Carbonate disodique

\*Seul le filtre mécanique est pris en compte.



## B : LES POTENTIALITES DU BASSIN D'ALEVINAGE

### I : PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES ET VARIATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA QUALITE DE L'EAU

#### 1.1 : Introduction

L'utilisation de techniques aquariologiques simples confère *a priori* un grand nombre d'atouts au bassin d'alevinage développé par le LBA. Cet argument demeure cependant insuffisant pour justifier sa commercialisation. Aussi, afin d'établir le seuil de rentabilité, il est nécessaire de confirmer expérimentalement ses réelles potentialités. A ce niveau, la qualité des performances zootechniques est primordiale, ce qui implique notamment la production d'alevins d'un état sanitaire irréprochable avec un taux de survie très élevé et un faible taux de conversion alimentaire. Dans cette optique, l'utilisation d'un aliment standard, aux propriétés et aux performances bien définies, est souhaitable pour permettre une comparaison avec des études de référence. Une telle confrontation est nécessaire pour vérifier l'adéquation des caractéristiques techniques et hydrauliques du BA à la production d'alevins de TAC. Outre une maintenance limitée, le BA doit autoriser l'obtention d'une charge piscicole ( $\text{kg/m}^3$ ) en accord avec les objectifs d'une production intensive.

La capacité de production d'un élevage en circuit fermé dépend fortement des performances de la chaîne de recyclage des effluents piscicoles, elle-même fonction des caractéristiques des différents maillons de l'unité de traitement. En fait, la principale difficulté rencontrée est le respect, en permanence, d'une qualité d'eau compatible avec les besoins de l'espèce aquacole élevée et les exigences des divers éléments du procédé de recyclage, en particulier le biofiltre (Mc Kay et van Toever, 1981 ; Bovendeur *et al.*, 1987 ; Losordo, 1991).

Toutefois, le métabolisme du cheptel et l'activité de la chaîne de traitement en place (nitrificateur, dénitrificateur, adjonction de régulateurs de pH,...) impliquent inéluctablement des changements de la qualité physico-chimique de l'eau. Globalement, dans un élevage en eau recyclée, un enrichissement progressif du milieu ambiant en éléments minéraux et organiques, est observé au cours d'un cycle de production (Kawai *et al.*, 1964 ; Scherb et Braun, 1971). Considérant l'incidence de la physico-chimie de l'eau, d'une part sur le rendement du biofiltre, maillon clé du recyclage, et d'autre part sur la toxicité des composés azotés inorganiques couramment rencontrés dans ce type d'élevage, il est nécessaire de caractériser son évolution. L'un des principaux enjeux est de définir si, à un moment donné, la qualité de l'eau, au travers d'un ou de plusieurs paramètres, devient un facteur limitant au développement des alevins de TAC ou au fonctionnement du filtre biologique. Dans le cas où une accumulation de nitrites interviendrait, il conviendrait également de préciser si une éventuelle chimiothérapie, semblable

à celle pratiquée dans les élevages intensifs de poissons-chats *Ictalurus punctatus* (Tucker *et al.*, 1989), est envisageable pour réduire les effets toxiques de cette substance.

A côté de ces variations de longue durée, quelques paramètres physico-chimiques présentent d'importantes fluctuations nyctémérales, généralement en relation avec le rythme alimentaire. Ainsi chaque repas implique une élévation de la consommation en oxygène dissous (Speece, 1973 ; Rosenthal *et al.*, 1981). Chez des saumons nerka nourris à 3% du poids vif, Brett et Zala (1975) mentionnent, pendant la période d'alimentation, une élévation de la consommation en O<sub>2</sub> de 170 mg O<sub>2</sub>/kg/h à 370 mg O<sub>2</sub>/kg/h. Evidemment cet accroissement ponctuel des besoins en oxygène entraîne une diminution du taux d'O<sub>2</sub> ambiant. Or pour un développement correct des Salmonidés, ce taux doit être constamment maintenu supérieur à 6 mg O<sub>2</sub>/l (Bailey *et al.*, 1980 ; Wickins, 1981 ; Parent et Vellas, 1990 ; Losordo, 1991).

De même, le nourrissage influence considérablement l'excrétion ammoniacale et conduit notamment à l'émergence de pics d'excrétion postprandiaux. Chez les Salmonidés, une forte élévation du taux d'azote ammoniacal rejeté est constatée 3 à 6 heures après la prise de nourriture (Tableau 11). En moyenne, l'excrétion azotée de ces espèces représente 27% de l'azote ingéré alors que 3% se retrouvent dans les fécès et 70% sont assimilés (Walton et Cowey, 1982). En fait, les fluctuations des teneurs en azote ammoniacal sont principalement fonction de la quantité d'ammoniac excrétée et de l'activité des bactéries nitritantes du biofiltre. Elles traduisent l'impossibilité du lit bactérien à réagir, de manière instantanée, à une brusque hausse de la charge polluante. Sur un cycle nyctéméral, on distingue deux phases. La première est généralement diurne et présente une augmentation de la concentration en azote ammoniacal dont l'ampleur est surtout liée à l'importance de la ration alimentaire (Poxton *et al.*, 1987 ; Ramnarine *et al.*, 1978). La seconde est nocturne et dépend essentiellement de l'activité du biofiltre, les poissons n'étant pas alimentés durant la nuit. Elle montre un abaissement des fortes teneurs enregistrées au terme de la première période (Rosenthal *et al.*, 1981). Conjointement, ces auteurs observent des variations similaires pour les nitrites. Dans ce cas, les variations découlent de l'adaptation successive des populations microbiennes nitritantes et nitratantes aux variations de concentrations en NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et en NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Normalement, dans un biofiltre bien dimensionné et dans un système équilibré, la phase nocturne assure une épuration complète des fortes teneurs en azote ammoniacal et nitreux observées à la fin de la première phase. Lorsque la capacité du biofiltre est dépassée, un accroissement de la durée de la phase polluante, puis une régénération incomplète de la qualité de l'eau sont constatés.

La connaissance de l'évolution de ces cycles quotidiens est indispensable pour plusieurs raisons. Premièrement, il faut vérifier si les teneurs maximales conseillées (Tableaux 3 et 5), et à plus forte raison les seuils létaux (Tableaux 4 et 6), sont atteints lors de ces variations nyctémérales. Deuxièmement, l'allure de ces cycles renseigne directement sur l'adéquation de la capacité épuratrice du biofiltre vis-à-vis de la charge polluante.

**Tableau 14** : Caractéristiques physico-chimiques de l'eau du réseau (District urbain de Nancy) obtenues à partir de 14 prélèvements effectués sur la période de mars 1992 à février 1994.

Paramètre	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum
Couleur Pt	0.14	0.35	0	1
Turbidité NTU	0.11	0.09	0.04	0.17
Chlore libre mg/l	0.01	0.01	0.00	0.04
Chlore total mg/l	0.11	0.03	0.08	0.17
Température °C	12.8	7.2	2.2	24.5
Conductivité $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C	271	75	166	404
pH	8.18	0.34	7.74	8.79
Dureté °F	10.6	3.1	6.9	18.0
T.A.C.mg $\text{HCO}_3^-$ /l	59	15	36	90
$\text{CO}_2$ libre mg/l	1.4	1.7	0	7
$\text{O}_2$ mg/l	10.6	2.0	7.5	15.0
Alcalinité avant marbre mg/l	27	7	16	41
Alcalinité après marbre mg/l	29	7	19	42
Silice mg/l	4.8	1.4	1.8	6.9
Résidu sec à 180°C mg/l	159	56	60	250
Oxydabilité au $\text{KMnO}_4$ mg/l	0.98	0.16	0.71	1.28
$\text{Cu}^{++}$ $\mu\text{g}/\text{l}$	3.5	4.9	0.0	20.0
$\text{Zn}^{++}$ $\mu\text{g}/\text{l}$	7.6	4.7	0.0	17.0
Phosphore $\mu\text{g}/\text{l}$	0	0	0	0
$\text{H}_2\text{S}$ $\mu\text{g}/\text{l}$	0	0	0	0
$\text{F}^-$ $\mu\text{g}/\text{l}$	79.1	19.5	50	108
N-Kjeldahl mg/l	0.13	0.05	0.00	0.23
$\text{NH}_4^+$ mg/l	0	0	0	0
$\text{Ca}^{++}$ mg/l	34.6	10.5	20.0	56.1
$\text{Mg}^{++}$ mg/l	4.8	2.8	1.2	12.1
$\text{Na}^+$ mg/l	13.9	5.4	6.0	23.0
$\text{K}^+$ mg/l	2.6	0.9	1.2	4.0
$\text{Fe}^{++}$ mg/l	0.01	0.01	0.00	0.05
$\text{Mn}^{++}$ mg/l	0.001	0.001	0.000	0.003
$\text{Al}^{+++}$ mg/l	0.05	0.03	0.015	0.14
$\text{Cl}^-$ mg/l	18.3	5.7	10.5	27.8
$\text{SO}_4^-$ mg/l	56.9	24.1	26.8	105.6
$\text{NO}_2^-$ mg/l	0	0	0	0
$\text{NO}_3^-$ mg/l	4.9	1.1	3.0	6.7
$\text{PO}_4^-$ mg/l	0	0	0	0
$\text{CO}_3^-$ mg/l	0	0	0	0

Une prise en considération de l'évolution de la composition ionique de l'eau sur l'ensemble de la durée expérimentale doit permettre une bonne interprétation de l'incidence de ces fluctuations cycliques.

Aussi des suivis concomitants de la dynamique des principaux paramètres physico-chimiques, notamment de la composition ionique, et du comportement de la biomasse piscicole introduite ont-ils pour objectif la définition de la charge piscicole maximale acceptable par le bassin d'alevinage. Cette étude doit également d'une part préciser les facteurs limitants du système actuel et d'autre part suggérer d'éventuelles améliorations.

## 1.2 : Matériel et méthodes

### 1.2.1 : Matériel biologique

Le 28.8.92, le LBA réceptionne 100 000 œufs de TAC embryonnés au stade œillé, en provenance de la Société AQUALANDE - 40410 Pissos.

Immédiatement, ils sont installés dans l'EPIM, préalablement remplie avec de l'eau du réseau (Tableau 14) et opérationnelle depuis une semaine. Ils sont répartis de manière homogène dans les 16 clayettes.

L'éclosion survient massivement au bout du 9ème jour, bien qu'elle s'étale du 8ème au 10ème jour. Les clayettes sont retirées et nettoyées le 14ème jour, et les premiers nourrissages, à l'aide de miettes 00 (particules d'une taille moyenne de 0,3 mm) de la gamme Superalevin AQUALIM (Tableau 15), débutent le 26ème jour. Durant cette période (Tableau 16), les larves de chaque auge de résorption reçoivent 8 grosses pincées d'aliment (10-15 g/pincée) par jour. Les repas sont distribués toutes les heures et demie à partir de 9h00.

Le tableau 16 présente l'évolution des principaux paramètres physico-chimiques suivis au cours du séjour des œufs et des larves dans l'EPIM, qui a totalement fonctionné en circuit fermé. Les mesures de l'oxygène dissous, de la température et du pH sont réalisées quotidiennement en matinée avec un oxy-thermomètre, YSI modèle 50, et un pHmètre, Radiometer pHM 80. L'azote ammoniacal et les nitrites sont dosés tous les deux jours à l'aide d'un spectrophotomètre Spectoquant II MERCK. Pour ces deux substances, les méthodes au bleu d'indophénol et à l'acide sulfanilique (Rodier, 1978) sont appliquées.

Dans la matinée du 25.9.92, les alevins sont transférés dans les BA.

**Tableau 15** : Composition chimique des miettes 00 (analyses effectuées au Centre d'écologie et de physiologie énergétique CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)
Lipides	9,4
Protéines	62,3
Glucides	17,7
Cendres	7,8
Energie (kJ/g)	20,5

MS : matières sèches

**Tableau 16** : Valeurs moyennes (moyenne  $\pm$  écart type) des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau de l'EPIM pour les différentes phases physiologiques.

Période	Durée (Jour)	T (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	pH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
Incubation	9	11,6 $\pm$ 0,3	10,6 $\pm$ 0,8	7,29 $\pm$ 0,10	150	0,016 $\pm$ 0,014	0,017 $\pm$ 0,006
Résorption	17	12,5 $\pm$ 1,0	9,6 $\pm$ 0,7	7,22 $\pm$ 0,18	380	0,056 $\pm$ 0,016	0,023 $\pm$ 0,004
Premiers nourrissages	7	14,5 $\pm$ 0,3	7,9 $\pm$ 0,8	7,05 $\pm$ 0,18	310	0,108 $\pm$ 0,025	0,043 $\pm$ 0,010

### 1.2.2 : Matériel expérimental

Pour cet essai, 4 BA sont utilisés. Il s'agit des bassins 1702, 1703, 1704 et 1705 (Figure 10). Après une vidange et un nettoyage (brossage des parois, aspiration des dépôts), ces bassins sont remplis avec de l'eau du réseau (Tableau 14) et remis en fonctionnement pour les 4 jours précédents leur empoissonnement (déchloration, filtration, ajustement thermique).

Avant le remplissage, toutes les mousses filtrantes (T30) sont passées à la machine à laver de type industriel, dont la température de lavage est réglée à 20°C. Cette procédure permet d'une part l'élimination des matières, essentiellement organiques, retenues par les filtres

et d'autre part la conservation de supportsensemencés (Kawai *et al.*, 1965). Elle rejoint les techniques préconisées par Spotte (1970) et Bower et Turner (1981).

Globalement, pour les principaux paramètres, l'eau du réseau (Tableau 14) présente des caractéristiques favorables au développement d'une part des alevins et d'autre part des bactéries nitrifiantes (Losordo, 1991). Cependant, des teneurs insuffisantes en bicarbonates (< 100 mg/l), en cuivre (< 0,1 mg/l) et en ion ferreux (< 1 mg/l), et l'absence de phosphate sont susceptibles de limiter la croissances des germes bactériens (Marshall *et al.*, 1971 ; Mc Carty et Carmignani, 1976 ; Kaiser et Wheaton, 1983). Logiquement, les premiers nourrissages doivent pallier partiellement ces déficits.

### 1.2.3 : Méthodes

#### a : Transfert des alevins et suivi zootechnique

Avant leur départ de l'EPIM, le relevé biométrique, effectué individuellement sur 100 alevins sacrifiés avec de l'éthylèneglycolmonophényléther, à l'aide d'un décimètre et d'une balance électronique de précision (METLER PM-100) indique un poids moyen de 0,187 mg ( $\sigma = 0,046$ ) pour une longueur totale moyenne de 2,69 cm ( $\sigma = 0,04$ ). Dès lors, 2860 g d'alevins, soit environ 15 000 individus, sont introduits dans chaque BA. Pendant cette opération, les pompes de circulation sont arrêtées pour faciliter l'acclimatation des poissons à leur nouvel environnement. Elles sont remises en marche juste avant le premier nourrissage. Le jour du transfert et les deux jours suivants constituent une phase de transition pendant laquelle les alevins, initialement posés sur le fond, se positionnent progressivement dans la hauteur d'eau du BA. Ceci a notamment été observé lors d'essais antérieurs.

A partir de la fin de cette période transitoire, un relevé biométrique est réalisé tous les 7 jours (dimanche). A chaque fois et pour les 4 lots expérimentaux, au moins 50 individus sont tués. Une pesée individuelle permet le calcul du poids individuel moyen de chaque échantillon. Après déduction de la mortalité observée quotidiennement, la biomasse piscicole présente dans chaque BA est estimée.

Au terme de l'expérience, une pesée des biomasses piscicoles réelles des différents lots est effectuée (balance de type KUHN NL94C). De même, un examen pathologique complet est également décidé avec le concours des Services Vétérinaires de Colmar, laboratoire agréé pour l'est de la France.

## b : Alimentation

Après consultation des tables de rationnement usuelles en salmoniculture, le nourrissage quotidien est établi sur la base d'un rationnement à 4% de la biomasse piscicole. La fréquence de distribution utilisée pour les premières alimentations dans l'EPIM est reconduite pour cet alevinage. Ainsi 8 repas égaux, pesés à la balance électronique SM-6000 au dixième de gramme près, sont déversés à la surface de l'eau à 9h00, 10h30, 12h00, 13h30, 15h00, 16h30, 18h00 et 19h30.

A chaque contrôle de croissance hebdomadaire, la ration alimentaire est recalculée pour les 4 lots expérimentaux, à partir d'une estimation de la biomasse piscicole en place. La nouvelle ration est appliquée le jour suivant le relevé biométrique.

Du fait de l'empoissonnement réalisé en matinée, seulement 6 repas (premier repas à 12h00) sont distribués le premier jour et les alevins ne bénéficient pas de la ration entière.

De même, les jours des relevés biométriques, la ration est regroupée en 6 repas et les distributions de 9h00 et de 10h30 sont supprimées.

Les aliments utilisés sont les miettes 01 et 02 (Tableau 17) de la gamme Superalevin AQUALIM. Les miettes 01, particules de 0,5 mm de diamètre moyen, sont données jusqu'au stade alevin de 0,6 g. Au-delà, les miettes 02 (0,8 mm) leur succèdent.

Tableau 17 : Composition chimique des miettes 01 et 02 (CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)	
	01	02
Lipides	15,7	17,0
Protéines	56,9	56,2
Glucides	16,2	13,4
Cendres	4,6	7,7
Energie (kJ/g)	20,8	21,5

MS : matières sèches

### c : Entretien

L'entretien consiste principalement en un nettoyage hebdomadaire des vitres frontales et des plaques perforées (Figures 13 et 14). Le lavage des vitres est nécessaire pour conserver une visibilité dans les bassins, utile pour l'observation du comportement des alevins. Le brossage des plaques perforées est un traitement préventif indispensable pour éviter un court-circuit de la chaîne de recyclage et une accumulation des MES en cas de colmatage.

### d : Régulation du pH

Quotidiennement, entre 8h00 et 9h00, le pH de l'eau des 4 BA est relevé à l'aide d'un pHmètre portatif (RADIOMETER, pHM 80). Quand cela est nécessaire, des ajouts de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sont opérés pour maintenir le pH dans la zone 7,0-7,5. Le confinement du pH dans cette gamme assure d'une part la réalisation d'une nitrification correcte (Otte et Rosenthal, 1979 ; Jespersen, 1989) et d'autre part une limitation du pouvoir toxique d'une éventuelle pollution ammoniacale (Sousa *et al.*, 1974 ; Hampson, 1976 ; Poxton et Lloyd, 1989). De plus, Spotte (1970) conseille un pH entre 7,0 et 7,8 pour les élevages piscicoles dulcicoles.

Dans le cas présent, ces apports carbonatés, variant de 30 à 130 g, sont effectués sur la base d'observations empiriques issues du suivi d'élevages antérieurs. Ils sont opérés en une seule fois, entre 8h30 et 9h00, et leur dissolution est achevée au bout de 4 heures.

### e : Suivi physico-chimique hebdomadaire

Pour chaque bac, une fois par semaine, différents paramètres sont mesurés entre 8h00 et 9h00. Ainsi un conductivimètre (YSI modèle 33) et un oxythermomètre (YSI modèle 50) sont employés pour enregistrer la conductivité, la température et la teneur en oxygène dissous de l'eau. Régulièrement, des mesures du taux d'oxygène dissous sont également réalisées vers 16h00 pour vérifier le maintien d'un taux d' $\text{O}_2$  supérieur à 6,5 mg  $\text{O}_2/\text{l}$ .

Parallèlement, des échantillons d'eau (1,5 l/BA) sont prélevés. Les flacons, complètement remplis, sont aussitôt apportés au Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique (LHRSP) pour le dosage de la couleur, de la dureté et des teneurs en sodium, potassium, calcium, magnésium, chlorures, bicarbonates et nitrates. Les méthodes mises en œuvre pour ces dosages sont présentées dans le tableau 18.

Les dosages de la dureté, des bicarbonates, des chlorures et des nitrates sont effectués en flux continu sur un Technicon SMA-8.



**Tableau 18 : Méthodes analytiques utilisées au LHRSP.**

Paramètre	Méthode	Référence
Bicarbonates	Titration volumétrique	NF T90-036
Calcium, Magnésium	Complexométrie	Standard method, 1971
Chlorures	Méthode industrielle	No 99-70W
Couleur	Echelle Hazen	NF T90-034
Dureté	Méthode industrielle	No 165-71W
Nitrates	Méthode industrielle	No 100-70W
Sodium, Potassium	Spectrométrie d'émission de flamme	NF T90-019

f : Variations nycthémérales des teneurs en azote ammoniacal et nitreux

Deux jours par semaine (lundi et jeudi), les fluctuations des concentrations en  $\text{NH}_4^+$  et en  $\text{NO}_2^-$  sont suivies dans les 4 BA sur un cycle de 24 h. Des prélèvements d'eau (300 ml) sont réalisés manuellement toutes les heures de 8h00 à 2h00, puis toutes les 2 heures de 2h00 à 8h00 (Poxton et Allouse, 1987). L'absence d'un collecteur d'échantillons n'a pas autorisé la réalisation des prélèvements toutes les heures sur la totalité du cycle. Lorsque l'heure de la collecte coïncide avec la distribution d'un repas, l'eau est prélevée en priorité. Les flacons d'eau sont stockés à 4°C jusqu'à la fin de la période de prélèvements, puis  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_2^-$  sont immédiatement dosés au LHRSP.

Hormis pour la première semaine où il n'y a pas d'ajustement de la ration, ces cycles de prélèvements correspondent toujours aux premier et quatrième jours de distribution de la nouvelle ration alimentaire.

Les méthodes spectrophotométriques au réactif de Nessler (NF T90-015) et à l'acide sulfanilique (Standard method, 1971) sont respectivement utilisées pour quantifier les concentrations en ammonium et en nitrites. Les dosages sont opérés en double, voire en triple, pour valider les résultats et un Spectrophotomètre UV-visible (Lambda 15 PERKIN ELMER) est mis à disposition pour la lecture des échantillons.

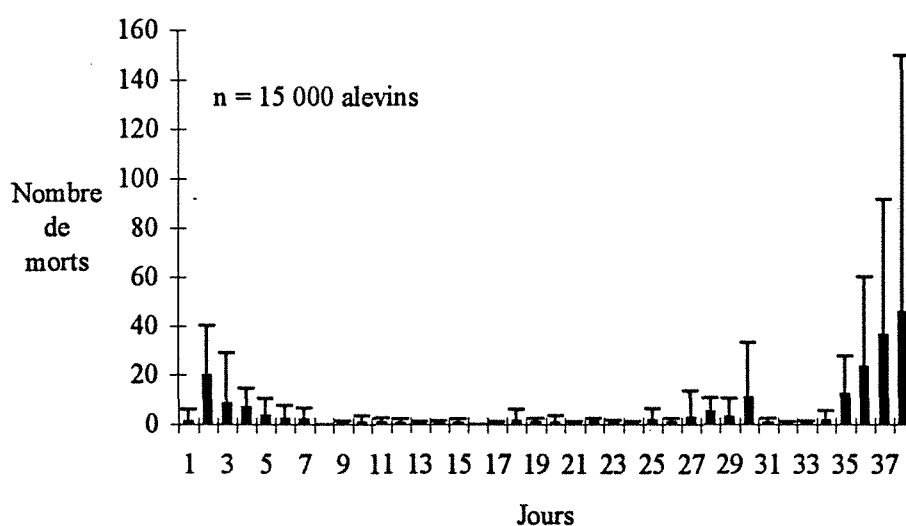
## 1.3 : Résultats

### 1.3.1 : Performances zootechniques

#### a : Mortalité

Une légère mortalité (5 à 20 morts/jours/BA) est notée durant les 3 jours qui suivent l'introduction des alevins dans les BA (Figure 17). Puis celle-ci demeure quasiment nulle pendant 30 jours, avant d'augmenter fortement à partir du 35ème jour d'expérimentation. Au 38ème jour, elle atteint en moyenne 45 morts/BA, avec des comportements très variables selon les différents lots. Ainsi dans les bassins 1702, 1703, 1704 et 1705, on dénombre respectivement 126, 2, 19 et 52 morts.

**Figure 17** : Evolution de la mortalité apparente pour les 4 BA (moyenne + 2 écarts types).



Excepté dans le bassin 1703, l'observation de poissons apathiques posés sur le fond et refusant de s'alimenter, confirme l'apparition de conditions défavorables.

Logiquement, l'expérience est arrêtée après 37 jours d'élevage en circuit fermé total.

Avant de vider et de changer l'eau des bassins pour la sauvegarde du cheptel vivant, la mesure des débits de circulation de l'eau indique une diminution de ce dernier de 2077 l/h ( $\sigma = 110$ ) à 1630 l/h ( $\sigma = 210$ ). Une analyse de variance révèle que celle-ci est significative ( $P < 0,05$ ). On note également une baisse du niveau d'eau de 10 à 12 cm (250 l) sur les 4 bassins.

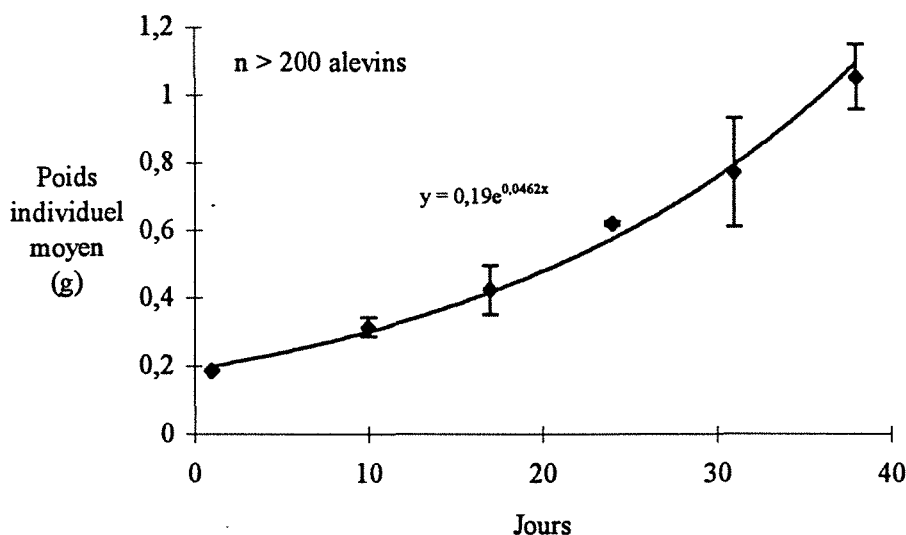
Enfin, l'observation des niveaux d'eau à l'extérieur et à l'intérieur des mousses filtrantes (Figures 13 et 14) montre, pour les bassins 1703 et 1704 uniquement, un niveau inférieur de 10

à 15 cm à l'intérieur des filtres par rapport au niveau à l'extérieur. Cela signifie un début de colmatage pour les biofiltres correspondants.

#### b : Croissance

Au terme de cette expérience, les alevins présentent un poids moyen de 1,043 g ( $\sigma = 0,040$ ) pour une longueur totale moyenne de 4,46 cm ( $\sigma = 0,05$ ). A partir d'alevins ayant initialement un poids moyen de 0,187 g, une durée de 5 semaines est nécessaire pour produire des alevins d'un poids moyen supérieur à 1 g. Un modèle mathématique de type exponentiel (Figure 18) est très satisfaisant ( $r = 0,99$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0,001$ ) pour expliquer la croissance des alevins durant ces 5 semaines. Cette interprétation convient également pour traduire l'évolution de la biomasse (Figure 19 ;  $r = 0,99$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0,001$ ) et de la charge piscicole (Figure 20 ;  $r = 0,99$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0,001$ ) dans les BA.

**Figure 18** : Croissance des alevins (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



Au 38ème jour, 16,1 kg, 16,4 kg, 14,8 kg et 15,7 kg sont respectivement pêchés dans les bassins 1702, 1703, 1704 et 1705. Donc les BA présentent en moyenne une biomasse de 15,75 kg ( $\sigma = 0,70$ ) et les volumes utiles supportent une charge piscicole moyenne de 11,09 kg/m<sup>3</sup> ( $\sigma = 0,49$ ). En considérant la totalité du volume, celle-ci est ramenée à 8,87 kg/m<sup>3</sup> ( $\sigma = 0,34$ ).

La pesée finale des biomasses réelles, présentes dans les BA, valide les estimations intermédiaires. En effet, l'estimation de la biomasse totale finale indique une masse prévisionnelle de 61,8 kg. Or, la quantité totale de poissons récoltée au 38ème jour est de 63 kg. L'estimation prend en considération la mortalité apparente (816 morts comptés) et les individus sacrifiés lors des relevés biométriques (1129 alevins). La proximité des valeurs

estimée et pesée indique que la mortalité apparente dénombrée semble très proche de la mortalité réelle. Cela confirme également un taux de survie moyen supérieur à 98%.

Figure 19 : Evolution de la biomasse piscicole (moyenne  $\pm$  2 écarts types).

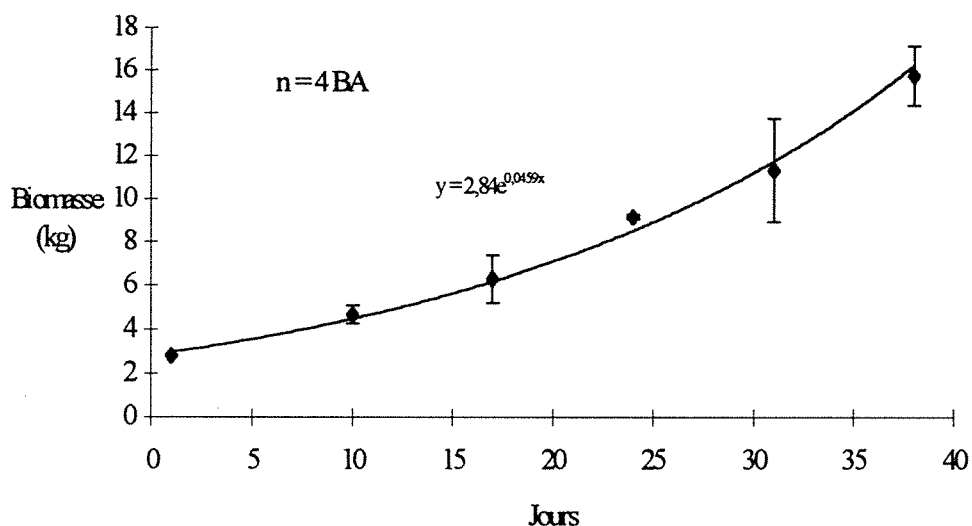
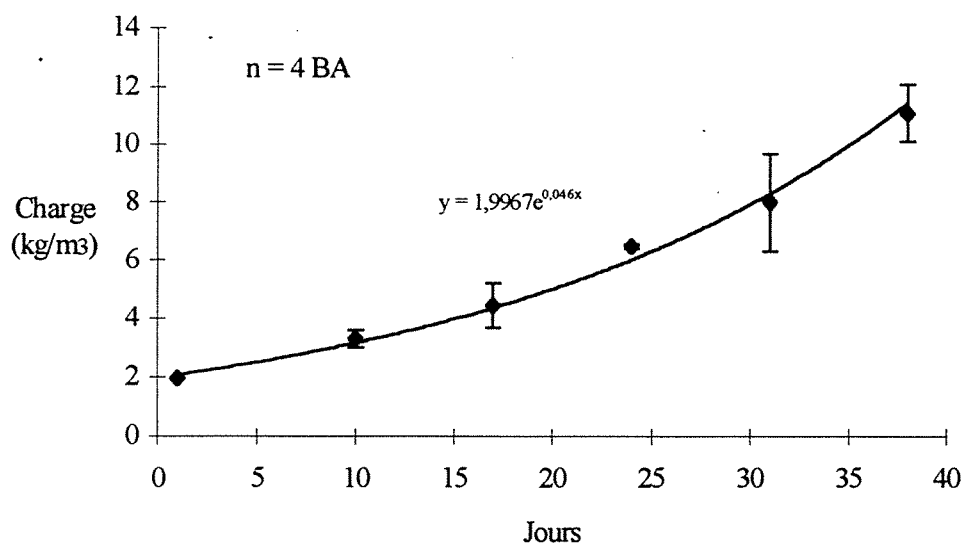


Figure 20 : Evolution de la charge piscicole du volume utile (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



### c : Conversion alimentaire et état sanitaire

Durant la totalité de l'expérience, 38,38 kg d'aliment sont distribués et le gain pondéral total est de 51,78 kg de poissons. Globalement, l'indice de conversion alimentaire IC est de 0,74.

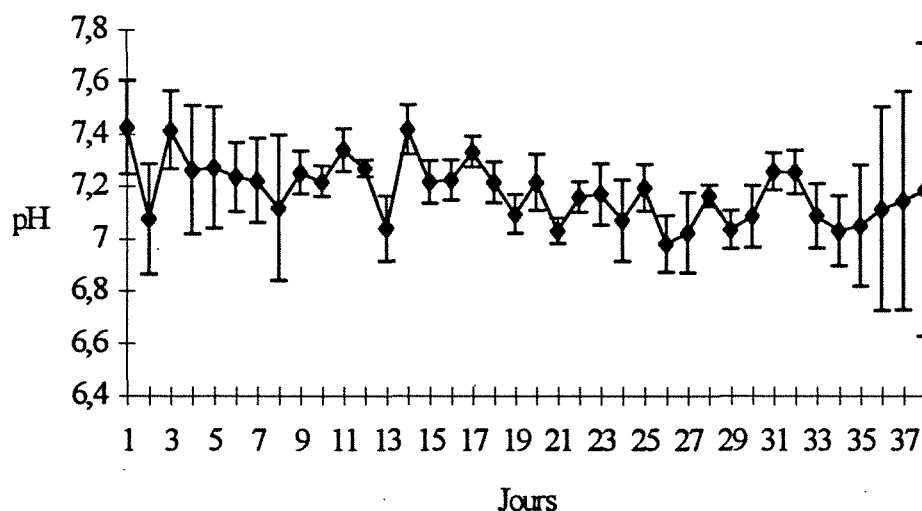
A partir des IC calculés indépendamment pour chaque lot expérimental, une valeur moyenne de 0,73 ( $\sigma = 0,03$ ) est obtenue.

Des examens parasitologique, bactériologique et virologique d'une trentaine d'alevins, prélevée au hasard dans les 4 BA ne révèlent aucun agent pathogène.

### 1.3.2 : Régulation du pH

L'adjonction de briquettes de carbonate disodique a permis une bonne régulation du pH de l'eau des BA. Sur l'ensemble des bassins et sur la durée totale de l'expérimentation, un pH moyen de 7,18 ( $\sigma = 0,14$ ) est noté avec des valeurs minimale et maximale de 6,79 et 7,51. La figure 21 permet une bonne visualisation de la stabilité de ce paramètre pendant la durée de l'expérimentation. Toutefois ce graphique laisse apparaître l'émergence d'une forte variabilité lors des trois derniers jours d'élevage. Celle-ci se retrouve également au niveau de la consommation hebdomadaire de carbonate (Figure 22). En fait, elle provient d'une divergence de la dynamique de ce paramètre entre les bassins où la mortalité est forte (1702, 1705) et ceux où la mortalité est faible (1703, 1704). En effet, au cours de cette période, le pH augmente dans les premiers bacs et diminue dans les seconds. Evidemment, seule l'eau des bassins 1703 et 1704 nécessite des apports de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

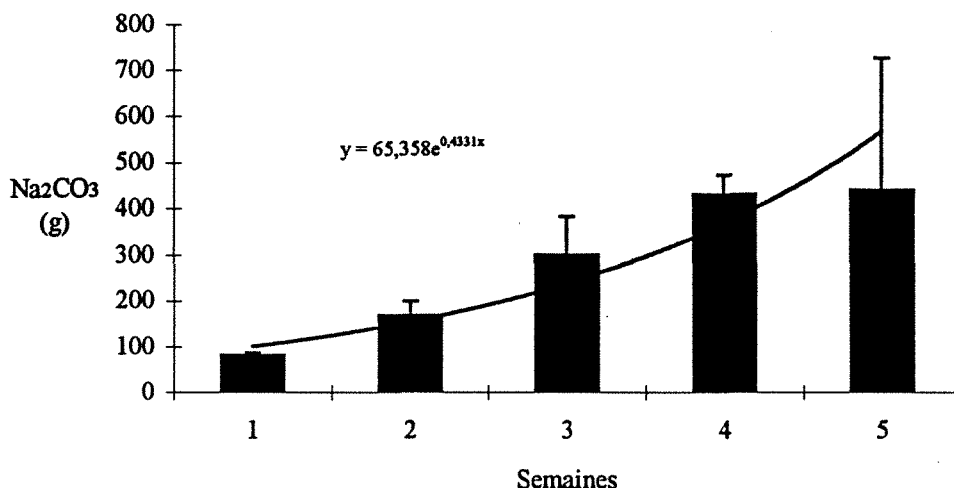
**Figure 21** : Evolution du pH (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



Les BA 1702, 1703, 1704 et 1705 ont respectivement consommé 1300 g, 1580 g, 1520 g et 1305 g de carbonate, soit en moyenne 1426 g ( $\sigma = 126$ ). Considérant le gain pondéral total en biomasse piscicole, il faut en moyenne 110 g de carbonate par kilogramme d'alevins produit. La consommation en carbonate suit une évolution ( $r = 0,95$ ,  $n = 5$ ,  $P < 0,05$ )

comparable à celle de la croissance des alevins (Figure 18), de la biomasse (Figure 19) et de la charge (Figure 20). Logiquement, elle semble liée au développement du cheptel.

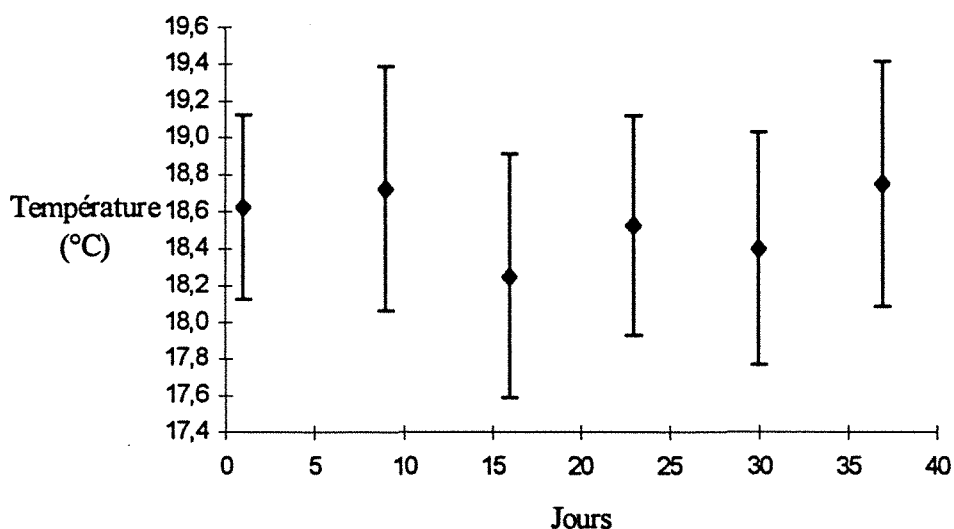
**Figure 22** : Consommation en carbonate disodique (moyenne + 2 écarts types).



### 1.3.3 : Variations de la physico-chimie de l'eau

La climatisation du local assure une bonne thermorégulation ambiante. La température de l'eau des BA est en moyenne de 18,5°C ( $\sigma = 0,3$ ) avec des valeurs minimale et maximale de 18,0°C et 19,2°C. La figure 23 confirme la relative stabilité des variations thermiques.

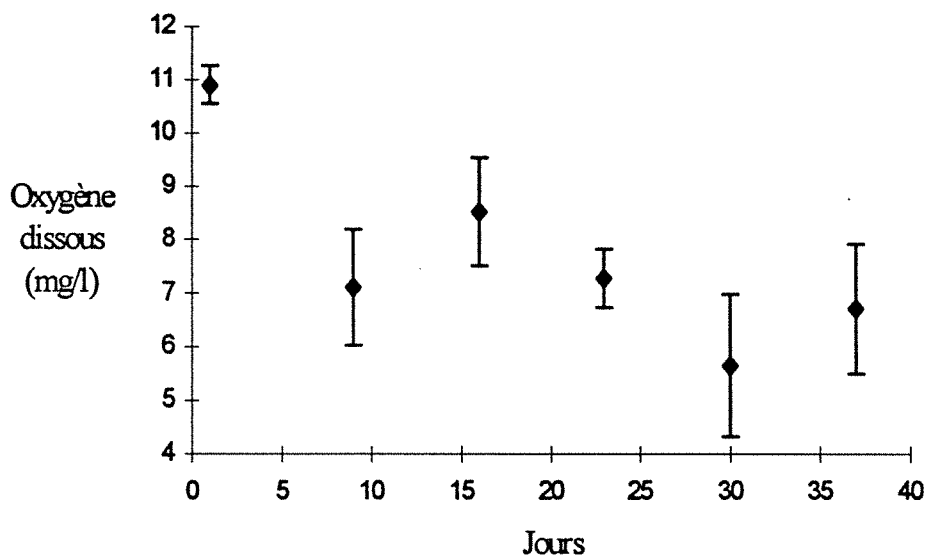
**Figure 23** : Fluctuations thermiques (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



Par opposition, la teneur en oxygène dissous a considérablement baissé au cours de l'expérimentation (Figure 24). Elle reste supérieure à 7 mg O<sub>2</sub>/l pendant les 3 premières semaines, puis descend à un taux moyen de 5,66 mg O<sub>2</sub>/l ( $\sigma = 0,65$ ) la 4ème semaine. Une

augmentation des débits d'air insufflés dans les diffuseurs permet une remontée de ce taux à 6,71 mg O<sub>2</sub>/l ( $\sigma = 0,60$ ) lors de la 5ème semaine. Les relevés effectués à 16h00 signalent des taux légèrement inférieurs à ceux enregistrés le matin. L'écart est constamment de l'ordre de 0,2 à 0,3 mg O<sub>2</sub>/l.

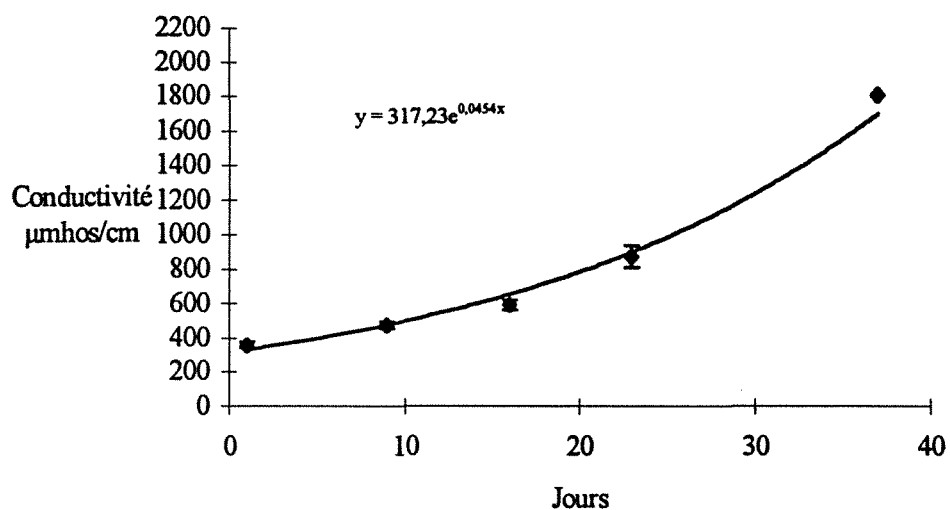
Figure 24 : Evolution de la teneur en oxygène dissous (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



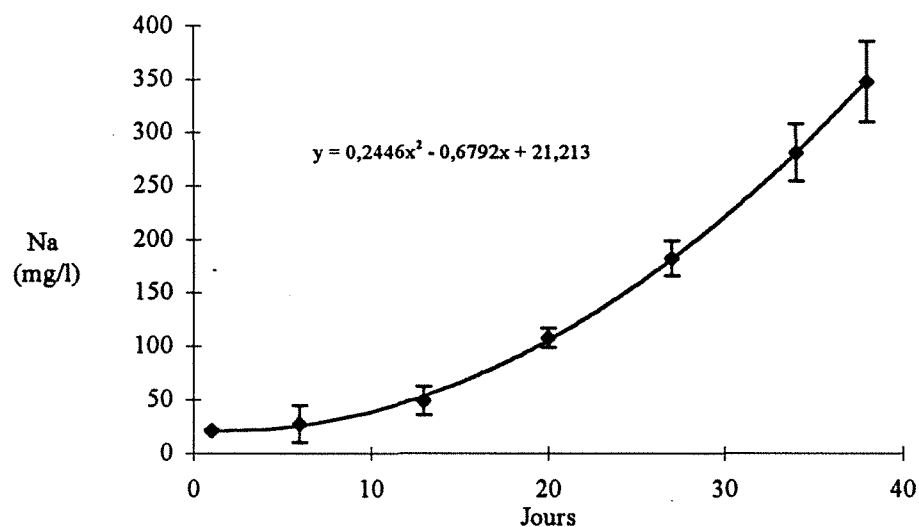
Les mesures de la conductivité de l'eau montrent sa minéralisation progressive (Figure 25,  $r = 0,99$ ,  $n = 5$ ,  $P < 0,005$ ). En 38 jours, elle passe de 357,5  $\mu\text{mhos/cm}$  ( $\sigma = 8,3$ ) à 1807,5  $\mu\text{mhos/cm}$  ( $\sigma = 51,2$ ). Cela traduit un enrichissement du milieu ambiant. L'évolution de ce dernier montre qu'il est intimement lié aux variations de la biomasse piscicole et à la consommation en carbonate disodique.

Le suivi des fluctuations des concentrations de divers ions permet de qualifier cette minéralisation de l'eau. Ainsi les figures 26, 27, 28, 29, 30 et 31 indiquent clairement une élévation des teneurs en sodium ( $r = 0,99$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$ ), en potassium ( $r = 0,99$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$ ), en bicarbonates, en calcium, en chlorures ( $r = 0,99$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$ ) et en nitrates ( $r = 0,99$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$ ). Le tableau 19 récapitule les teneurs initiale et finale de ces différents éléments. En fait, parmi les paramètres étudiés, seul le magnésium (Figure 32) ne suit pas cette tendance. Globalement, malgré d'importantes variations, la teneur en  $\text{Mg}^{++}$  a légèrement diminué. Si l'augmentation des teneurs en bicarbonates (Figure 28) apparaît seulement vers la quatrième semaine, l'élévation des concentrations en sodium, en potassium et en nitrates débute dès les premiers jours d'élevage (Figures 26, 27 et 31). L'évolution des concentrations en chlorures et en calcium est singulière avec une faible augmentation pendant les quatre premières semaines et un important enrichissement pendant les 10 derniers jours.

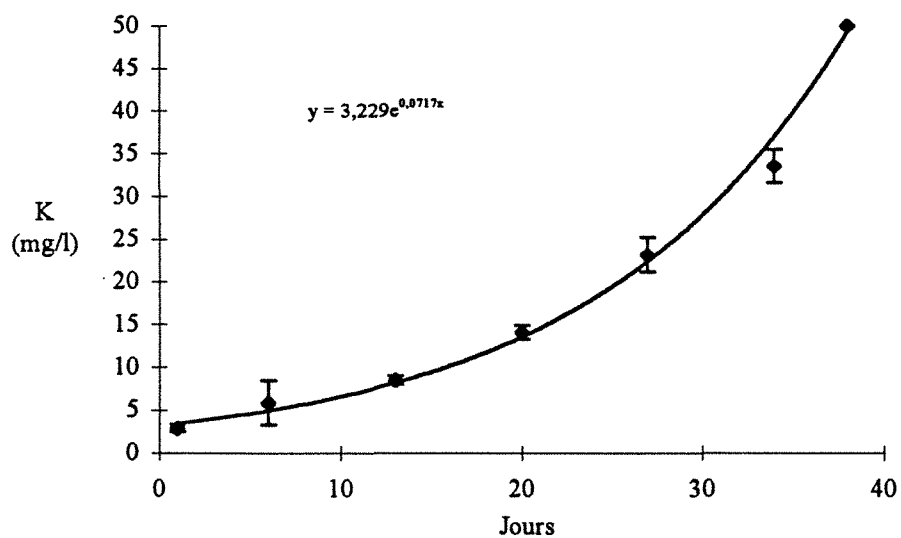
**Figure 25** : Evolution de la conductivité (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



**Figure 26** : Evolution de la concentration en sodium (moyenne  $\pm$  2 écarts types).

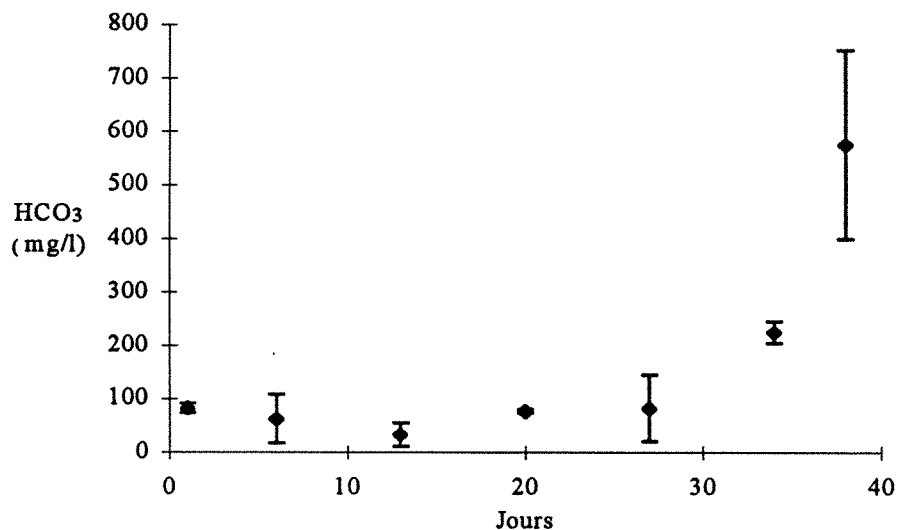


**Figure 27** : Evolution de la concentration en potassium (moyenne  $\pm$  2 écarts types).

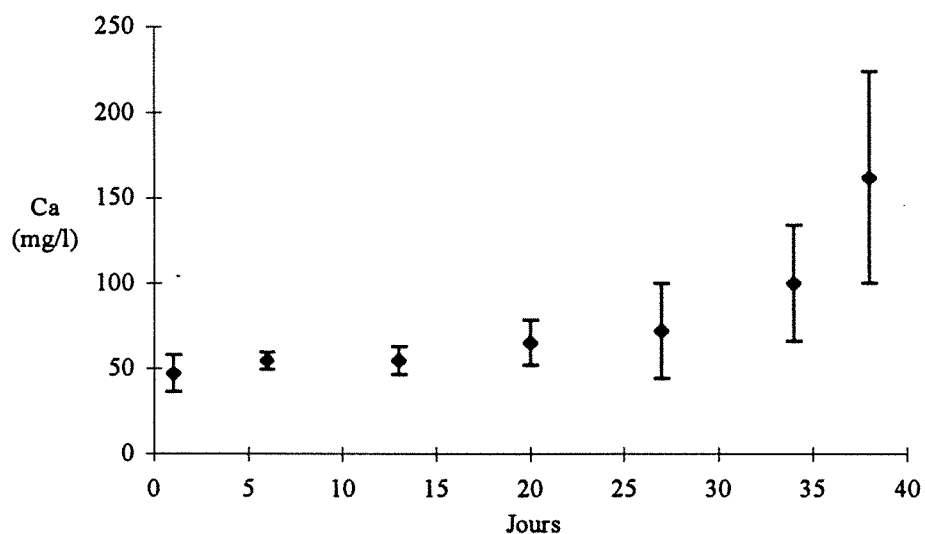




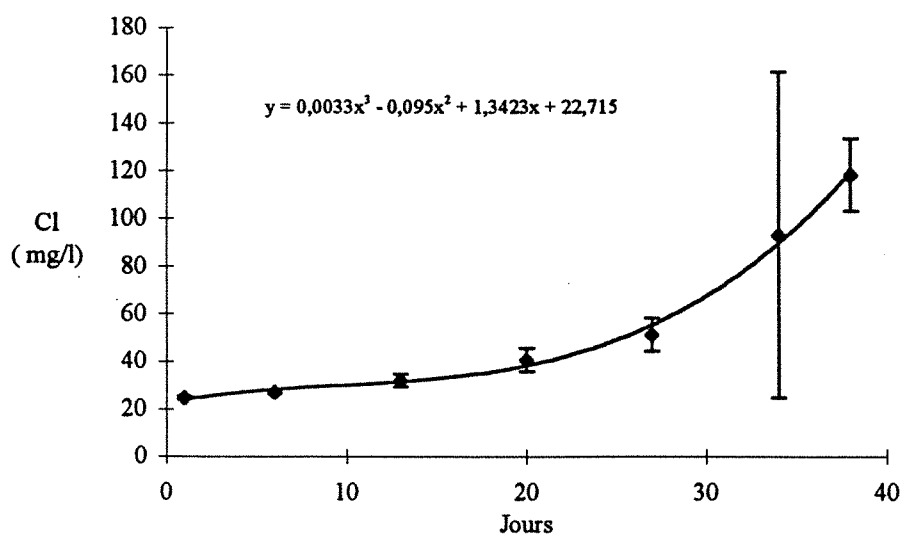
**Figure 28** : Evolution de la concentration en bicarbonates (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



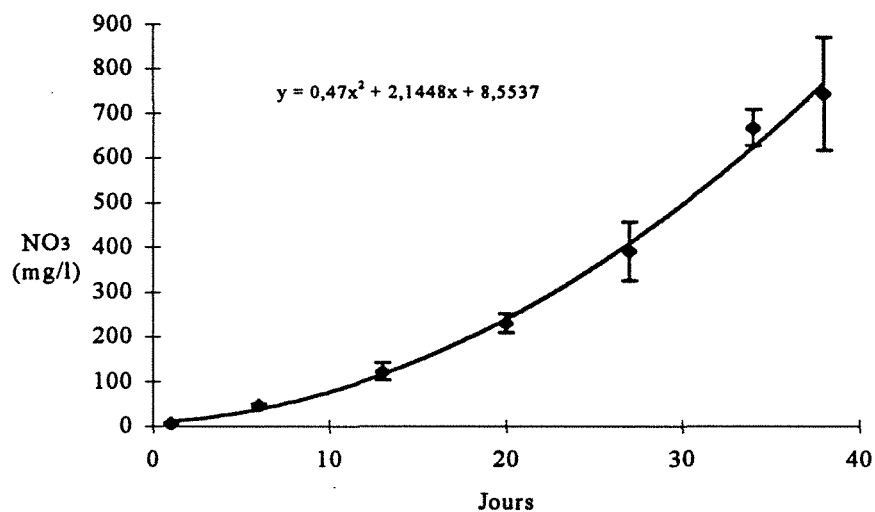
**Figure 29** : Evolution de la concentration en calcium (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



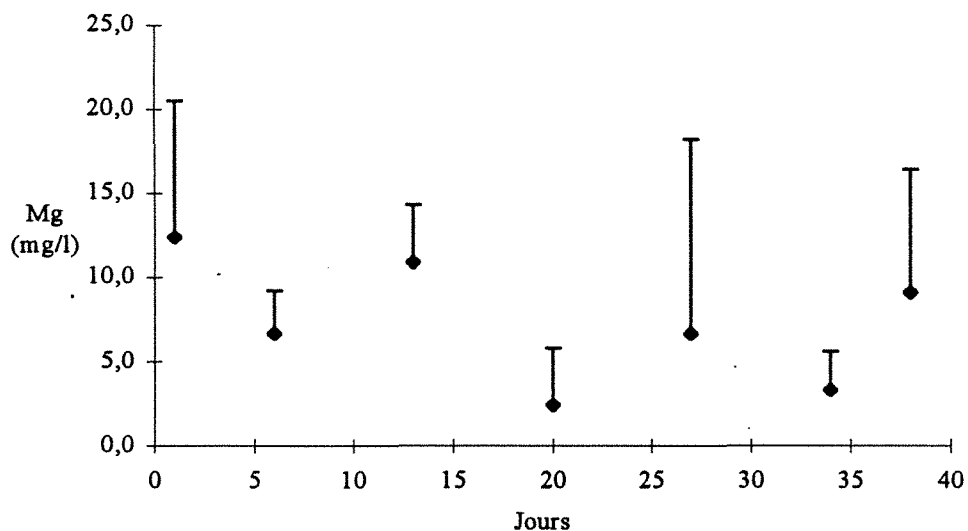
**Figure 30** : Evolution de la concentration en chlorures (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



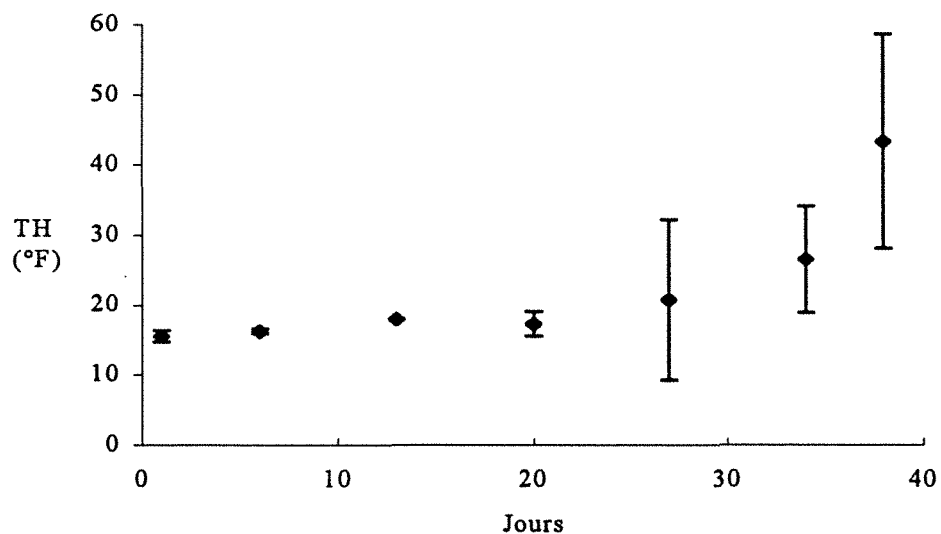
**Figure 31** : Evolution de la concentration en nitrates (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



**Figure 32** : Evolution de la concentration en magnésium (moyenne + 2 écarts types).



**Figure 33** : Evolution de la dureté (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



Il faut noter l'élévation logique de la dureté de l'eau en regard du comportement du calcium, son principal composant.

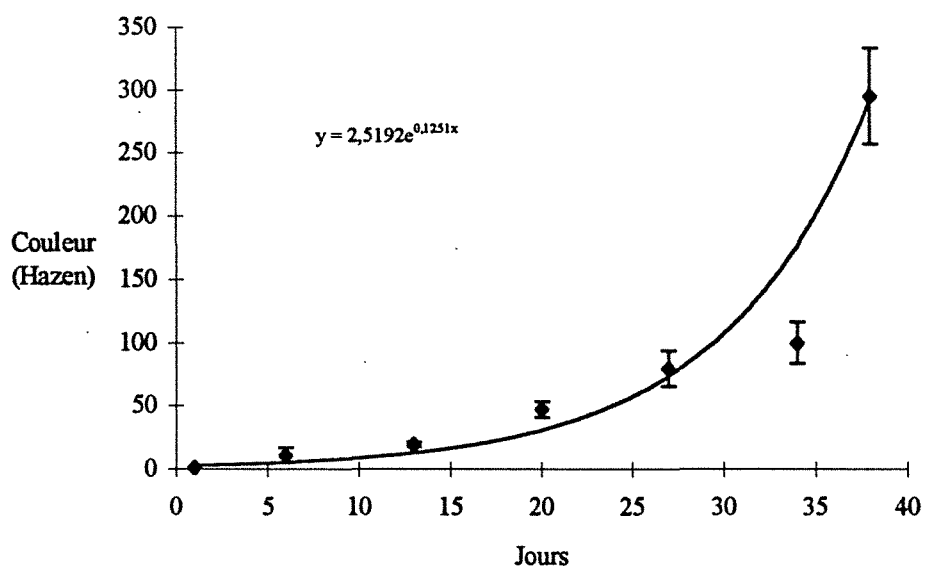
**Tableau 19** : Concentrations initiales et finales (moyenne  $\pm$  écart type) en mg/l des principaux paramètres chimiques étudiés.

Paramètre	Concentration initiale	Concentration finale
Sodium	21,1 $\pm$ 0,1	347,5 $\pm$ 16,4
Potassium	2,9 $\pm$ 0,2	50,0 $\pm$ 1,0
Bicarbonate	82,5 $\pm$ 3,8	575,0 $\pm$ 75,0
Calcium	47,1 $\pm$ 4,6	162,3 $\pm$ 25,2
Chlorure	24,5 $\pm$ 0,3	118,3 $\pm$ 6,2
Nitrate	6,7 $\pm$ 0,4	775,0 $\pm$ 20,4
Magnésium	12,4 $\pm$ 3,5	9,1 $\pm$ 3,2
Dureté (1)	15,5 $\pm$ 0,4	43,3 $\pm$ 6,2

(1) : la dureté est exprimée en °F.

En plus de ces changements, l'eau jaunit progressivement ( $r = 0,94$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,005$ ). A la fin de l'expérience, elle est d'un brun-jaune très intense (Figure 34).

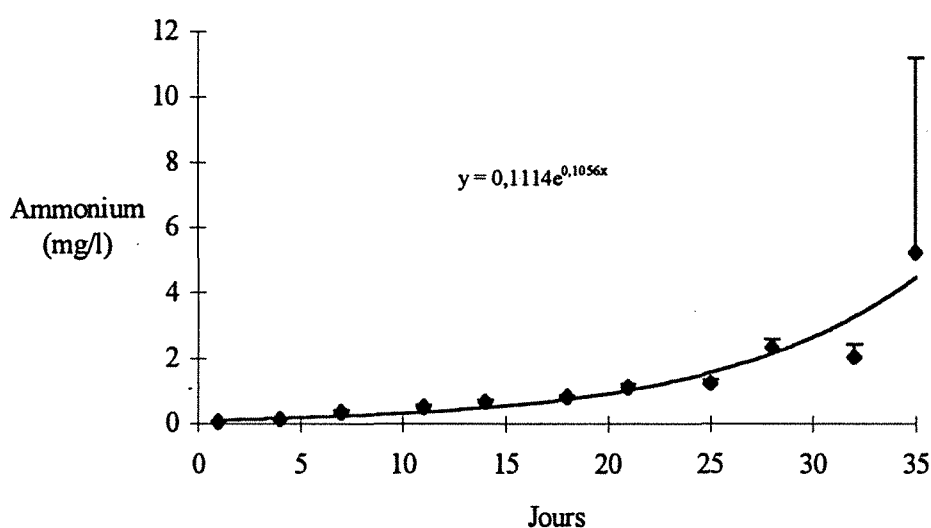
**Figure 34** : Evolution de la coloration (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



### 1.3.4 : Evolution des concentrations en ammonium et en nitrites

La figure 35 présente l'évolution du taux d'ions ammonium relevé à 9h00 et indique son élévation continue dans l'eau des bassins ( $r = 0,96$ ,  $n = 11$ ,  $P < 0,001$ ). Au 35ème jour, il atteint une valeur moyenne de  $5,5 \text{ mg NH}_4^+/\text{l}$  ( $\sigma = 2,9$ ). Comme pour la mortalité et le pH, on observe une forte variabilité au niveau des concentrations relevées en fin d'expérimentation. Ainsi au 35ème jour, l'eau des bassins 1702 et 1705 présente respectivement des teneurs de  $9,1$  et  $7,6 \text{ mg NH}_4^+/\text{l}$ , alors que l'eau des bacs 1703 et 1704 ne révèle que  $2,8$  et  $2,5 \text{ mg NH}_4^+/\text{l}$ . Cette variabilité coïncide avec celle mentionnée pour les autres paramètres, notamment la mortalité.

Figure 35 : Evolution de la teneur en ammonium (moyenne + 2 écarts types).



La table de Trussell (1972), définissant le pourcentage de  $\text{NH}_3$  en fonction du pH et de la température, permet le calcul de la concentration de  $\text{NH}_3$  au 35ème jour (Tableau 20).

Tableau 20 : Taux de  $\text{NH}_3$  présent dans l'eau des BA à 9h00 et au 35ème jour.

Bassin	Température (°C)	pH	$[\text{NH}_4^+]$ mg/l	% $\text{NH}_3$	$[\text{NH}_3]$ mg/l
1702	18,2	7,2	9,1	0,53	0,048
1703	18,1	7,0	2,8	0,34	0,009
1704	18,5	6,9	2,5	0,27	0,007
1705	18,8	7,0	7,6	0,37	0,028

Par référence à l'étude bibliographique, les concentrations en  $\text{NH}_3$  de l'eau des BA, relevée au 35ème jour à 9h00, se situent toutes à la limite des concentrations conseillées pour les élevages salmonicoles. Elles demeurent relativement éloignées des seuils de toxicité aiguë.

En ce qui concerne les teneurs en nitrites, la figure 36 montre, par comparaison avec la cinétique de l'ion ammonium, que cette substance évolue différemment. En effet jusqu'au 32ème jour (figure 37), le taux de nitrites augmente régulièrement ( $r = 0,95$ ,  $n = 10$ ,  $P < 0,001$ ). A cet instant (9h00), la concentration en azote nitreux culmine à  $0,556 \text{ mg NO}_2^-/\text{l}$  ( $\sigma = 0,104$ ). Puis brusquement en 3 jours et à la même heure, elle atteint en moyenne  $16,0 \text{ mg NO}_2^-/\text{l}$  ( $\sigma = 5,1$ ). Ce phénomène est relevé pour tous les bassins. Pour les BA 1702, 1703, 1704 et 1705, des teneurs respectivement de 22,4, 8,7, 14,8 et 16,3  $\text{mg NO}_2^-/\text{l}$  sont dosées. Il faut remarquer que les BA qui présentent les plus fortes teneurs sont également ceux où les plus fortes mortalités surviennent.

Figure 36 : Evolution de la teneur en nitrites (moyenne + 2 écarts types) pendant 35 jours.

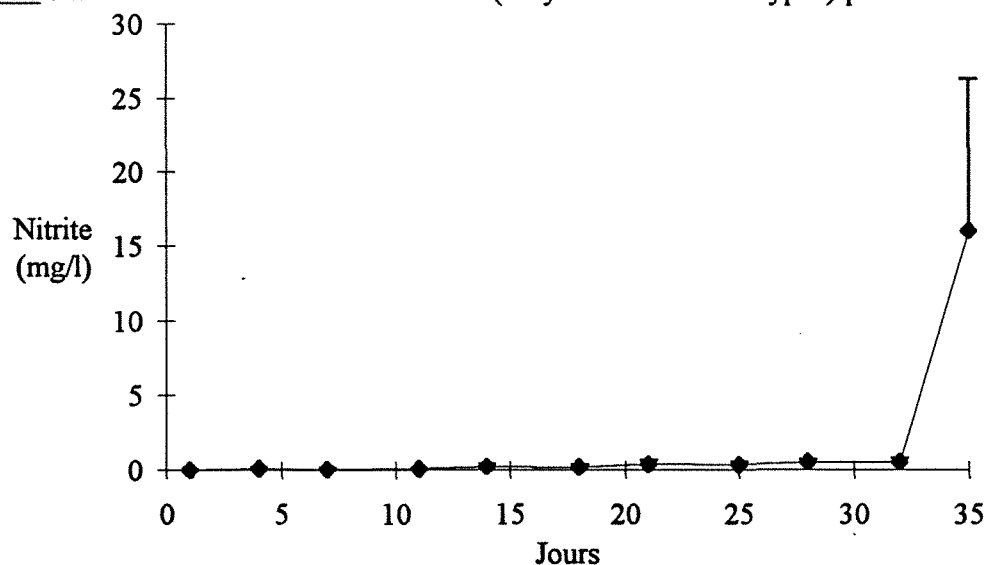
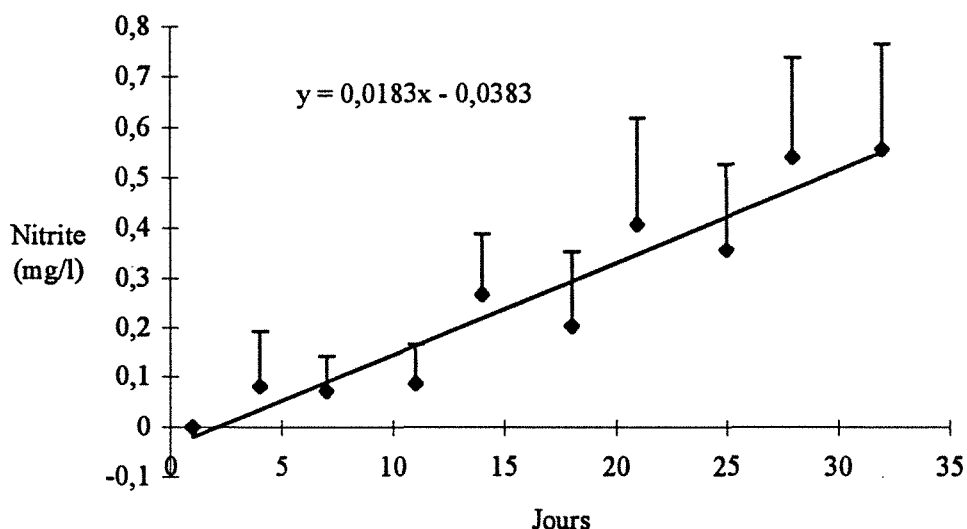


Figure 37 : Evolution de la teneur en nitrites (moyenne + 2 écarts types) pendant 32 jours.



Par référence à l'étude bibliographique, il apparaît qu'au 21<sup>ème</sup> jour (figure 37), où le taux moyen de nitrites à 9h00 est de 0,407 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l ( $\sigma = 0,100$ ), les seuils maximaux conseillés pour les Salmonidés sont franchis. De même, au 35<sup>ème</sup> jour, les seuils de toxicité aiguë sont largement dépassés. Dans ce contexte, il faut souligner que, jusqu'au 32<sup>ème</sup> jour, le rapport  $a = \text{Cl}^-/\text{NO}_2^-$  est en permanence largement supérieur à 17. Ainsi au 32<sup>ème</sup> jour et à 9h00, les concentrations moyennes en chlorures et en nitrites étant respectivement de 80 mg Cl<sup>-</sup>/l et de 0,556 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l,  $a$  est égal à 144. Au contraire, à partir du 35<sup>ème</sup> jour, ce rapport devient inférieur à 17 et l'effet protecteur des chlorures est atténué. Au 35<sup>ème</sup> jour et à 9h00, les concentrations moyennes en chlorures et en nitrites étant respectivement de 100 mg Cl<sup>-</sup>/l et de 16 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l, il descend à une valeur de 6,2.

Durant les premières semaines d'expérimentation, le dosage de faibles teneurs en ammonium (Figure 35) et en nitrites (Figure 36) d'une part et d'un taux croissant de nitrates (Figure 31) d'autre part, apporte la preuve de l'ensemencement initial des filtres biologiques.

### 1.3.5 : Variations nycthémerales des teneurs en ammonium et en nitrites

#### a : Ammonium

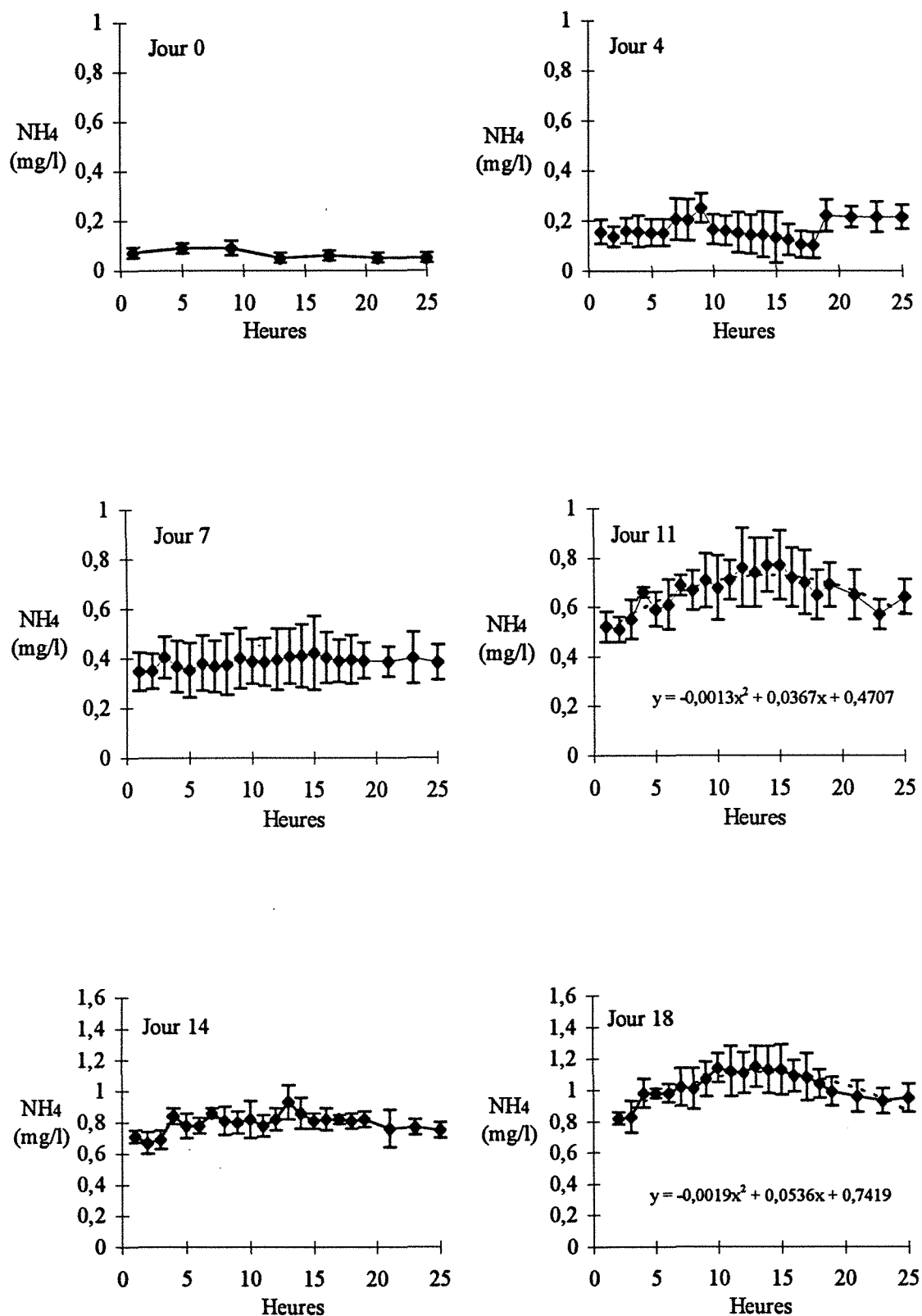
Le suivi des variations nycthémerales des teneurs en ammonium (Figure 38) confirme un enrichissement progressif du milieu en cet élément.

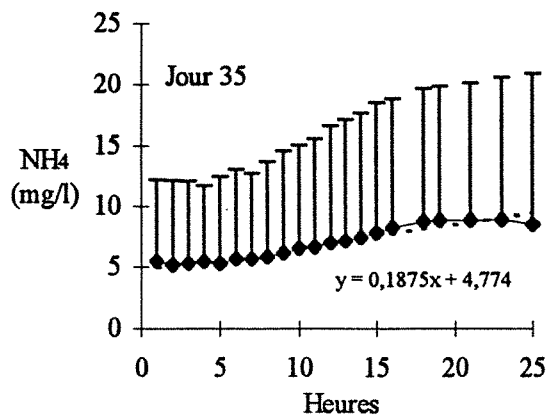
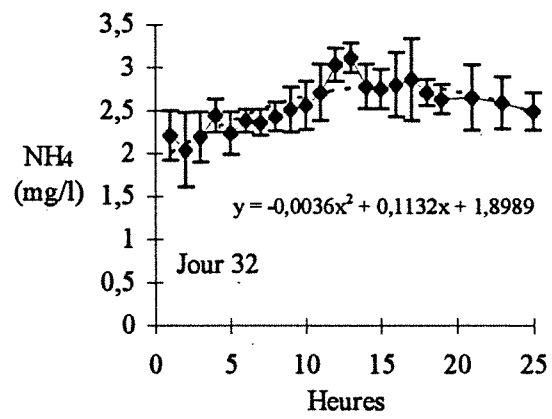
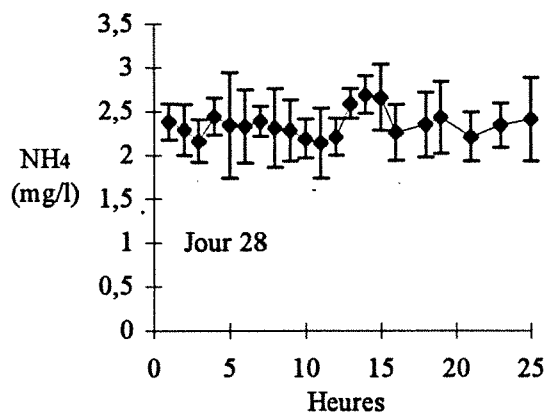
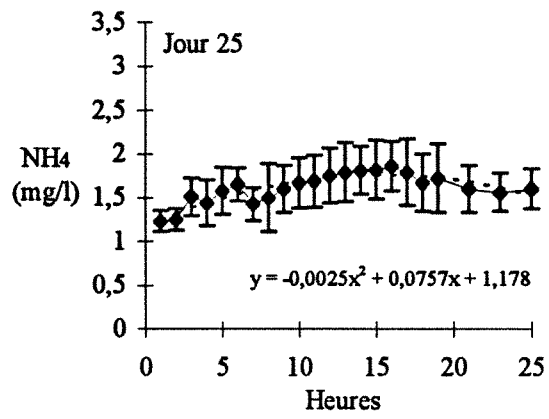
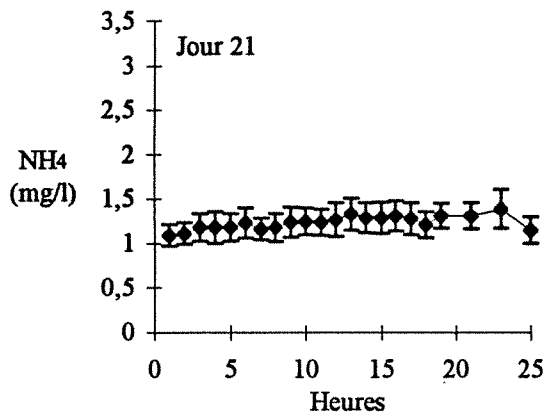
Hormis pour le jour 4 où l'ammoniac présente des fluctuations singulières, ces cycles nycthémeraux montrent une zone de concentrations minimales entre 8h00 et 10h00 qui contrastent avec une zone de concentrations maximales entre 20h00 et 23h00. Cette dernière apparaît donc entre 30 mn à 3h 30 après le dernier repas. La distinction de ces deux zones de concentration est accentuée par les réajustements alimentaires (jours 11, 18, 25 et 32). Pour ces jours, un modèle polynomial au second degré convient pour expliquer les fluctuations observées ( $r > 0,86$ ,  $n = 22$ ,  $P < 0,001$ ).

Au 35<sup>ème</sup> jour, une augmentation régulière ( $r = 0,96$ ,  $n = 22$ ,  $P < 0,001$ ) de la concentration ammoniacale est enregistrée jusqu'à 6h00. Seule la période de 6h00 à 8h00 permet un léger abattement de ces fortes teneurs. Durant cette journée, un accroissement de la variabilité est également noté, le coefficient de variation passe progressivement de 53% à 63% confirmant ainsi les comportements divergents des filtres des BA.

A cette date, soit la capacité épuratrice du biofiltre est saturée, soit des conditions défavorables altèrent le rendement du biofiltre.

**Figure 38** : Variations nycthémerales de la teneur en ion ammonium (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



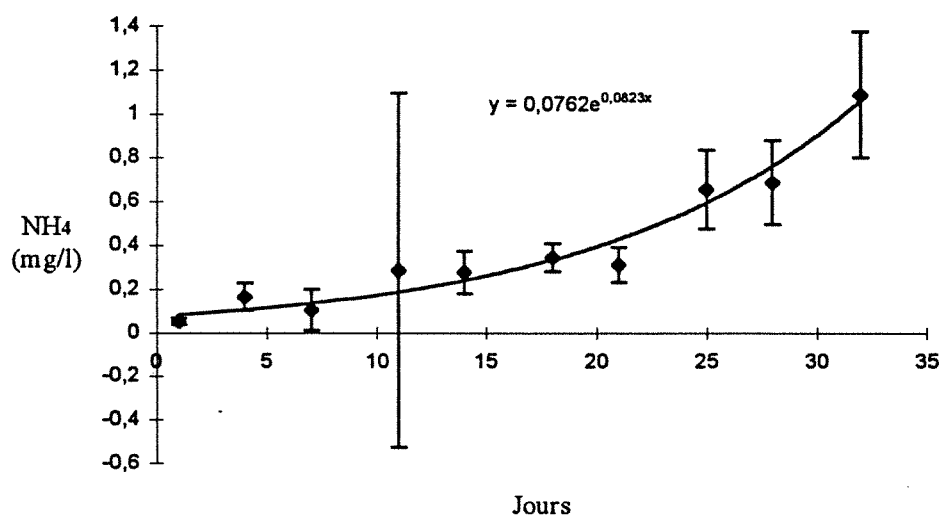




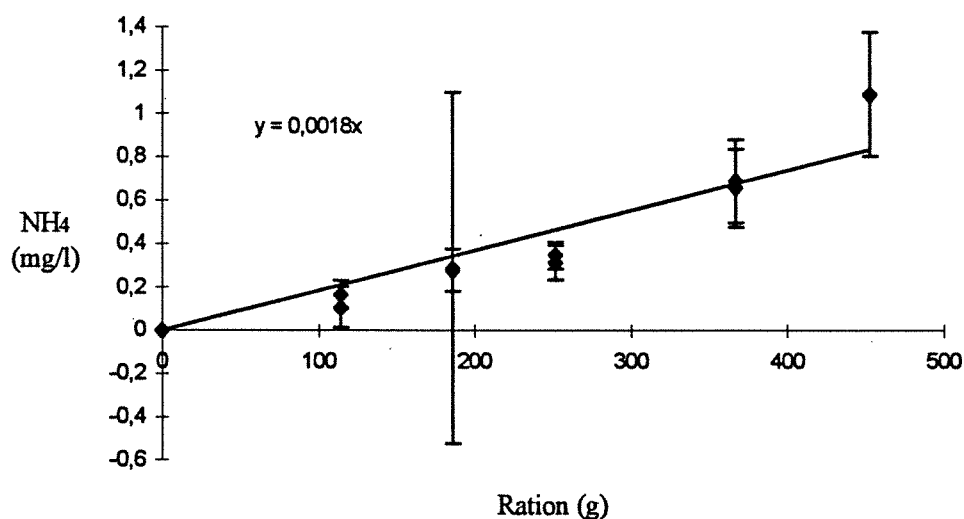
Du point de vue toxicologique, même temporairement, les seuils conseillés ne sont pas franchis jusqu'au 32ème jour compris. Ainsi pendant cette période, la valeur maximale mesurée de 3,12 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/l ( $\sigma = 0,08$ ) correspond aux prélèvements de 20h00 du 32ème jour. Avec une température et un pH moyens respectivement de 18,5°C et 7,2, ce taux indique une teneur en NH<sub>3</sub> inférieure à 0,02 mg NH<sub>3</sub>/l.

Au 35ème jour, seule l'eau des bassins 1702 et 1705 présente, à partir de la mi-journée, des concentrations en NH<sub>3</sub> supérieures à 0,06 mg NH<sub>3</sub>/l. Il faut préciser que l'eau du bassin 1702 atteint une valeur maximale à 6h00 de 0,10 mg NH<sub>3</sub>/l.

**Figure 39** : Evolution de l'écart entre les concentrations quotidiennes minimales et maximales en ammonium (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



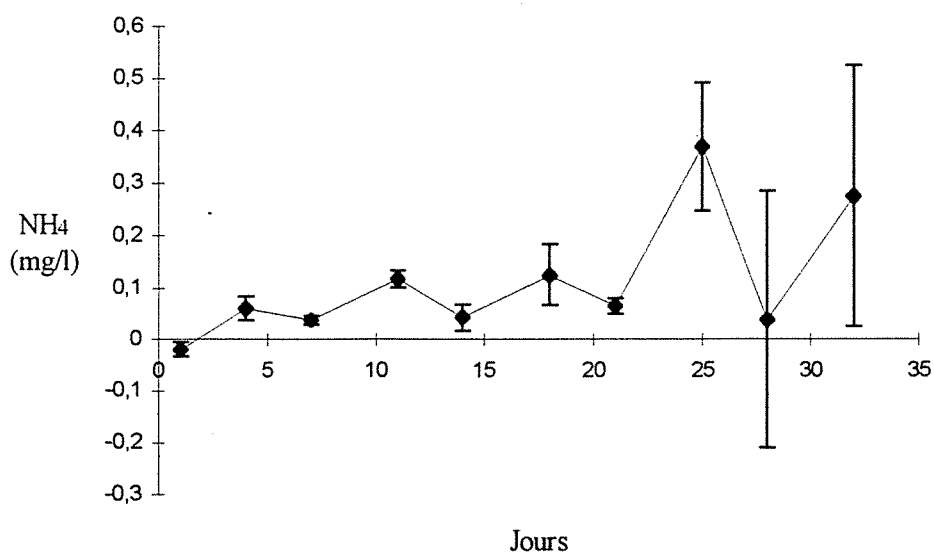
**Figure 40** : Evolution de l'écart entre les concentrations quotidiennes minimales et maximales en fonction de la ration alimentaire.



La figure 39 montre que, lors des réajustements alimentaires (jours 11, 18, 25 et 32), il y a généralement une élévation de l'amplitude des variations nyctémérales ( $r = 0,94$ ,  $n = 10$ ,  $P < 0,001$ ). Cette dernière reste constante pendant toute la semaine. La figure 40 montre que l'écart entre les concentrations minimales et maximales est directement dépendant de l'importance de la ration ( $r = 0,93$ ,  $n = 10$ ,  $P < 0,001$ ).

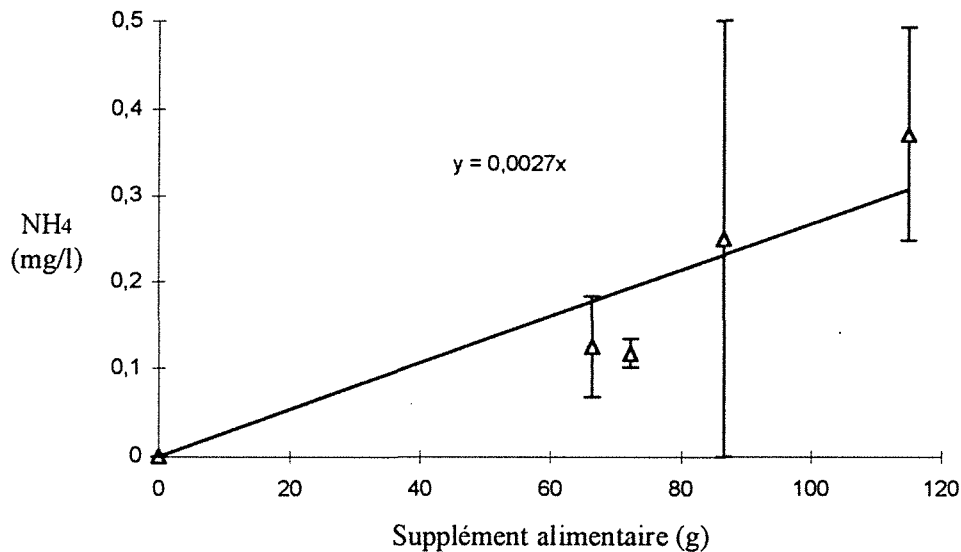
Chaque réajustement de la ration implique une élévation de la quantité d'azote ammoniacal produite. Le surplus de  $\text{NH}_4^+$  ne permet pas une régénération complète de la qualité de l'eau pendant la phase nocturne d'épuration. Aussi un enrichissement du milieu est constaté (Figure 41). Cependant 4 jours plus tard, le biofiltre montre une adaptation de sa capacité d'épuration et cet enrichissement n'est plus observé. A ce titre, les relevés réalisés le 28ème jour indiquent que les biofiltres sont capables d'assimiler la pollution ammoniacale engendrée par une ration équivalente à 370 g.

Figure 41 : Evolution de l'écart ( $E_{j+1} - E_j$ ) entre les concentrations en ammonium relevées à 8h00 durant deux jours consécutifs (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



L'enrichissement progressif du milieu ambiant en ammoniac apparaît essentiellement lié à une surproduction de cette substance pendant les premiers jours qui suivent les réajustements alimentaires. Jusqu'au 28ème jour, cette période dépend du temps nécessaire à l'adaptation de la microflore bactérienne et est inférieure à 4 jours. Durant celle-ci, la quantité d'ammoniac produite dépend étroitement de l'ampleur du réajustement alimentaire (Figure 42,  $r = 0,92$ ,  $n = 5$ ,  $P < 0,05$ ).

**Figure 42** : Influence des suppléments alimentaires apportés lors des ajustements de la ration sur l'écart ( $E_{j+1} - E_j$ ) entre les concentrations en ammonium relevées à 9h00 durant les deux jours suivant le réajustement alimentaire (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



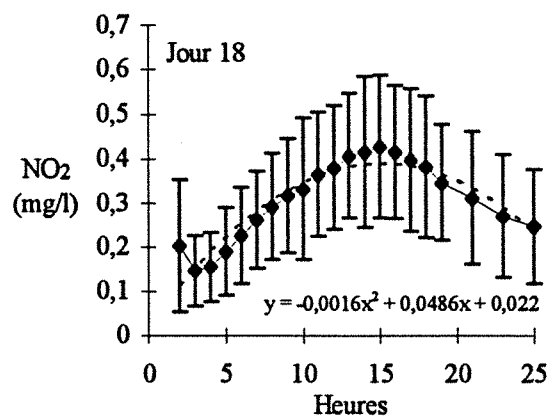
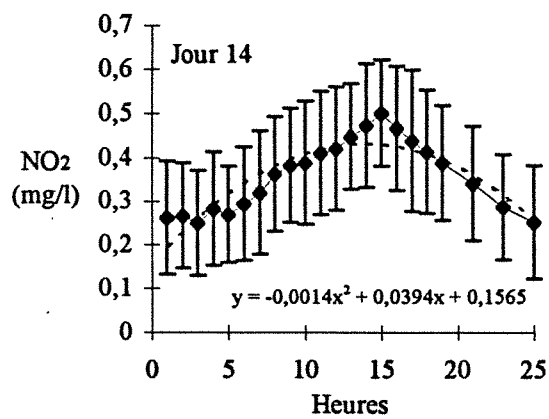
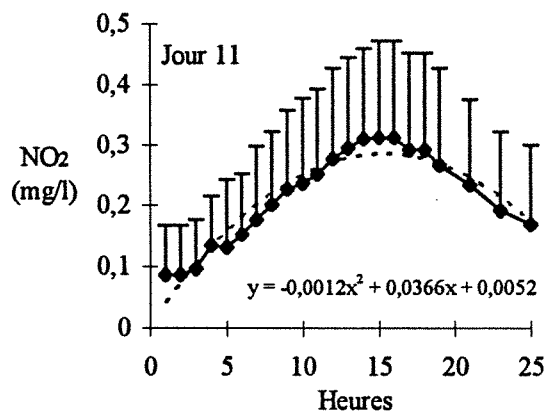
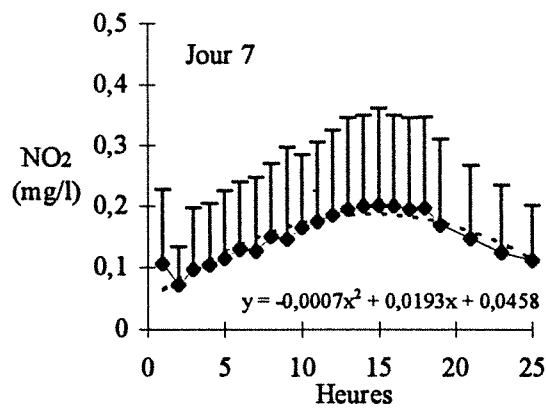
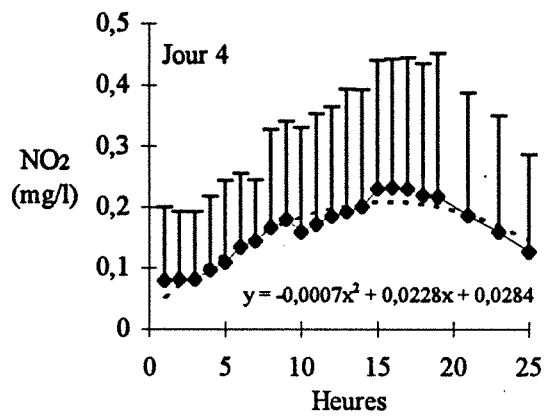
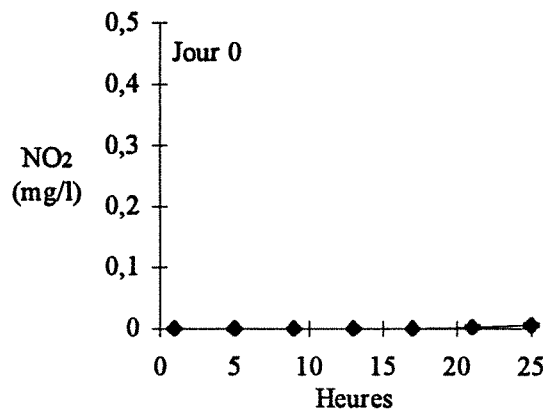
b : Nitrites

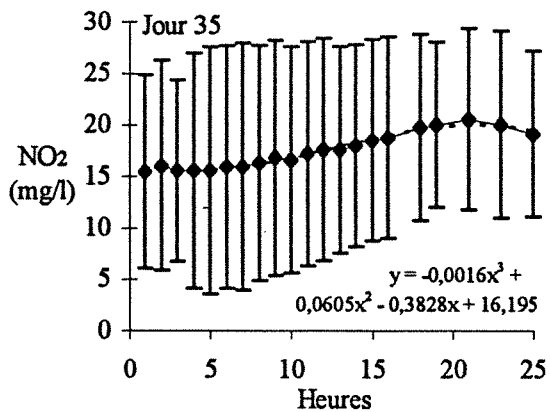
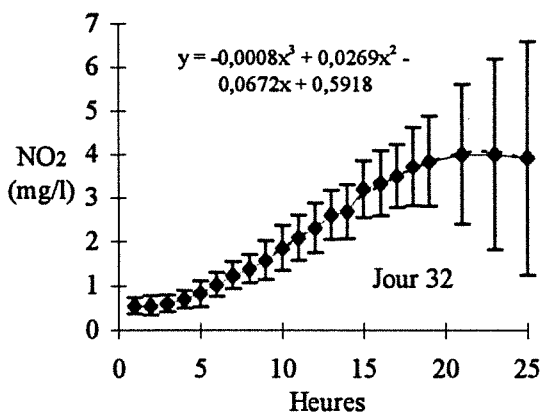
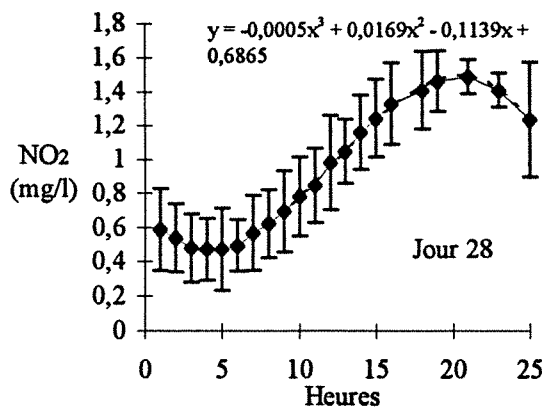
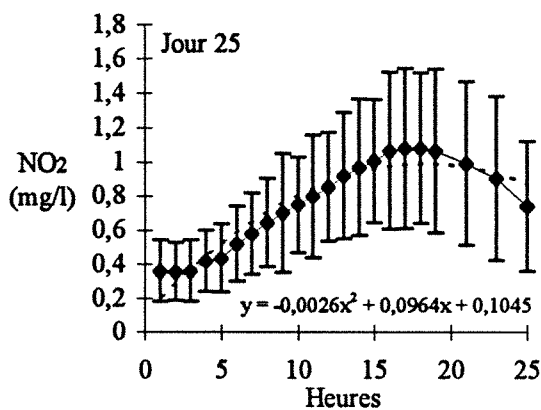
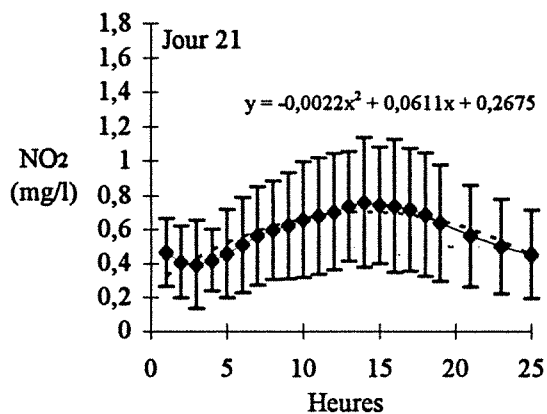
Le suivi des variations nycthémerales des teneurs en nitrites (Figure 43) confirme un enrichissement progressif du milieu en nitrite. Les équations, présentées sur cette figure, ont toutes un coefficient de corrélation supérieur à 0,90.

Sur tous les cycles de 24h étudiés, une zone de concentrations minimales est observée entre 8h00 et 10h00, excepté pour le jour 28 où celle-ci se situe entre 11h00 et 12h00. Parallèlement, une zone de concentrations maximales est enregistrée. Du jour 4 au jour 21, elle intervient entre 21h00 et 23h00 et se superpose à son homologue rencontré pour l'azote ammoniacal. Cependant, à partir du jour 25, cette zone apparaît plus tardivement et émerge entre 24h00 et 1h00 pour le jour 25 et entre 4h00 et 6h00 pour les jours 28, 32 et 35.

Dès les jours 14 et 18, les teneurs maximales conseillées pour les élevages salmonicoles sont occasionnellement dépassées, notamment entre 15h00 et 4h00, puis en permanence à partir du jour 21. De même, les seuils de toxicité aiguë sont temporairement franchis le jour 32 (de 22h00 à 8h00), alors que les mesures du jour 35 indiquent des teneurs en  $\text{NO}_2^-$  constamment supérieures aux seuils toxiques.

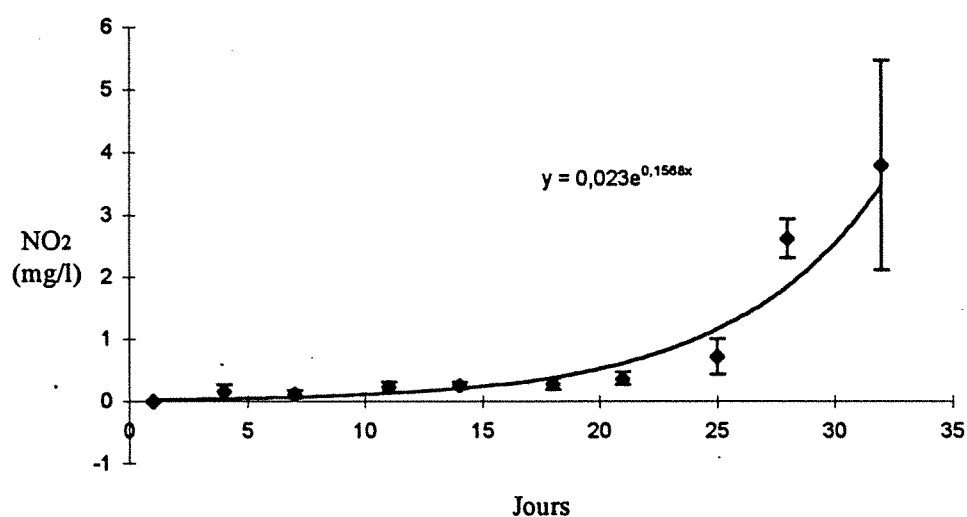
Figure 43 : Variations nyctémérales de la teneur en ion nitrite (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



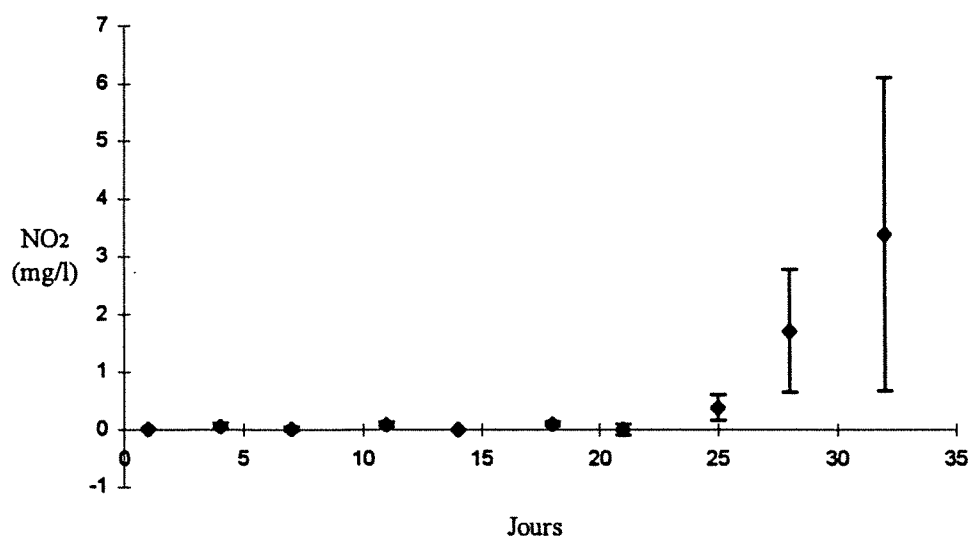


D'autres constatations permettent de distinguer la dynamique des concentrations en nitrites de celle des teneurs en ammonium. Ainsi le profil des fluctuations en  $\text{NO}_2^-$  demeure relativement constant ( $r > 0,91$ ,  $n = 22$ ,  $P < 0,001$ ). Il ne subit pas l'influence des réajustements de la ration alimentaire (Figure 44,  $r = 0,90$ ,  $n = 10$ ,  $P < 0,001$ ). Sur ce graphique, les augmentations de la quantité d'aliment distribuée n'induisent pas de brusques élévations de la concentration en  $\text{NO}_2^-$ . En plus, par comparaison avec les figures 39 et 41, il montre des amplitudes de variations supérieures pour les nitrites. De même, elles indiquent un enrichissement beaucoup plus précoce pour les nitrites. Dès le 25<sup>ème</sup> jour, l'eau des BA s'enrichit fortement en nitrite (Figure 45).

**Figure 44** : Evolution de l'écart entre les concentrations quotidiennes minimales et maximales en nitrites (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



**Figure 45** : Evolution de l'écart entre les concentrations en nitrites relevées à 8h00 durant deux jours consécutifs (moyenne  $\pm$  2 écarts types).



Enfin une plus forte variabilité est notée entre les BA, comme l'indique l'importance des intervalles de confiance ( $> 95\%$ ) présentés sur les graphiques (Figures 38 et 43). L'accroissement considérable de la variabilité inter-BA à partir du 32<sup>ème</sup> jour montre que les BA réagissent alors différemment.

#### 1.4 : Discussion

A partir d'une légère maintenance (30 mn/j), les bassins d'alevinage autorisent la production d'alevins de TAC d'un état sanitaire irréprochable. Avec une eau thermorégulée à 18,5°C et un pH maintenu aux alentours de 7,2, le BA permet l'obtention en 5 semaines d'alevins d'un poids moyen de 1,043 g à partir d'alevins d'un poids initial de 0,187 g. L'enregistrement d'un indice de conversion alimentaire de 0,73 atteste de l'adéquation des caractéristiques techniques et hydrauliques du BA face aux exigences des jeunes TAC. En effet statistiquement, cette valeur n'est pas différente de 0,69, valeur obtenue avec le même aliment dans une pisciculture fonctionnant en circuit ouvert et disposant en abondance d'une eau de bonne qualité (Robert, com. pers.). Cela est d'autant plus probant que la détérioration de la qualité de l'eau lors de la 5<sup>ème</sup> semaine d'élevage a vraisemblablement atténué les performances de croissance.

Dans sa configuration actuelle et en circuit fermé total, la charge finale maximale en alevins de 1 g, admise par un BA, est de 15 kg ce qui correspond à des densités de 11 kg/m<sup>3</sup> du volume utile et de 9 kg/m<sup>3</sup> du volume total. Une charge finale de 11 kg/m<sup>3</sup> reste très largement inférieure aux densités usuelles dans les salmonicultures les plus perfectionnées. En effet, pour des TAC de 120 à 250 g, des densités de 100 kg/m<sup>3</sup>, voire de 130 kg/m<sup>3</sup> en utilisant de l'oxygène pur liquide, sont fréquemment rencontrées dans des établissements fonctionnant en circuit ouvert avec un taux de renouvellement de l'eau de 300 l/s (Colson, com. pers.). Cependant, 11 kg/m<sup>3</sup> constituent une charge légèrement supérieure aux densités effectives (5-10 kg/m<sup>3</sup>) dans les enceintes d'alevinage de ces mêmes entreprises.

Par comparaison avec les capacités de production signalées pour d'autres procédés piscicoles fonctionnant en circuit fermé, les performances du BA semblent faibles. Ainsi, Otte et Rosenthal (1979), Yang-Liang (1990) et Jespersen (1989) obtiennent des charges finales respectivement de 43,5 kg/m<sup>3</sup>, de 61,8 kg/m<sup>3</sup> et de 90 kg/m<sup>3</sup> dans le cadre d'élevages de tilapias (*Tilapia mossambica*, *Sarotherdon niloticus*) et d'anguilles (*Anguilla anguilla*). Toutefois, ces auteurs utilisent des procédés très complexes conçus à partir de techniques perfectionnées (concentrateur à courant tangentiel, filtre rotatif, oxygène pur, ozonisateur). De plus, ces équipements, présentant souvent un volume d'eau élevé (100 m<sup>3</sup>), possèdent une chaîne de traitement unique, qui équivaut en général à plus de 50% du volume total, et sont, par conséquent, très encombrants. De même, dans leur fonctionnement, ils intègrent un renouvellement partiel de l'eau d'élevage. Ainsi, Jespersen (1989) change 200 l d'eau par kg

d'aliment et par jour. Enfin et surtout, ces études concernent des espèces beaucoup moins exigeantes vis-à-vis de la qualité de l'eau que les Salmonidés.

Pour les espèces salmonicoles, peu de travaux relatent des tentatives d'élevage en circuit fermé. De plus, ils impliquent toujours de petites structures d'un volume total de 1 à 10 m<sup>3</sup> (Rusten et Harr, 1989 ; Hovgaard, 1993). Parallèlement, les taux usuels de renouvellement partiel de l'eau sont relativement plus élevés et évoquent plus une aquaculture en eau recyclée qu'un élevage en circuit fermé (Ulgenes et Eikebrokk, 1993). Par exemple, Scott et Gillespie (1972) obtiennent, dans un bassin de 1,6 m<sup>3</sup>, une charge finale de 75 kg (47 kg/m<sup>3</sup>) avec des TAC de 165,1 g, après 238 jours d'élevage et à partir de truitelles de 11,6 g (rationnement à 2%). Durant la période d'expérimentation, l'eau est quotidiennement renouvelée à 90%. Ce taux de renouvellement demeure assez faible en comparaison des 200% utilisés par Scott et Allard (1984) lors d'une stabulation de TAC (25 kg/m<sup>3</sup>) pendant 6 mois. Enfin selon Eikebrokk (1990), le passage, en 10 mois, d'une charge initiale de 2 kg/m<sup>3</sup> à une charge finale 24 kg/m<sup>3</sup> de TAC nécessite l'incorporation progressive d'un taux de renouvellement qui, au terme de l'essai, atteint 0,02 l/mn/kg de biomasse (75%).

Néanmoins, avant d'envisager une exploitation commerciale de ces bassins, un accroissement de leurs potentialités semble indispensable. En priorité, cela exige une identification des facteurs limitants du système.

Une considérable dégradation de la qualité physico-chimique de l'eau constitue indéniablement le principal problème rencontré. Logiquement un abaissement de la teneur en oxygène dissous et une élévation des concentrations en azote inorganique toxique (ammoniac, nitrites) constituent les deux principaux inconvénients d'un élevage en circuit fermé (Paller et Lewis, 1988). Si une diminution du taux d'O<sub>2</sub>, notamment pendant la 4ème semaine, a probablement entravé la pleine expression des potentialités zootechniques du cheptel, cet appauvrissement ne peut être responsable des mortalités observées. Dans le cas présent, les variations de la teneur en oxygène dissous ne constituent pas le problème majeur, contrairement à d'autres procédés (Mc Kay et van Toever, 1981). En effet, ce taux demeure constamment supérieur à 5 mg O<sub>2</sub>/l et la plupart du temps au-delà de 6 mg O<sub>2</sub>/l.

En fait lors de la 5ème semaine d'expérimentation, le changement de comportement des alevins (refus alimentaire) et l'émergence d'une forte mortalité s'expliquent essentiellement par un enrichissement du milieu ambiant en azote inorganique, principalement sous la forme de nitrites. La brutale élévation de la teneur en nitrites entre le 32ème et le 35ème jours se présente comme le principal agent responsable de l'intoxication des alevins. A cette dernière date, la concentration en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (16 mg/l) est fortement létale et cela d'autant plus que les chlorures n'assurent plus pleinement leur pouvoir inhibiteur ( $\alpha = 6,2$ ). Si les seuils de toxicité aiguë sont dépassés au 32ème jour, les concentrations maximales tolérées pour les élevages



salmonicoles sont franchies temporairement dès le 14ème jour (5 kg alevins/BA). Une accélération de l'enrichissement du milieu en nitrites à partir du 25ème jour (9 kg alevins/BA) marque une rupture entre les taux de nitrites produits et transformés. Face à cette intoxication progressive de l'eau d'élevage, il faut noter l'évolution favorable des teneurs en chlorures, en calcium, et à un degré moindre en bicarbonates et en nitrates (Wedemeyer et Yasutake, 1978 ; Bath et Eddy, 1980 ; Russo *et al.*, 1981). L'augmentation des teneurs en ces différents éléments, en relation avec les adjonctions de carbonate disodique et l'alimentation (Perrone et Meade, 1977), contribue à atténuer les effets toxiques de l'enrichissement en  $\text{NO}_2^-$ . Etant donné l'évolution de la physico-chimie de l'eau et l'ampleur de la pollution en azote nitreux, une chimiothérapie (apports de NaCl,  $\text{CaCl}_2$ , KCl ou  $\text{NaHCO}_3$ , Huey *et al.*, 1980) n'apparaît pas comme un moyen efficace pour accroître la capacité de production des BA. Cependant à partir du 32ème jour, de tels ajouts peuvent constituer une prévention vis-à-vis des fortes mortalités observées.

Les variations des teneurs en azote ammoniacal semblent nettement moins dangereuses pour les alevins. Ainsi les seuils conseillés pour les salmonicultures ne sont atteints qu'au 32ème jour. Toutefois au 35ème jour, des concentrations létales sont relevées dans les bassins qui présentent les plus importants taux de mortalité. Cependant le développement d'une eau de plus en plus dure aboutissant à une dureté finale supérieure à 40°F, soit 400 mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$  (Tomasso *et al.*, 1980a) et l'exposition progressive des alevins à des concentrations croissantes en ammoniac contribuent à leur acclimatation à cette substance toxique (Schulze-Wiehenbrauck, 1976 ; Thurston *et al.*, 1981c) et rendent improbables une éventuelle intoxication par l'ammoniac des alevins. De même, la considérable élévation de la teneur en sodium renforce cette hypothèse. En effet, une forte concentration en  $\text{Na}^+$  inhibe la toxicité ammoniacale (Colt et Tchobanoglous, 1978 ; Colt et Armstrong, 1981) et autorise notamment une élimination de l'ammonium plasmatique par le biais d'un renforcement des échanges actifs  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ .

Le suivi des fluctuations nyctémérales des teneurs en ammonium et en nitrites confirme le rôle prépondérant joué par les nitrites dans la dégradation de la qualité de l'eau. Toutefois, il permet de confirmer l'existence de fluctuations quotidiennes (Rosenthal *et al.*, 1981). De plus, il montre la dépendance des fluctuations ammoniacales vis-à-vis de la quantité d'aliment distribuée et par conséquent de la biomasse (Poxton et Allouse, 1987), même si la fréquence de distributions élevée des repas conduit à un cumul des excréctions ammoniacales postprandiales et ne permet pas d'individualiser l'incidence de chaque repas. Ainsi l'amplitude des variations croît régulièrement avec l'augmentation de la ration, ce qui implique aussi un enrichissement du milieu ambiant en azote ammoniacal (Ramnarine *et al.*, 1987). En revanche, les fluctuations en azote nitreux ne sont pas directement influencées par les réajustements de la ration. Enfin, cette étude montre que, dans un BA fonctionnant normalement, ces deux

substances présentent une zone de concentrations maximales entre 20h00 et 23h00. Cette observation coïncide avec celles effectuées en pisciculture traditionnelle présentant une période de nourrissage similaire (Fivelstad *et al.*, 1990 ; Bergheim *et al.*, 1991b). Alors que les variations nyctémérales ammoniacales présentent un profil logique jusqu'au 32ème jour, celui des nitrites est considérablement modifié à partir du 25ème jour. Dès lors, la phase diurne d'enrichissement du milieu persiste plus longtemps, ce qui retarde l'apparition de la zone de concentrations maximales d'une part et ne permet pas une élimination complète de la teneur en nitrite pendant la phase nocturne d'autre part. Donc, à cette date, la capacité d'épuration en azote nitreux du biofiltre est soit altérée, soit insuffisante.

Malgré les effets bénéfiques d'un enrichissement du milieu en calcium, en potassium, en sodium et en chlorures (Sharma et Ahlert, 1977 ; Kaiser et Wheaton, 1983), une accumulation de matières organiques ou le développement d'une hypoxie dans le compartiment de filtration peuvent induire une altération du pouvoir nitrifiant du biofiltre. La plus grande sensibilité des germes nitrifiants vis-à-vis de ces paramètres (Alleman, 1984 ; Jayamohan *et al.*, 1988 ; Hanaki *et al.*, 1990) conforte cette hypothèse. Cependant, lorsque les problèmes débutent, les teneurs en oxygène dissous sont relativement élevées et les filtres biologiques ne présentent qu'une mince couche de matières organiques à leur surface. Un éventuel rôle inhibiteur dû à un excès de matières organiques semble très improbable car les bassins, présentant un début de colmatage (1703,1704), demeurent les plus efficaces. De plus, le maintien d'un pH proche de 7 favorise l'activité nitrifiante (Rosenthal *et al.*, 1981 ; Kaiser et Wheaton, 1983). Enfin une élévation continue des taux de nitrates pendant toute la durée de l'expérience confirme l'existence d'une activité nitrifiante intense. Une altération de l'activité nitrifiante en place ne semble pas être la cause de l'accumulation précoce de  $\text{NO}_2^-$ .

En fait, les variations physico-chimiques observées argumentent favorablement les conclusions établies par Rosenthal *et al.* (1981) dans le cadre d'une étude similaire. Pour ces auteurs, l'élévation de la teneur en nitrites découle d'une activité supérieure de la nitrification par rapport à la nitratisation. Cette déduction s'oppose aux observations effectuées en milieu naturel par Alleman (1984) et Russo (1985). Mais van Rijn et Rivera (1990) confirment que la nitrification est l'étape limitante de la nitrification appliquée à l'épuration des effluents piscicoles. Toutefois ils précisent que ce phénomène n'intervient qu'à des concentrations en ammonium supérieures à 1,3 mg  $\text{NH}_4^+/\text{l}$  où le taux de nitrification, fonction de la concentration en substrat, devient trop élevé. A ce titre, il faut noter que, dans la présente expérience, cette limite est franchie entre les 21ème et 25ème jours.

Hormis la possible inhibition de la microflore nitrifiante par une concentration excessive en azote ammoniacal, l'hypothèse d'une saturation précoce des pouvoirs épurateurs des biofiltres est plus crédible. Celle-ci semble intervenir aux alentours du 25ème jour (ration alimentaire de 250 g) pour les germes nitrifiants et vers le 32ème jour (ration alimentaire de 450 g) pour les bactéries nitrifiantes. Toutefois une réelle saturation du pouvoir nitrifiant des

biofiltres au 32<sup>ème</sup> jour ne peut être établie avec certitude car l'élévation des teneurs en  $\text{NO}_2^-$  a pu gêner l'activité des bactéries impliquées (Anthonisen *et al.*, 1976).

Les performances zootechniques de cette première version du bassin d'alevinage sont essentiellement limitées par l'accumulation de substances azotées toxiques, notamment de nitrites. Cette élévation brutale de la teneur en  $\text{NO}_2^-$ , qui implique notamment de fortes mortalités, pourrait être liée à une augmentation progressive du taux d'azote ammoniacal dans le milieu ambiant. Une élévation du taux d'ammoniac constitue le principal facteur limitant des élevages en circuit fermé (Bovendeur *et al.*, 1987). Aussi un abattement de la pollution ammoniacale engendrée (diminution de la ration alimentaire, emploi d'aliment à haute valeur énergétique) demeure une solution envisageable et préalable, avant d'opérer des modifications techniques ou de changer le mode de fonctionnement. A ce niveau, la première amélioration susceptible d'accroître la capacité de production du BA, sans induire de changements importants, apparaît être l'intégration d'un renouvellement partiel de l'eau. Logiquement, cela réduit l'accumulation d'ammoniac et de nitrites dans le milieu ambiant (Poxton *et al.*, 1981). De toute façon, les équipements élaborés à partir des techniques aquariologiques (aquarium, vivier) sont conçus pour fonctionner avec un léger renouvellement de l'eau (Terver, 1989). De même, l'instauration d'un jour de jeûne demeure un moyen de soulager le biofiltre (Poxton et Allouse, 1987).

Puis, dans un deuxième temps, une reconsidération du dimensionnement du biofiltre semble nécessaire pour augmenter la capacité de biofiltration (utilisation de filtres à plus haute surface spécifique, accroissement du nombre de filtres, optimisation du débit d'eau en circulation). Comparé aux autres procédés, le volume du filtre du BA, qui représente seulement 20% du volume total, paraît sous-évalué. En général, il représente environ l'équivalent du volume empoissonné (Otte et Rosenthal, 1979), ce qui, d'ailleurs, restreint fortement le développement des élevage en circuit fermé (Scott et Gillespie, 1972).

D'une manière générale, les performances zootechniques offertes par le BA sont insuffisantes, même si, avec une production de 15 kg/BA en 5 semaines, sa capacité de production annuelle de 150 kg d'alevins de 1 g n'est pas négligeable. Mais au regard des problèmes rencontrés et considérant d'une part une production salmonicole et d'autre part les aménagements susceptibles d'être réalisés, les bassins d'alevinage bénéficient de réelles perspectives en vue de leur intégration dans un système de production piscicole. Aussi, le bon comportement des alevins, notamment au niveau des indices de conversion alimentaire, est-il très encourageant, de même que le peu d'entretien exigé par cette structure s'affiche comme un atout supplémentaire.

## II - INFLUENCE DU TAUX DE RATIONNEMENT

### 2.1 : Introduction

Les fluctuations des concentrations en azote ammoniacal, rencontrées dans les élevages aquacoles fonctionnant en circuit fermé, sont essentiellement attribuées à la quantité d'aliment distribuée (Poxton et Allouse, 1987). Ces variations renforcent la toxicité de cette substance (Thurston *et al.*, 1981c ; Soderberg, 1985). De plus, une élévation du taux d'ammoniac peut conduire à une rapide accumulation d'azote nitreux, autre composé toxique (van Rijn et Rivera, 1990).

La maîtrise de l'alimentation du cheptel, notamment de la teneur en protéines et du taux de rationnement, est indispensable afin de limiter la pollution ammoniacale. Du fait de l'utilisation des protéines à des fins énergétiques (Gerking, 1955a ; Kaushik, 1980 ; Jobling, 1981), la quantité d'azote rejetée est directement fonction de la quantité d'azote protéique ingérée (Kaushik *et al.*, 1984). Selon les auteurs, cette étroite corrélation s'explique par un modèle linéaire (Gerking, 1955b, 1971 ; Iwata, 1970 ; Tatrai, 1981a), asymptotique (Jobling, 1981) ou exponentiel (Savitz, 1971a ; Infante, 1974). Cependant le modèle linéaire semble le plus satisfaisant (Kaushik, 1980). Dans les élevages dulcicoles, l'azote alimentaire agit principalement sur l'excrétion ammoniacale puisque 80 à 98% de l'excrétion azotée en résultent (Chakraborty *et al.*, 1992). Une élévation de la quantité d'azote ingérée provoque également un retard dans l'émergence des pics d'excrétion postprandiaux, un accroissement de leur amplitude et un allongement de la durée d'excrétion (Kaushik, 1980 ; Jobling, 1981).

Evidemment, la quantité d'aliment distribuée affecte fortement les pertes azotées engendrées par le nourrissage (Elliot, 1976 ; Tatrai, 1981b ; Durbin et Durbin, 1981). Une augmentation de la ration accroît l'excrétion azotée (Savitz *et al.*, 1977 ; Kaushik, 1980 ; Cui et Wotton, 1988). Ainsi, à partir de carpes communes (65 g) nourries avec un aliment comprenant 35% de protéines, Chakraborty *et al.* (1992) enregistrent des taux d'excrétion maximaux d'azote ammoniacal total de 45, 60 et 85 mg/kg/h en utilisant des taux de rationnement respectifs de 1, 2 et 3%. A cette occasion, ces auteurs observent une diminution du taux d'azote excrété ( $N$  ingéré) avec l'augmentation du rationnement. De manière complémentaire, en étudiant l'incidence de divers taux de rationnement allant de 0,5 à 4,1%, Ramnarine *et al.* (1987) démontrent, chez des morues d'un poids moyen de 200 g, les différentes conséquences d'une élévation de la ration. D'après leurs travaux, le niveau de rationnement apparaît significativement et positivement corrélé avec l'azote ammoniacal total excrété, l'azote ammoniacal d'origine exogène excrété, la durée de l'excrétion, le taux maximal de l'excrétion et la durée séparant la prise alimentaire du pic postprandial d'excrétion ammoniacale. La relation entre le taux de rationnement et l'excrétion ammoniacale est linéaire.

En général, la quantité d'ammoniac rejetée est proportionnelle à la ration alimentaire lorsque les taux de rationnement sont faibles et la satiété éloignée (Kaushik, 1980). Etant donné les taux métaboliques supérieurs rencontrés chez les jeunes poissons (Gerking, 1955b, 1971 ; Birkett, 1969), ces stades physiologiques sont plus sensibles aux variations du niveau de rationnement.

Aussi, cette deuxième étude vise-t-elle à définir l'incidence du taux de rationnement sur l'évolution des teneurs en ammoniac et indirectement en nitrites. Il s'agit notamment de préciser si un abaissement du niveau de la ration est un moyen susceptible d'accroître les potentialités du bassin d'alevinage, étant donné qu'une accumulation de ces substances constitue le principal facteur limitant de la capacité de production du BA. Parallèlement, une attention particulière est portée sur les performances zootechniques d'une part et sur l'évolution des matières oxydables en suspension d'autre part.

## 2.2 : Matériel et méthodes

### 2.2.1 : Matériel biologique

Le 6.1.94, le LBA réceptionne 200 000 œufs de TAC embryonnés au stade œillé, en provenance de la Société POMAREZ - 65400 Lau Balagnas.

Ils sont installés dans l'EPIM selon des modalités identiques à celles mises en œuvre lors de la première expérience (voir paragraphe 1.2.1).

L'éclosion s'étale du 9ème au 11ème jour et survient massivement au bout du 10ème jour. Les clayettes sont retirées et nettoyées le 14ème jour, et les premiers nourrissages, à l'aide de miettes 00 de la gamme Superalevin AQUALIM (Tableau 21), débutent le 27ème jour.

Tableau 21 : Composition chimique des miettes 00 (CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)
Lipides	10,3
Protéines	59,5
Glucides	18,1
Cendres	8,7
Energie (kJ/g)	21,0

MS : matières sèches

L'alimentation des larves suit un protocole identique à celui retenu pour le précédent lot. Toutefois, étant donné le nombre supérieur de larves, chaque repas consiste en une poignée de 25 à 35 g.

L'évolution de la qualité physico-chimique de l'eau de l'EPIM, maintenue en circuit fermé pendant toute cette période, est présentée par le tableau 22.

Dans la matinée du 4.2.94, les alevins sont transférés dans les BA.

### 2.2.2 : Matériel expérimental

Pour cet essai, les 9 BA disponibles sont utilisés (Figure 10). Ils sont préparés de façon identique à la précédente expérimentation (voir paragraphe 1.2.2).

### 2.2.3 : Méthodes

#### a : Transfert des alevins et suivi zootechnique

Avant le transfert, un relevé biométrique (paragraphe 1.2.3) indique un poids moyen de 0,130 mg ( $\sigma = 0,020$ ) pour une longueur totale moyenne de 2,38 cm ( $\sigma = 0,14$ ). Aussitôt, 1600 g d'alevins, soit environ 12 300 individus, sont introduits dans chaque BA, selon une méthodologie semblable à la première expérience. Le jour du transfert et le jour suivant constituent la phase de transition mentionnée dans le précédent essai. A partir de la fin de cette période transitoire, un relevé biométrique est réalisé tous les 7 jours, sur au moins 30 individus de chaque lot. Il permet une estimation la biomasse piscicole des BA. Une pesée réelle finale confirme la justesse des estimations.

**Tableau 22** : Valeurs moyennes (moyenne  $\pm$  écart type) des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau de l'EPIM pour les différentes phases physiologiques.

Période	Durée (Jour)	T (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	pH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
Incubation	10	11,2 $\pm$ 0,2	9,1 $\pm$ 1,0	7,44 $\pm$ 0,41	150	0,005 $\pm$ 0,007	0,025 $\pm$ 0,023
Résorption	16	13,0 $\pm$ 1,7	8,9 $\pm$ 0,7	7,00 $\pm$ 0,23	450	0,059 $\pm$ 0,071	0,126 $\pm$ 0,100
Premiers nourrissages	3	15,6 $\pm$ 0,2	8,1 $\pm$ 0,2	6,51 $\pm$ 0,34	100	0,046 $\pm$ 0,022	0,118 $\pm$ 0,087

### b : Alimentation

Trois taux de rationnement sont testés. Ainsi les lots A (1701, 1702, 1706), B (1707, 1708, 1709) et C (1703, 1704, 1705) reçoivent respectivement une ration établie à 3, 4 et 5% de la biomasse. Le choix des bassins pour la répartition des différents traitements est effectué de manière à assurer le regroupement des BA recevant le même rationnement et, par conséquent, à simplifier le nourrissage.

Les modes de distribution et de réajustement de la ration utilisés dans la première expérience (paragraphe 1.2.3) sont rigoureusement reconduits dans cette nouvelle expérience. Le tableau 23 fournit une analyse de l'aliment donné aux poissons.

Tableau 23 : Composition chimique des miettes 01 et 02 (CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)	
	01	02
Lipides	17,2	18,1
Protéines	56,1	56,1
Glucides	14,5	15,0
Cendres	10,6	8,5
Energie (kJ/g)	22,0	22,5

MS : matières sèches

### c : Entretien

Le protocole de maintenance employé pour la précédente expérimentation est entièrement repris.

### d : Suivi physico-chimique

Chaque lundi, mercredi et vendredi, entre 8h00 et 9h00, le pH, le taux d'oxygène dissous et la température de l'eau des BA sont enregistrés. Pour ces relevés, l'équipement analytique mis en œuvre dans la précédente expérience est réutilisé (paragraphe 1.2.3). Des

ajouts de carbonate disodique régulent le pH (7-7,5) et la teneur en oxygène dissous est maintenue supérieure à 6,5 mg O<sub>2</sub>/l.

Parallèlement, des échantillons d'eau (300 ml/BA) sont prélevés pour le dosage des concentrations en azote ammoniacal et nitreux. Les méthodes spectrophotométriques au bleu d'indophénol et à l'acide sulfanilique (Rodier, 1978) sont respectivement utilisées pour quantifier les concentrations en ammonium et en nitrites. Les dosages sont opérés en double, voire en triple, pour valider les résultats et un Spectrophotomètre UV-visible de type Cary I VARIAN est actionné pour la lecture des échantillons.

Afin de suivre l'influence du taux de rationnement sur la quantité de matières oxydables en suspension dans l'eau, d'autres prélèvements d'eau (1,5 l) sont réalisés chaque semaine. Le dosage de la demande chimique en oxygène DCO (méthode NF T90-101) est effectué au LHRSP.

Enfin, des prélèvements d'eau complémentaires (1,5 l/BA) sont opérés d'une part avant l'introduction des alevins dans les BA et d'autre part au terme de l'expérience. A partir des méthodes exposées dans le tableau 18, les analyses effectuées au LHRSP visent à mesurer les teneurs en différents éléments (calcium, chlorures, bicarbonates, nitrates) susceptibles d'influencer l'expression d'éventuelles toxicités liées à l'ammoniac ou aux nitrites.

#### e : Etude statistique

Pour le traitement statistique des variations de la température, de la teneur en oxygène dissous, du pH, des nitrites, de l'azote ammoniacal, des bilans physico-chimiques et des taux de croissance, des analyses de variance multidimensionnelles sont effectuées en mesures répétées par l'intermédiaire de la procédure GLM de SAS. En complément, les données obtenues sur la croissance et la DCO sont traitées par des analyses de variance multidimensionnelles sur STATITCF, version 5.0. Sur ce même logiciel, une analyse de covariance est utilisée pour l'interprétation des résultats enregistrés sur la consommation de carbonate, les indices de conversion alimentaire, les biomasses totales et la durée d'expérimentation. Ce logiciel est également utilisé pour réaliser des analyses de variance simple sur les débits d'eau en circulation, les taux de survie, les quantités finales d'alevins et les taux de croissance moyens.



## 2.3 : Résultats

### 2.3.1 : Performances zootechniques

#### a : Mortalité

Après déduction des alevins prélevés pour les relevés biométriques et à partir des biomasses introduites le 4.2.94 et récoltées au terme de l'essai, une estimation des taux de survie indique des valeurs supérieures à 90% pour tous les BA (Tableau 24). En fait, pendant la durée des expériences, la mortalité est restée inférieure à 10 ind./BA/j. Aussi, son estimation par une évaluation des peuplements initiaux et finaux apparaît-elle excessive.

Seul le bassin 1703 a présenté une forte mortalité au 30ème jour, ce qui a d'ailleurs conduit à l'arrêt de l'expérience pour les bassins de la série C. Une brusque dégradation de la qualité de l'eau, en relation avec le colmatage des filtres, est à l'origine de ce pic de mortalité.

Tableau 24 : Principaux résultats zootechniques (moyenne  $\pm$  écart type,  $P < 0,01$ ).

Paramètres	A (3%)	B (4%)	C (5%)
Consommation totale en $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (g)	876,7 $\pm$ 139,0 (a)	1346,7 $\pm$ 49,2 (b)	866,7 $\pm$ 179,7 (a)
Consommation moyenne en $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (g/kg poisson produit)	123,0 $\pm$ 21,7 (a)	124,3 $\pm$ 5,8 (a)	87,7 $\pm$ 8,5 (a)
Durée (j)	36 (a)	36 (a)	30 (b)
Poids total final (kg)	8,77 $\pm$ 0,25 (a)	12,40 $\pm$ 0,14 (b)	11,60 $\pm$ 2,28 (b)
Indice de conversion alimentaire	0,68 $\pm$ 0,02 (a)	0,72 $\pm$ 0,01 (a)	0,74 $\pm$ 0,04 (a)
Nombre d'alevins	10 670 $\pm$ 200 (a)	11 311 $\pm$ 777 (a)	10 808 $\pm$ 1 063 (a)
Taux de survie moyen (%)	92,8 $\pm$ 1,8 (a)	96,3 $\pm$ 4,7 (a)	91,7 $\pm$ 7,4 (a)

## b : Croissance

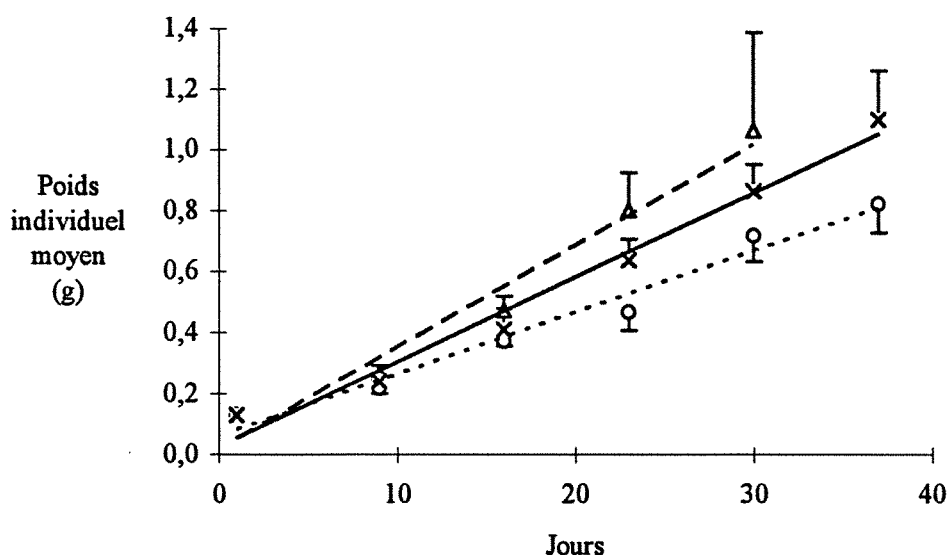
La croissance des alevins est suivie pendant 36 jours pour les alevins rationnés à 3 et 4%, alors que celle des jeunes truites nourries à 5% ne concerne qu'une période de 30 jours. En effet, un colmatage précoce des filtres des BA 1703, 1704 et 1705 nécessite leur arrêt prématuré. A la fin de l'expérience, les bassins recevant un rationnement à 3% présentent des charges piscicoles beaucoup plus faibles que celles enregistrées dans les 6 autres BA (Tableau 24,  $P < 0,01$ ).

Cette différence s'explique principalement par d'importantes variations au niveau des croissances observées (Figure 46). Ainsi lors des deux premiers relevés biométriques, les alevins du lot C sont plus gros que les autres ( $P < 0,01$ ). Puis au relevé suivant, les trois lots (A, B et C) donnent des poissons de différentes tailles ( $P < 0,01$ ). Dès lors, les alevins du lot C restent plus gros que ceux de la série B qui, quant à eux, présentent toujours un poids moyen supérieur à celui enregistré pour le lot A ( $P < 0,05$ ).

Globalement, un rationnement basé à 5% de la biomasse permet une croissance supérieure des alevins de truite par comparaison avec un rationnement fixé à 4% qui reste cependant plus efficace qu'une alimentation établie à 3% ( $P < 0,01$ ).

Sur la période considérée, la croissance des alevins suit un modèle linéaire dont l'équation varie avec le taux de rationnement ( $P < 0,005$ ). Ces relations simples indiquent que la production d'alevins de 1 g nécessite 29, 35 et 46 jours avec des taux de rationnement respectivement de 5, 4 et 3%.

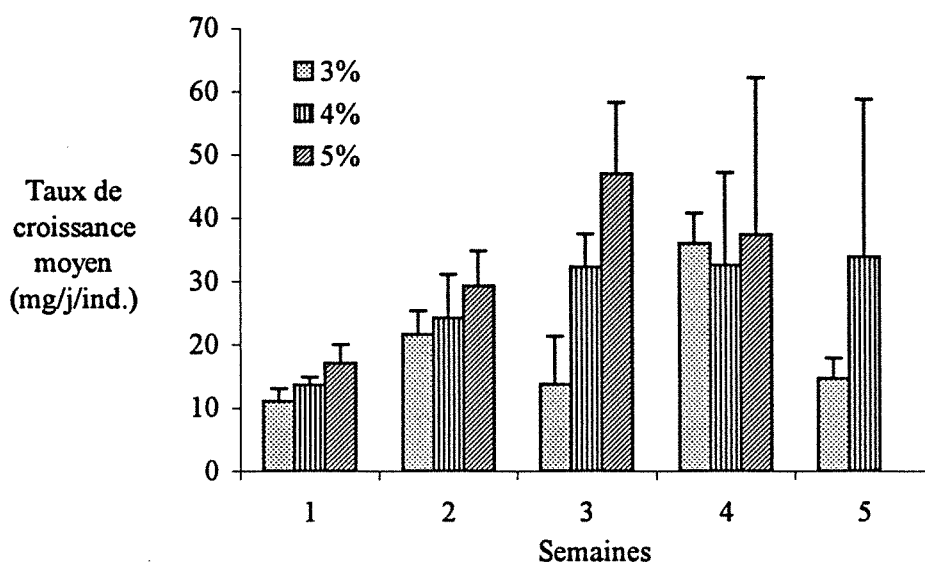
Figure 46 : Influence du taux de rationnement sur la croissance des alevins de truite.



o : 3% (moyenne - 2 écarts types)	$y = 0,0202 x + 0,0646$	$r = 0,99, n = 6$
x : 4% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0277 x + 0,0220$	$r = 0,99, n = 6$
Δ : 5% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0332 x + 0,0274$	$r = 0,98, n = 5$

Le calcul des taux de croissance hebdomadaires moyens confirme l'intérêt d'une élévation du taux initial de rationnement (Figure 47). En effet, ce graphique montre clairement qu'une augmentation de la quantité d'aliment distribuée élève le taux de croissance.

**Figure 47** : Evolution du taux de croissance hebdomadaire moyen (moyenne + 2 écarts types) chez des alevins de truite nourris à 3 niveaux de rationnement différents.



Semaine 1 : 5% > 3% et 4% ( $P < 0,01$ ) ; 4% > 3% ( $P < 0,05$ )

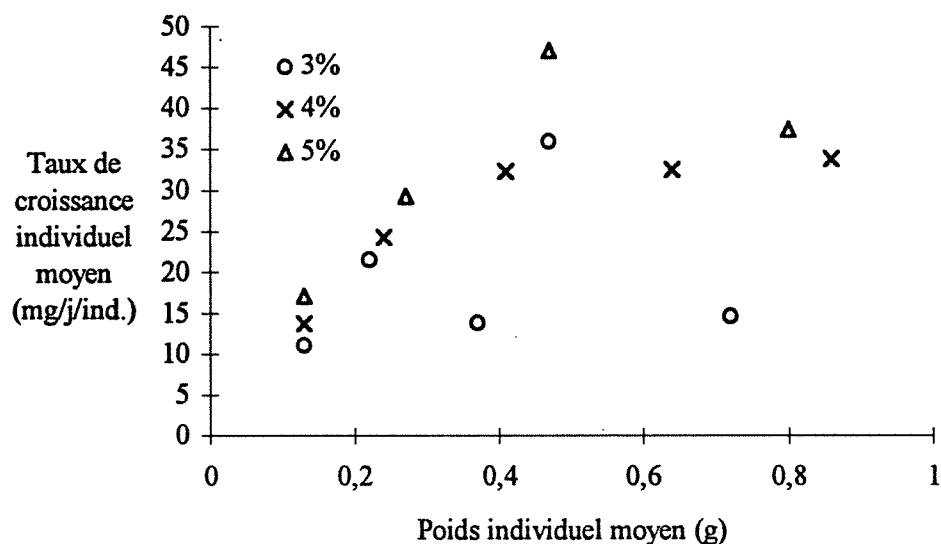
Semaine 2 : 5% > 3% et 4% ( $P < 0,05$ )

Semaine 3 : 5% > 4% > 3% ( $P < 0,01$ )

semaine 5 : 4% > 3% ( $P < 0,05$ )

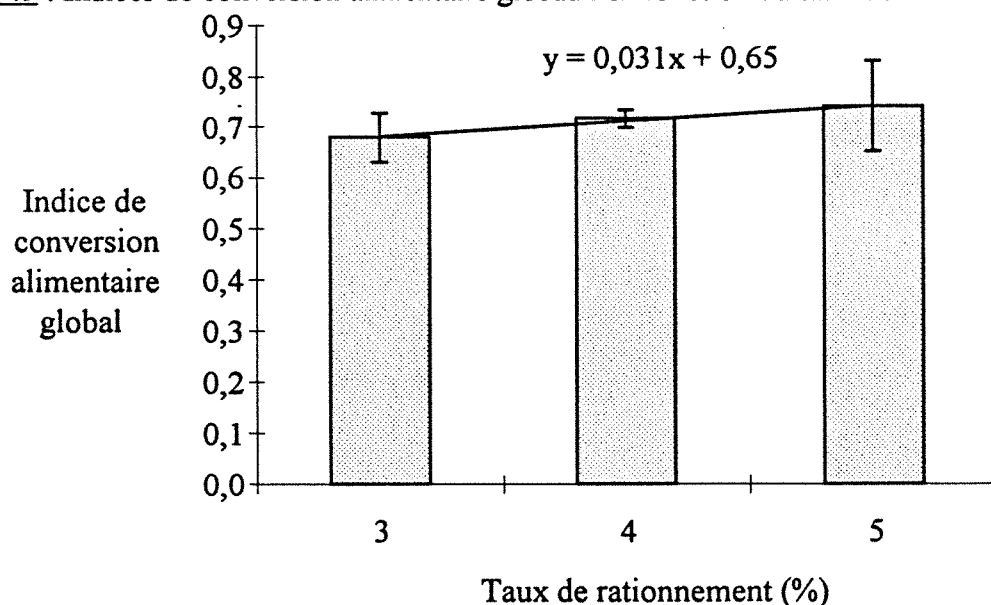
Logiquement, un accroissement du taux de rationnement est surtout bénéfique pour les premiers stades. Ainsi la figure 48 montre que jusqu'au stade alevin de 0,4-0,6 g, un rationnement établi à 5% est beaucoup plus avantageux qu'un rationnement à 3 ou 4%. Au-delà du stade alevin de 0,8 g, les taux de croissance moyens pour les lots B et C sont très proches, ils demeurent toutefois fortement supérieurs à ceux obtenus avec un rationnement de 3%. Globalement, sur l'ensemble de la période expérimentale, les taux de croissance moyens des lots B (27,3 mg/j/ind.) et C (32,7 mg/j/ind.) sont significativement supérieurs à celui du lot A (19,4 mg/j/ind.) ( $P < 0,05$ ). La proximité des taux de croissance moyens des lots A et B ne peut pas être interprétée comme l'absence d'effets liés aux niveaux de rationnement concernés, car la chute de ce taux, observée à partir de la 4ème semaine pour le lot C et en rapport avec une forte dégradation de la qualité de l'eau ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ), fausse toute comparaison.

**Figure 48** : Evolution du taux de croissance hebdomadaire moyen d'alevins de truite nourris à 3 niveaux de rationnement différents en fonction du poids initial des alevins.



c : Indice de conversion alimentaire

**Figure 49** : Indices de conversion alimentaire globaux en fonction du taux de rationnement.



Sur l'ensemble de la durée des expérimentations, les indices de conversion alimentaire calculés varient entre 0,68 et 0,74. Si ces coefficients ne diffèrent pas entre eux de manière significative en fonction du taux de rationnement (Tableau 24), il existe cependant une tendance. Logiquement, la valeur de cet indice augmente légèrement avec une élévation du taux de rationnement (Figure 49,  $r = 0,99$ ,  $n = 3$ ,  $P < 0,1$ ). Toutefois, une analyse comparée approfondie de ces indices de conversion alimentaire globaux reste délicate car ceux-ci concernent diverses durées d'élevage (30 et 36 jours).

### 2.3.2 : Variations de la physico-chimie de l'eau

#### a : Température

En général, la température des bassins est maintenue entre 18 et 20°C (Tableau 25). Toutefois, au sein de cette gamme, la température fluctue différemment selon le BA concerné (Figure 50). Ainsi l'eau des BA du lot A est demeurée plus froide que celle des BA des lots C ( $P < 0,05$ ) et B ( $P < 0,01$ ). Cette différence s'explique par la disposition des BA dans le local expérimental (Figure 10). Les BA du lot A se trouvent à proximité du refoulement de l'air refroidi expulsé par le climatiseur.

**Tableau 25** : Valeurs moyennes (moyenne  $\pm$  écart type), minimales et maximales de la température, du pH et de la teneur en oxygène dissous.

Paramètres	A (3%)	B (4%)	C (5%)
Température (°C)	18,5 $\pm$ 0,5 (a) (17,4 - 19,2)	19,4 $\pm$ 0,3 (b) (18,3 - 19,8)	19,2 $\pm$ 0,3 (b) (18,3 - 19,7)
pH	7,27 $\pm$ 0,19 (a) (6,87 - 7,62)	7,17 $\pm$ 0,30 (a) (6,48 - 7,77)	7,13 $\pm$ 0,23 (a) (6,64 - 7,53)
Oxygène (mg O <sub>2</sub> /l)	9,12 $\pm$ 0,65 (a) (5,95 - 9,87)	9,23 $\pm$ 0,57 (a) (6,98 - 9,87)	8,76 $\pm$ 0,70 (a) (5,53 - 9,47)

b :  $P < 0,01$     b :  $P < 0,05$

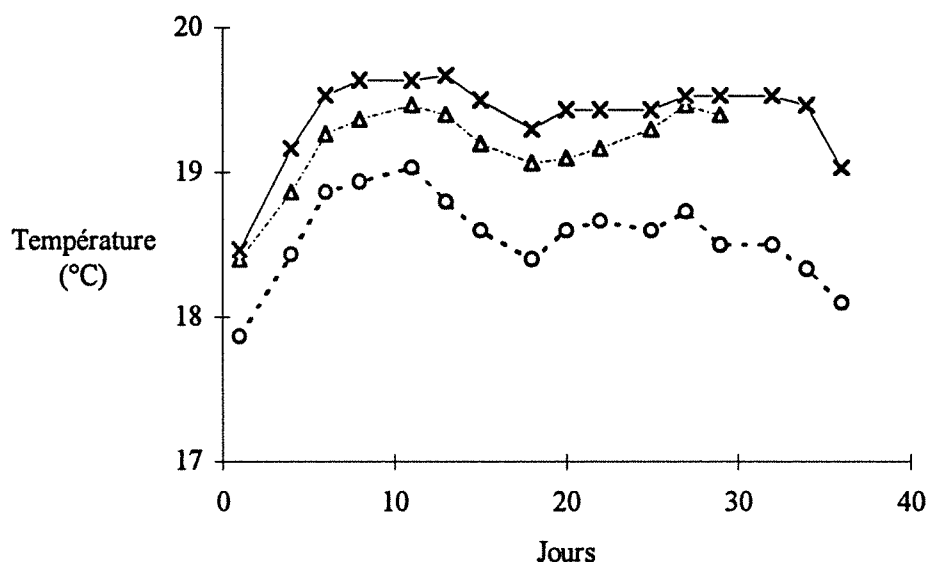
b : Oxygène dissous

En moyenne, les teneurs en O<sub>2</sub> sont restées supérieures à 8 mg/l (Tableau 25). Durant toute la durée de l'élevage, ce paramètre évolue de la même façon dans tous les BA (Figure 51), bien qu'un rationnement fixé à 5% semble favoriser des taux d'O<sub>2</sub> plus faibles (Tableau 25).

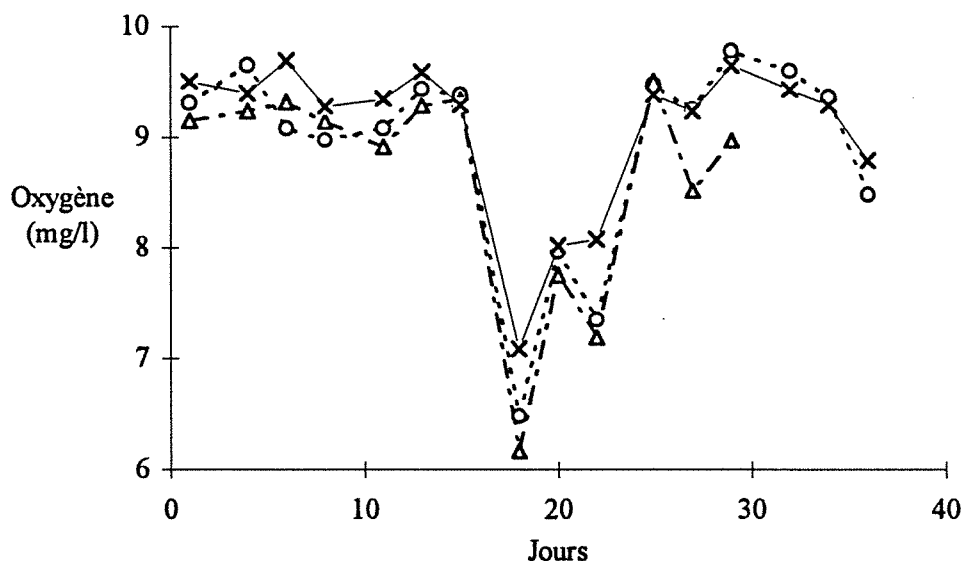
Enfin, la figure 51 présente un brutal abaissement de la concentration en oxygène de l'eau des BA au 18ème jour. Une coupure d'électricité (15 mn) est à l'origine de cette chute. Il faut pratiquement une semaine pour que les diffuseurs récupèrent leur plein pouvoir

d'oxygénation (Concrètement, il s'agit de chasser l'eau qui a envahi les micropores des diffuseurs).

**Figure 50** : Evolution de la température moyenne des lots A (o), B (x) et C ( $\Delta$ ).



**Figure 51** : Evolution du taux moyen d'oxygène dissous des lots A (o), B (x) et C ( $\Delta$ ).



c : pH

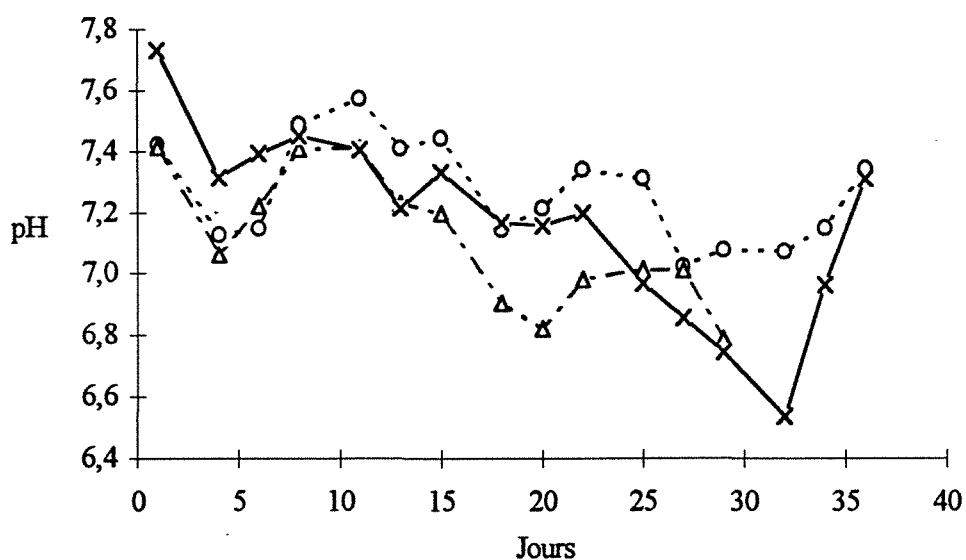
Globalement, le pH est maintenu entre 7,0 et 7,4 (Tableau 25). Toutefois, sur la totalité de la période d'élevage, l'eau des BA s'acidifie progressivement (Figure 52). Si les adjonctions de carbonate disodique n'ont pas entraîné d'effets liés au niveau de rationnement, des différences ponctuelles sont cependant observées.

Ainsi, les premiers jours, le pH de l'eau des BA du lot B présentent un pH plus élevé ( $P < 0,05$ ). De même, entre les 11ème et 15ème jours, l'eau des BA de la série A est plus

basique ( $P < 0,05$ ). Puis, entre les 20ème et 22ème jours, c'est l'eau des BA du lot C qui devient plus acide ( $P < 0,01$ ). Enfin, globalement jusqu'à la fin de l'expérience et excepté pour les jours 27, 34 et 36, l'eau des BA recevant la plus faible ration reste plus basique que celle des autres BA.

Au niveau de la consommation en carbonate disodique, il apparaît clairement (Tableau 24) que, sur l'ensemble de la période d'élevage, les BA du lot B ont eu une consommation plus élevée en régulateur de pH ( $P < 0,01$ ). Cependant, si la quantité de carbonate utilisée est rapportée à la biomasse piscicole produite, on s'aperçoit que les rations basées à 3 et 4% ont exigé 125 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{kg}$  de poissons produit. Cette consommation est supérieure à celle enregistrée avec le lot C ( $P < 0,01$ ). En fait, les besoins en régulateur de pH semblent fortement liés à la durée d'élevage et, par conséquent, à la période d'activité du lit bactérien.

Figure 52 : Evolution des valeurs moyennes du pH des lots A (o), B (x) et C ( $\Delta$ ).



d : Bilans ioniques initiaux et finaux

Ces bilans (Tableau 26) permettent de préciser l'influence du niveau d'alimentation sur les variations des principaux paramètres chimiques (calcium, chlorures, bicarbonates) susceptibles d'intervenir dans l'expression d'une éventuelle pollution (ammoniac, nitrites). Indépendamment du taux de rationnement, cette expérience confirme un enrichissement du milieu en bicarbonates. Toutefois, l'importante variabilité des concentrations finales en bicarbonates ne permet pas la mise en évidence de différences significatives. Parallèlement, la concentration en chlorures s'accroît ( $P < 0,01$ ). En effet, à la fin de l'essai, les eaux des 6 BA des lots B et C présentent des concentrations en chlorures supérieures à celles des 3 BA du lot A ( $P < 0,05$ ). L'enrichissement du milieu en chlorures apparaît lié à la biomasse piscicole. En

contradiction avec les résultats de la première expérience (chapitre I), le milieu ne s'enrichit pas en calcium.

Enfin, l'eau des BA se charge en nitrates ( $P < 0,01$ ), ce qui prouve l'activité des biofiltres utilisés. Aucune influence du taux de rationnement n'est décelée, mais une forte variabilité existe au niveau des résultats. L'enrichissement du milieu en nitrates semble principalement dépendre de la durée de l'expérimentation et du taux de rationnement du cheptel. Ainsi, les lots B et C présentent des charges piscicoles similaires à la fin de l'expérience (Tableau 24), or les BA du lot B qui bénéficient de 6 jours d'élevage supplémentaires, ont en moyenne des taux finaux en nitrates supérieurs (Tableau 26). De même, malgré une durée d'élevage identique pour les lots A et B (Tableau 24), ce dernier a une teneur finale moyenne en nitrates plus élevée (Tableau 26).

**Tableau 26** : Bilans ioniques initiaux et finaux (moyenne  $\pm$  écart type,  $P < 0,01$ ).

Paramètres	Bilans initiaux			Bilans finaux		
	A (3%)	B (4%)	C (5%)	A (3%)	B (4%)	C (5%)
Bicarbonates (mg/l)	46,5 $\pm$ 10,5 (a)	51,3 $\pm$ 1,9 (a)	43,7 $\pm$ 5,0 (a)	116,3 $\pm$ 1,7 (a)	145,0 $\pm$ 34,3 (a)	168,5 $\pm$ 98,5 (a)
Calcium (mg/l)	28,7 $\pm$ 5,3 (a)	34,1 $\pm$ 0,1 (a)	30,1 $\pm$ 2,8 (a)	40,7 $\pm$ 13,1 (a)	35,4 $\pm$ 6,6 (a)	38,0 $\pm$ 2,0 (a)
Chlorures (mg/l)	13,0 $\pm$ 1,2 (a)	14,5 $\pm$ 0,2 (a)	13,8 $\pm$ 0,9 (a)	45,5 $\pm$ 3,0 (b)	65,7 $\pm$ 2,7 (c)	68,8 $\pm$ 2,3 (c)
Nitrates (mg/l)	11,5 $\pm$ 0,8 (a)	13,5 $\pm$ 1,9 (a)	12,5 $\pm$ 1,5 (a)	469,3 $\pm$ 15,5 (b)	630,0 $\pm$ 54,0 (b)	441,5 $\pm$ 89,5 (b)

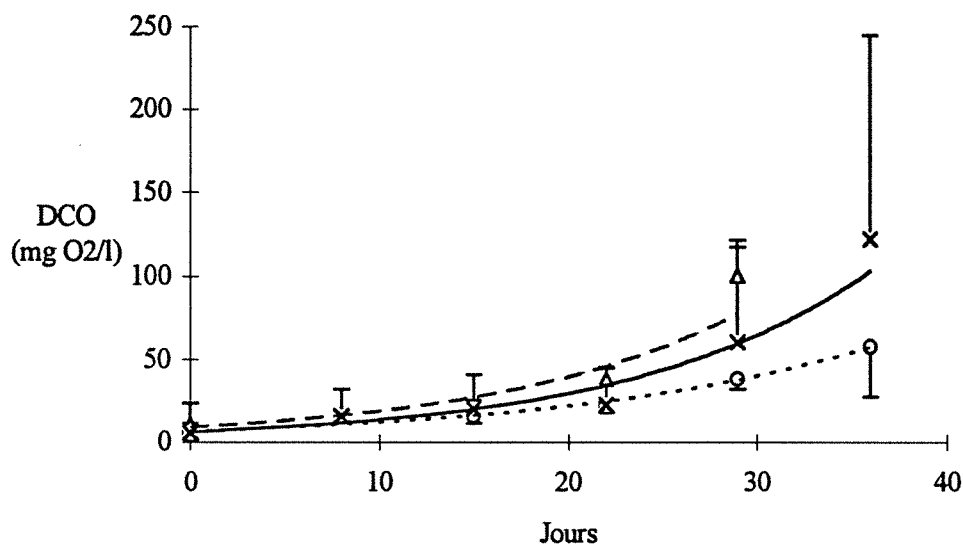
c : valeurs très significativement différentes ( $P < 0,01$ ) des données initiales, mais seulement significativement différentes ( $P < 0,05$ ) des autres valeurs finales.



e : Demande chimique en oxygène

Le relevé hebdomadaire opéré montre une élévation progressive de la DCO (Figure 53).

Figure 53 : Variations de la demande chimique en oxygène.



o : 3% (moyenne - 2 écarts types)	$y = 6,55 e^{0,061x}$	$r = 0,97, n = 6$
× : 4% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 6,23 e^{0,078x}$	$r = 0,97, n = 6$
Δ : 5% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 8,95 e^{0,074x}$	$r = 0,97, n = 5$

La quantité de matières organiques (matières en suspension) ou minérales (ammoniac, nitrites, urée) oxydables augmente dans les BA en fonction notamment du développement et de l'activité du cheptel (modèle exponentiel,  $P < 0,01$ ). Un accroissement du taux de rationnement de 3 à 5% accentue l'élévation de DCO. A partir du 22ème jour, la demande chimique en oxygène est plus élevée dans les BA du lot C par comparaison avec les teneurs dosées dans les autres bassins ( $P < 0,01$ ) et au 36ème jour, les BA du lot B présentent des DCO supérieures à celles des BA du lot A ( $P < 0,01$ ). Ainsi, le seuil limite de 30 mg O<sub>2</sub>/l, conseillé pour les élevages salmonicoles (Billard, 1986), est franchi pendant la 3ème semaine pour le lot C, alors qu'il n'est atteint qu'au cours de la 4ème semaine pour les deux autres lots.

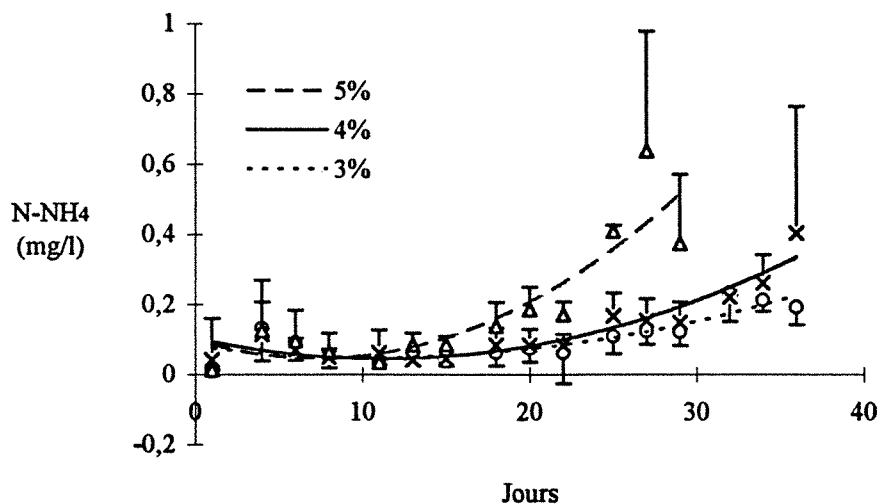
### 2.3.3 : Variations des teneurs en azote ammoniacal et nitreux

#### a : Azote ammoniacal

Comme dans l'expérience présentée en chapitre I, une augmentation progressive de la teneur en azote ammoniacal est observée avec le développement des alevins ( $P < 0,001$ ). L'excrétion ammoniacale des poissons étant fortement influencée par la quantité d'aliment ingérée, l'enrichissement du milieu ambiant en  $N-NH_4^+$  apparaît directement lié au taux de rationnement (Figure 54). Dans le cas d'une augmentation importante de la quantité d'aliment non ingérée (difficile à estimer), cette élévation de la concentration en  $N-NH_4^+$  pourrait partiellement provenir d'une hausse du taux d'ammonification.

Pendant les 11 premiers jours, les teneurs en  $N-NH_4^+$  enregistrées dans les BA ne sont pas différentes. A partir du 15ème jour (ajustement de la ration alimentaire à 283 g), un rationnement à 5% (C) induit des concentrations supérieures en azote ammoniacal ( $P < 0,01$ ) ce qui traduit l'apparition d'une inadéquation entre la pollution ammoniacale engendrée et la capacité d'épuration des biofiltres concernés. Parallèlement, jusqu'à la fin de l'expérimentation, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les teneurs respectivement mesurées dans les BA des lots A at B.

Figure 54 : Influence du taux de rationnement sur l'évolution de la teneur en azote ammoniacal.



o : 3% (moyenne - 2 écarts types)  $y = 0,0003x^2 - 0,006x + 0,080$   $r = 0,87, n = 16$

x : 4% (moyenne + 2 écarts types)  $y = 0,0005x^2 - 0,011x + 0,105$   $r = 0,95, n = 16$

$\Delta$  : 5% (moyenne + 2 écarts types)  $y = 0,001x^2 - 0,014x + 0,099$   $r = 0,88, n = 13$

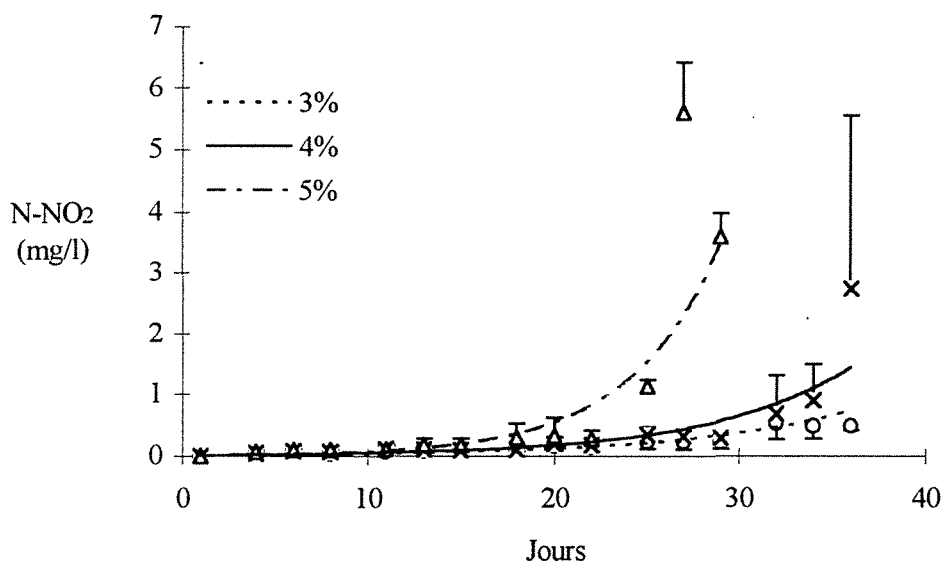
Remarquons que, pendant les 30 ou 36 jours de suivi, les teneurs en azote ammoniacal relevées à 9h00 sont restées inférieures à 1 mg  $NH_4^+$ /l ce qui est largement en-deçà des seuils conseillés pour les élevages salmonicoles. Seuls les taux d'azote ammoniacal dosés du 27ème

au 30ème jour dans le BA 1703 (rationnement à 5%) dépassent ces limites. En effet, durant cette courte période, la concentration en ammonium atteint 8,4 mg  $\text{NH}_4^+/\text{l}$ , soit environ 0,06 mg  $\text{NH}_3/\text{l}$  (pH = 7,3, t = 19,4°C).

#### b : Azote nitreux

Le taux de rationnement agit considérablement sur la date de l'émergence des pics de nitrites, principal facteur limitant du procédé actuel (Figure 54). Jusqu'au 22ème jour, peu de différences sont notées entre les teneurs en nitrites rencontrées dans les divers BA. Quelques écarts significatifs ( $P < 0,05$ ) sont uniquement relevés de manière ponctuelle entre les BA des séries A et C (jours 8, 13, 15 et 22). Mais, à compter du 25ème jour, les teneurs en  $\text{N-NO}_2^-$  s'élèvent fortement ( $P < 0,01$ ) dans les BA rationnés à 5% où elles atteignent entre 3 et 6 mg  $\text{N-NO}_2^-/\text{l}$  (10-20 mg  $\text{NO}_2^-/\text{l}$ ). A cette période, les rations alimentaires distribuées dans ces BA oscillent entre 450 et 500 g. Par opposition, durant les 36 jours de suivi, aucune différence significative n'est décelée entre les taux de nitrites des lots A et B. Toutefois au 36ème jour, nous nous situons en limite de signification (95%).

Figure 55 : Influence du taux de rationnement sur l'évolution de la teneur en azote nitreux.



o : 3% (moyenne - 2 écarts types)	$y = 0,0129 e^{0,1126x}$	$r = 0,84, n = 16$
x : 4% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0125 e^{0,1319x}$	$r = 0,86, n = 16$
$\Delta$ : 5% (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0091 e^{0,2053x}$	$r = 0,88, n = 16$

Une élévation du taux de rationnement favorise une apparition précoce des pics d'azote nitreux toxiques. Ainsi, une augmentation du rationnement de 4 à 5% de la biomasse raccourcit d'une semaine la durée entre l'empoissonnement des BA et l'émergence de ces pics de nitrites. En fait, leur existence semble liée à la distribution de rations supérieures à 400 g, ce qui

intervient les 23<sup>ème</sup> (483 g) et 30<sup>ème</sup> (415 g) jours pour respectivement les lots C (5%) et B (4%). Cette constatation demeure en accord avec les résultats enregistrés dans la précédente expérience.

#### 2.4 : Discussion

Si la précédente étude a établi que l'accumulation de substances azotées inorganiques constitue le principal facteur limitant la capacité de production des BA, celle-ci démontre que le niveau de rationnement influence considérablement ces fluctuations. Son augmentation accélère l'enrichissement du milieu en azote ammoniacal et favorise une émergence précoce des fortes teneurs en nitrites, impliquant la fin du cycle de production. Une élévation de la teneur ambiante en  $\text{NH}_4^+$ , en étroite relation avec le taux de rationnement, découle de taux d'excrétion ammoniacale supérieurs. Cette observation est en accord avec les résultats obtenus par Savitz *et al.* (1977), Tatrai (1981b) et Ramnarine *et al.* (1987). Cette étude confirme d'une part qu'une élévation du taux de rationnement accentue l'accumulation des substances azotées inorganiques dans l'eau des élevages en circuit fermé et d'autre part que l'azote nitreux demeure le principal facteur limitant des potentialités actuelles du BA.

En plus, une élévation du pourcentage de rationnement accroît la charge de matières oxydables en suspension (DCO) et par conséquent, les besoins en oxygène dissous pour le recyclage des effluents. Toutefois durant la présente expérimentation, cela ne s'accompagne pas d'un abaissement du taux d'oxygène dissous, la diffusion d'air reste en effet largement suffisante. La chaîne de recyclage s'accommode, sans difficulté majeure, d'une élévation du taux de rationnement à 5%. Ce dernier n'entraîne ni de très forts taux de matières organiques en suspension, ni de colmatage précoce des filtres. Si une élévation du taux de rationnement ne perturbe pas le fonctionnement de la chaîne de recyclage, il est difficile de préciser l'incidence des fortes DCO relevées sur le comportement et les performances zootechniques des alevins. De hauts niveaux de rationnement favorisent le dépassement des 30 mg  $\text{O}_2/\text{l}$  conseillés pour les élevages salmonicoles (Billard, 1986). Ces fortes concentrations peuvent gêner le développement des alevins. Une précision de l'origine de cet enrichissement en matières oxydables en suspension (organique, minérale) apparaît nécessaire pour comprendre ses éventuels inconvénients.

Dans un élevage en circuit fermé, une élévation du niveau de rationnement favorise incontestablement une détérioration plus rapide de la qualité physico-chimique de l'eau. Naturellement, considérant l'importance des pollutions azotées inorganiques dans la restriction des potentialités de production du BA, une diminution des quantités d'aliment distribuées apparaît, dans une première approche du problème, comme une solution susceptible de limiter les effets néfastes des rejets azotés.

Si une réduction de la quantité d'aliment distribuée entraîne effectivement un allègement des charges polluantes ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) relevées dans les BA, un abaissement du niveau de rationnement à 3% ne constitue pas, pour autant, un moyen envisageable pour accroître la capacité de production des BA. Une telle restriction alimentaire affecte de manière trop importante les performances zootechniques des alevins (taux de croissance moyen de 19,4 mg/j/ind., cycle de production de 46 jours). Au contraire, la présente étude démontre qu'une élévation du taux rationnement à 5% se révèle être profitable pour l'amélioration de la productivité annuelle du système, car un tel rationnement assure des taux de croissance nettement supérieurs, en particulier pour la phase alevin de 0,4 à 0,8 g (47 mg/j/ind.). Les taux de croissance observés sont proches de ceux cités par Austreng *et al.* (1987) pour des alevins de TAC de 0,12-0,5 g et de 0,5-1 g élevés à 16°C, température maximale testée par ces auteurs. Respectivement pour ces deux stades physiologiques, ils obtiennent des taux de croissance de 9,0 et 10,5 % par jour. Considérant les mêmes tailles d'alevins, les croissances moyennes enregistrées dans les BA du lot C sont de 12,1 et 7,3 % par jour. La dégradation de la qualité de l'eau pendant la dernière semaine d'élevage a vraisemblablement abaissé cette seconde valeur.

Les taux de croissance élevés obtenus avec une ration fixée à 5% de la biomasse ramènent la durée du cycle de production à 4 semaines, au lieu de 5 semaines avec un rationnement établi à 4%. Ce raccourcissement de 20% de la durée du cycle permet d'envisager la production de 13 lots d'alevins de 1g en une année. Cette perspective est d'autant plus intéressante qu'une élévation du taux de rationnement à 5% ne provoque pas une augmentation significative de l'indice de conversion alimentaire. En effet, après 30 jours d'élevage, les alevins du lot C présentent un coefficient de transformation alimentaire de 0,74, alors que cet indice est de 0,68 et de 0,72 pour respectivement les lots A et B (36 jours). Aussi, considérant un empoissonnement initial avec 15 000 alevins (chapitre I) et un taux de survie compris entre 95 et 100%, un nourrissage du cheptel avec une ration basée à 5% de la biomasse laisse entrevoir une capacité de production annuelle de 200 kg/BA/an.

En accord avec les observations issues de la première expérience, l'évolution des teneurs en nitrites des lots B et C confirme que l'émergence des fortes concentrations en  $\text{NO}_2^-$  est favorisée par la distribution de rations alimentaires comprises entre 400 et 500 g. Or l'adoption d'un niveau de rationnement de 5% implique obligatoirement la distribution d'une ration largement supérieure à 400 g pendant la dernière semaine. De ce fait, il est fort probable que, lors de la 4ème semaine d'élevage, les teneurs en nitrites augmentent considérablement et atteignent des seuils toxiques. Pour remédier en partie à ce problème, une diminution du taux de rationnement à 4%, durant cette période, apparaît souhaitable. La proximité des taux de croissance, enregistrés avec ces deux niveaux de rationnement pour des alevins de 0,8 à 1 g, conforte l'intérêt d'un tel aménagement du protocole de nourrissage. En effet, outre une diminution des risques d'intoxication par les nitrites, cette modification n'affecte pas de manière

significative le taux de croissance des alevins. Ainsi ce dernier est évalué à 34 mg/j/ind. et à 37 mg/j/ind. avec des taux de rationnement respectifs de 4 et 5%.

Cette étude montre également que la consommation en régulateur de pH est directement liée à la durée de l'élevage. Globalement, pour une période de 36 jours, il faut 125 g de carbonate disodique par kg de truitelles produit.

Sur le plan physico-chimique, en plus de son influence sur la DCO et les teneurs en azote ammoniacal et nitreux, le taux de rationnement semble agir sur la concentration en bicarbonates. Mais une forte variabilité n'autorise pas la mise en évidence de différences significatives. Par opposition, l'évolution du taux de chlorures apparaît davantage liée à la biomasse piscicole. Enfin il faut noter que, dans le présent essai et contrairement au précédent, la concentration en calcium n'a pas variée. Cela pourrait provenir soit d'une précipitation du calcium avec les phosphates (Saeki, 1958 ; Hirayama, 1974), soit d'une fixation du calcium par le développement constaté d'une population de physes (Gastéropodes) dans les biofiltres.

Les variations des teneurs en azote ammoniacal et nitreux enregistrées ne corroborent pas les observations de van Rijn et Rivera (1990). Lorsque l'eau des BA s'enrichit fortement en nitrites, les teneurs en azote ammoniacal sont largement inférieures au seuil susceptible d'inhiber la nitratisation (1 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Ainsi quand, au 25ème jour, la concentration en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> s'élève fortement dans les BA du lot C, la teneur en N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> est inférieure à 0,5 mg/l. Donc l'accumulation de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ne semble pas liée à une inhibition des bactéries nitrifiantes par NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, hypothèse émise dans la précédente étude. L'émergence de ces pics de concentration en nitrites traduit vraisemblablement la saturation de la capacité de nitratisation des biofiltres.

En raccourcissant la durée d'un cycle de production, un ajustement correct du niveau de rationnement permet d'accroître la capacité de production des BA, mais il n'autorise pas une augmentation de la charge piscicole maximale acceptable par ces bassins. Au contraire, une élévation du taux de rationnement, nécessaire à l'obtention de taux de croissance satisfaisants, favorise une augmentation précoce des teneurs en nitrites. Pour bénéficier pleinement des avantages d'un haut niveau de rationnement, il semble indispensable d'utiliser un aliment moins ammoniogénique de façon à limiter indirectement l'élévation des teneurs en nitrites.

### III - INFLUENCE DE LA COMPOSITION DE L'ALIMENT

#### 3.1 Introduction

Le niveau de rationnement influence considérablement l'excrétion ammoniacale des poissons. Mais sa réduction ne peut être envisagée pour limiter les pollutions engendrées car elle entraîne une forte diminution des potentialités zootechniques et, par conséquent, de la capacité de production des BA. Au contraire, du fait des taux métaboliques élevés rencontrés chez les juvéniles, de hauts niveaux de rationnement sont nécessaires pour obtenir une croissance des alevins en accord avec les objectifs de production.

Pour obtenir un abattement des pollutions azotées sans entraîner une réduction des performances zootechniques, une optimisation de la composition alimentaire semble une voie d'investigation plus prometteuse. Etant donné d'une part l'importance de l'azote protéique alimentaire dans l'excrétion ammoniacale (Savitz, 1971a ; Infante, 1974 ; Beamish et Thomas, 1984 ; Chakraborty *et al.*, 1992) et d'autre part la possibilité de remplacer partiellement les protéines par des glucides ou des lipides pour les besoins énergétiques (Atherton et Aitken, 1970 ; Watanabe *et al.*, 1987a, 1987b), la composition de l'aliment influence fortement l'excrétion azotée. Ainsi, chez des carpes *Cyprinus carpio*, Watanabe *et al.* (1987a) enregistrent une réduction de l'excrétion azotée totale de 30 à 48% lorsque la teneur en protéines alimentaires passe de 40 à 30%. Pour des régimes à 25% de protéines, un abaissement plus important de l'excrétion azotée est obtenu, mais ils nécessitent une complémentation en lysine et en méthionine (Viola *et al.*, 1992). Chez les Salmonidés, ces aliments à haute valeur énergétique induisent des effets similaires. Dans un élevage de saumons atlantiques *Salmo salar*, Johnsen *et al.* (1991) notent, en utilisant un aliment comprenant 30% de lipides, une diminution des rejets en azote ammoniacal, en phosphore et en matières organiques respectivement de 35, 22 et 23%. Quant à Schuster *et al.* (1992), ils obtiennent, avec des TAC, une chute de 50% de l'excrétion azotée en remplaçant un aliment à 47,9% de protéines par un autre à 38%. Ces auteurs enregistrent conjointement une réduction de 20% des matières oxydables en suspension (DCO). Considérant les fluctuations postprandiales de l'excrétion ammoniacale, les aliments à haute valeur énergétique atténuent l'ampleur des pics d'excrétion (Jayaram et Beamish, 1992).

En plus d'une limitation des rejets azotés, ces aliments sont également bénéfiques pour les performances zootechniques. Ils permettent une meilleure conversion alimentaire, des taux de croissance supérieurs et une efficacité protéique améliorée (Bergot, 1979 ; Pieper et Pfeffer, 1980 ; Kaushik et de Olivia-Telès, 1985 ; Beamish et Medland, 1986 ; Johnsen et Wandsvik, 1991). Dans le cas d'un enrichissement glucidique, des effets inverses sont mentionnés par Rychly (1980) et Hilton et Atkinson (1982). Pour des alevins de TAC de 2 à 6 g, les meilleures performances sont obtenues à l'aide d'aliments contenant 34 à 35% de protéines et 15 à 23%

de lipides (Takeuchi *et al.*, 1978 ; Watanabe *et al.*, 1979 ; le Grow et Beamish, 1985). En fait, dans l'élaboration de ces aliments, l'un des points primordiaux demeure le respect d'un ratio protéines digestibles/énergie digestible optimal (Lee et Putnam, 1973 ; Cho et Kaushik, 1985 ; Gallagher et Matthews, 1987). Pour les Salmonidés, ce rapport équivaut à 22-24 g/MJ.

La conduite de nos essais à une température de 18-20°C incite également à l'utilisation de ce type d'aliment, car leur efficacité est accrue dans les eaux échauffées (Atherton et Aitken, 1970 ; Cho et Watanabe, 1986).

De même, ces aliments extrudés qui ont une grande stabilité dans l'eau (Hilton *et al.*, 1981), engendrent moins de pertes directes liées à une fragmentation des particules alimentaires. Ceci apparaît particulièrement important pour les élevages en circuit fermé.

L'objectif de cette étude est de préciser l'intérêt d'un aliment extrudé appauvri en protéines et enrichi en lipides par comparaison avec un aliment traditionnel pressé. Dans cette optique, une analyse des fluctuations des substances azotées inorganiques d'une part et un suivi des performances zootechniques d'autre part sont réalisés.

## 3.2 : Matériel et méthodes

### 3.2.1 : Matériel biologique

Le 4.2.94, le LBA réceptionne 200 000 œufs de TAC embryonnés au stade œillé, en provenance de la Société POMAREZ - 65400 Lau Balagnas.

Ils sont installés dans l'EPIM selon des modalités identiques à celles mises en œuvre lors de la première expérience (voir paragraphe 1.2.1).

L'éclosion dure du 9<sup>ème</sup> au 11<sup>ème</sup> jour et survient massivement au 10<sup>ème</sup> jour. Les clayettes sont retirées et nettoyées le 13<sup>ème</sup> jour, et les premiers nourrissages, à l'aide de miettes 00 de la gamme Superalevin AQUALIM (Tableau 27), débutent le 26<sup>ème</sup> jour. L'alimentation des larves suit un protocole identique à celui retenu pour le précédent lot (voir paragraphe 2.2.1).

L'évolution de la qualité physico-chimique de l'eau de l'EPIM, maintenue en circuit fermé pendant toute cette période, est présentée par le tableau 28.

Dans la matinée du 17.3.94, les alevins sont transférés dans les BA.

### 3.2.2 : Matériel expérimental

Pour cet essai, les 9 BA disponibles sont utilisés (Figure 10). Ils sont préparés de la même manière que lors de la première expérimentation (voir paragraphe 1.2.2).



**Tableau 27** : Composition chimique des miettes 00 (CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)
Lipides	10,9
Protéines	67,7
Glucides	16,8
Cendres	8,8
Energie (kJ/g)	21,2

MS : matières sèches

**Tableau 28** : Valeurs moyennes (moyenne  $\pm$  écart type) des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau de l'EPIM pour les différentes phases physiologiques.

Période	Durée (Jour)	T (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	pH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
Incubation	10	11,2 $\pm$ 0,2	10,2 $\pm$ 0,3	6,89 $\pm$ 0,36	300	0,066 $\pm$ 0,012	0,033 $\pm$ 0,012
Résorption	15	11,8 $\pm$ 0,2	9,9 $\pm$ 0,2	7,11 $\pm$ 0,15	350	0,013 $\pm$ 0,007	0,043 $\pm$ 0,021
Premiers nourrissages	16	11,5 $\pm$ 0,4	8,8 $\pm$ 0,6	6,76 $\pm$ 0,35	540	0,127 $\pm$ 0,084	0,078 $\pm$ 0,010

### 3.2.3 : Méthodes

#### a : Transfert des alevins et suivi zootechnique

Avant le transfert, un relevé biométrique (paragraphe 1.2.3) indique un poids moyen de 0,120 mg ( $\sigma = 0,020$ ) pour une longueur totale moyenne de 2,28 cm ( $\sigma = 0,17$ ). Aussitôt, 1485 g d'alevins, soit environ 12 370 individus, sont introduits dans chaque BA et leur développement est suivi selon une méthodologie semblable à la précédente expérience.

## b : Alimentation

Trois protocoles alimentaires sont testés. Ainsi les lots D (1701, 1702, 1706), E (1707, 1708, 1709) et F (1703, 1704, 1705) reçoivent des rations différentes. Les alevins du lot D sont nourris avec un aliment extrudé de la gamme Aquastart AQUALIM sur la base d'un rationnement établi à 4% de la biomasse piscicole. Ceux du lot F bénéficient du même aliment, mais leur taux de rationnement est élevé à 5%. Le lot E demeure le lot témoin, les peuplements piscicoles des BA concernés sont rationnés à 5% à partir de miettes de la gamme Superalevin AQUALIM, comme le lot C. Le tableau 29 fournit une analyse des différents aliments distribués.

Tableau 29 : Composition chimique des divers aliments utilisés (CEPE - CNRS Strasbourg).

Ingrédient	Teneur (% des MS)			
	01 Aqua.	02 Aqua.	01 Sup.	02 Sup.
Lipides	20,1	21,8	16,4	17,3
Protéines	56,3	54,6	60,5	61,5
Glucides	15,9	15,4	15,3	14,5
Cendres	7,1	6,4	2,2	8,5
Energie (kJ/g)	23,2	23,6	21,9	22,5

MS : matières sèches, Aqua. : Aquastart, Sup. : Superalevin

Une analyse de variance simple à l'aide du logiciel STATITCF confirme un enrichissement en lipides et un appauvrissement en protéines des aliments de la gamme Aquastart ( $P < 0,05$ ). Ce second aliment présente en moyenne 5 à 6% de protéines en moins et 4 à 5% de lipides en plus. Donc l'aliment Aquastart bénéficie d'un rapport protéines/lipides de 2,5-2,8 inférieur à celui de l'aliment Superalevin (3,5-3,7). Ces valeurs se rapprochent des 1,5-2,3 optimaux suggérés par Takeuchi *et al.* (1978).

Les modes de distribution et de réajustement de la ration, utilisés dans la première expérience (paragraphe 1.2.3), sont reconduits.

### c : Entretien

Le protocole de maintenance employé pour la première expérimentation est reconduit.

### d : Suivi physico-chimique

Excepté pour la DCO qui n'est pas prise en compte dans cette expérimentation, le suivi physico-chimique est assuré selon les protocoles mis en œuvre dans la précédente expérience (paragraphe 2.2.3). L'équipement et les méthodes analytiques utilisés restent également les mêmes.

### e : Etude statistique

Pour le traitement statistique des variations de la température, de la teneur en oxygène dissous, du pH, des nitrites, de l'azote ammoniacal, des bilans physico-chimiques et des taux de croissance, des analyses de variance multidimensionnelles sont effectuées en mesures répétées par l'intermédiaire de la procédure GLM de SAS. En complément, les données obtenues sur la croissance sont traitées par des analyses de variance multidimensionnelles sur STATITCF, version 5.0. Enfin, sur ce dernier logiciel, une analyse de covariance est utilisée pour l'interprétation des résultats enregistrés sur la consommation de carbonate, les indices de conversion alimentaire, les biomasses totales et la durée d'expérimentation.

## 3.3 : Résultats

### 3.3.1 : Performances zootechniques

#### a : Mortalité

Durant cette expérience, les taux de mortalité sont anormalement élevés (22,4% en moyenne) par référence aux précédents essais. Sur la totalité de la période expérimentale et pour les différents lots, les taux de survie oscillent entre 69,4% (1702) et 86,8% (1705). La faiblesse relative de ces taux de survie résulte principalement d'une importante mortalité post-transfert (60 à 80 morts/BA/j). En fait, en relation avec les disponibilités du marché en œufs de truite, un trop long séjour des alevins dans l'EPIM (Tableau 28) a conduit à leur sous-alimentation, afin d'éviter une forte dégradation de la qualité de l'eau. Une phase d'initiation à l'alimentation exogène en EPIM de 16 jours constitue une période trop longue. Donc, les BA sont empoisonnés par des lots d'alevins affaiblis.

Par comparaison avec les taux de mortalité calculés au terme de l'expérimentation (pesées), les taux de mortalité estimés, à partir du nombre initial et d'une déduction des mortalités quotidiennes relevées, apparaissent sous-évalués. Cela s'explique principalement par la difficulté à collecter tous les cadavres, lorsque ceux-ci sont nombreux et de petite taille. Parmi l'ensemble des BA utilisés, cette différence entre les mortalités totales estimées et relevées oscille entre 5 et 15%.

Tableau 30 : Principaux résultats zootechniques (moyenne  $\pm$  écart type).

Paramètres	D (4% Aqua.)	E (5% Aqua.)	F (5% Sup.)
Consommation totale en Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g)	656,7 $\pm$ 24,9 (a)	750,0 $\pm$ 86,0 (a)	1166,7 $\pm$ 145,2 (b)
Consommation moyenne en Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g/kg poisson produit)	73,9 $\pm$ 4,0 (a)	74,6 $\pm$ 8,9 (a)	110,0 $\pm$ 13,5 (b)
Durée (j)	34 (a)	32 (b)	34 (a)
Poids total final (kg)	10,40 $\pm$ 0,28 (a)	11,56 $\pm$ 0,33 (b)	11,57 $\pm$ 0,65 (b)
Indice de conversion alimentaire	0,75 $\pm$ 0,02 (a)	0,74 $\pm$ 0,01 (a)	0,86 $\pm$ 0,01 (b)
Nombre d'alevins	9 327 $\pm$ 849 (a)	9 083 $\pm$ 442 (a)	9 954 $\pm$ 641 (a)
Taux de survie moyen (%)	76,8 $\pm$ 6,8 (a)	74,4 $\pm$ 3,6 (a)	81,6 $\pm$ 5,3 (a)

b : P < 0,01    b : P < 0,05

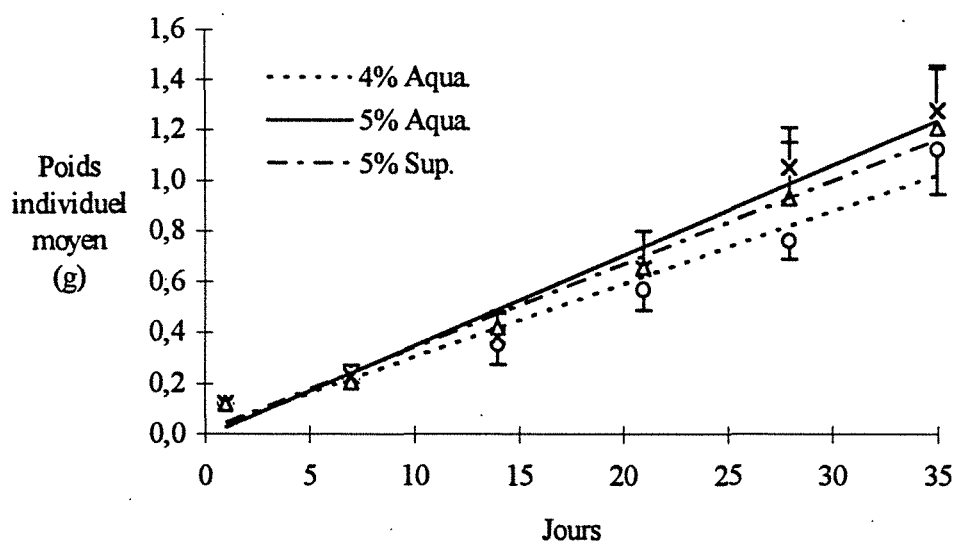
b : Croissance

La croissance des alevins des différents lots est suivie pendant 34 jours, même si l'expérience s'arrête deux jours plus tôt pour les BA du lot E (tableau 30). Aussi durant la dernière semaine d'expérimentation, ce dernier lot bénéficie-t-il d'un changement d'eau et d'un nettoyage partiel des filtres (14 mousses filtrantes) pour les 33 et 34èmes jours.

Après 34 jours d'élevage, les charges piscicoles pesées dans les BA des lots E et F sont très significativement supérieures à celles des BA du lot D (Tableau 30,  $P < 0,01$ ). Cette différence s'explique principalement par une plus faible croissance des alevins du lot D (Figure 56). Les alevins des deux autres lots présentent des croissances similaires, bien qu'une comparaison des courbes de croissance indique un léger avantage pour le lot E. Toutefois une inversion involontaire des rations alimentaires de ces deux derniers lots pendant toute la deuxième semaine biaise l'interprétation des résultats.

Si un rationnement établi à 4% avec l'aliment Aquastart entraîne une croissance inférieure des alevins, un écart de la masse pondérale moyenne des alevins n'est cependant observée qu'au 28ème jour. A cette date, les alevins du lot D sont effectivement plus petits que ceux des lots E ( $P < 0,01$ ) et F ( $P < 0,05$ ). Toutefois, cette différence n'existe plus lors de l'ultime relevé biométrique (Figure 56). En relation avec le colmatage plus ou moins conséquent des filtres qui induit des court-circuits hydrauliques, une forte dégradation de la qualité de l'eau des bassins recevant les rationnements à 5%, qui n'est pas notée dans les BA de lot D, a vraisemblablement atténué la croissance des alevins de ces lots. Ainsi, les alevins nourris à 4% ont comblé leur retard durant la dernière semaine. Toutefois la croissance du lot D durant la dernière semaine semble anormalement élevée. Il s'agit soit d'une croissance compensatrice traduisant un accroissement de la vitesse de croissance, soit à un relevé biométrique biaisé du fait d'un échantillonnage sélectif. Cette seconde possibilité expliquerait notamment l'importante variabilité notée pour ce lot lors de l'ultime relevé.

Figure 56 : Influence du taux de rationnement sur la croissance des alevins de truite.



o : 4% Aqua. (moyenne - 2 écarts types)	$y = 0,0287 x + 0,0154, r = 0,98, n = 6$
x : 5% Aqua. (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0356 x - 0,0094, r = 0,98, n = 6$
Δ : 5% Sup. (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0328 x + 0,011, r = 0,99, n = 6$

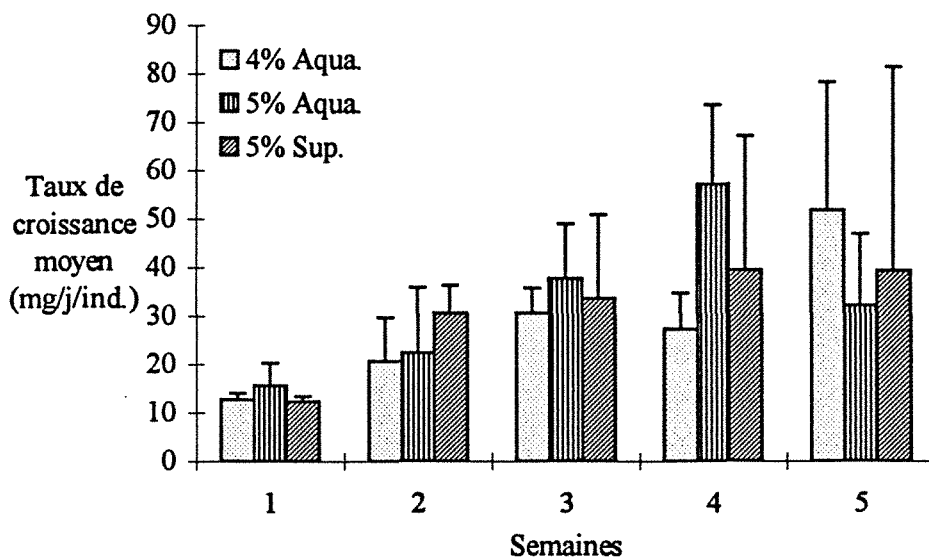
Au niveau de la croissance, cette étude confirme les avantages d'un rationnement fixé à 5%, mais ne met pas en évidence de différences significatives entre les aliments Aquastart et Superalevin.

Comme dans la précédente expérience, la croissance des alevins des différents lots évolue linéairement sur l'ensemble de la période d'élevage ( $P < 0,001$ ). A partir des droites de régression calculées, il apparaît que la production d'alevins de 1 g nécessite 28, 30 et 34 jours pour respectivement les lots E, F et D.

Les taux de croissance moyens calculés pour les 3 régimes alimentaires sont présentés dans la figure 57. Cette dernière montre notamment un taux initial de croissance plus élevé pour le lot B. D'ailleurs, considérant l'inversion des rations signalées précédemment, on remarque que, excepté pour la 5ème semaine, les meilleurs taux de croissance hebdomadaires sont toujours observés chez les alevins de truite nourris à 5% avec l'aliment Aquastart. Pour la 5ème semaine, le lot D présente le taux le plus élevé, ce qui traduit soit une compensation du retard de croissance de ce lot lors de la dernière semaine d'élevage, soit un problème d'échantillonnage à l'issue de la semaine 4.

Globalement, sur les 35 jours d'élevage, les lots D, E et F présentent des taux de croissance moyens respectivement de 29,3, 34 et 32 mg/j/ind., non significativement différents entre eux. Par opposition sur les 28 premiers jours, les alevins du lot D ont un taux de croissance moyen de 22,8 mg/j/ind. qui est inférieur à ceux des lots E (33,3 mg/j/ind.) et F (29,0 mg/j/ind.) ( $P < 0,05$ ).

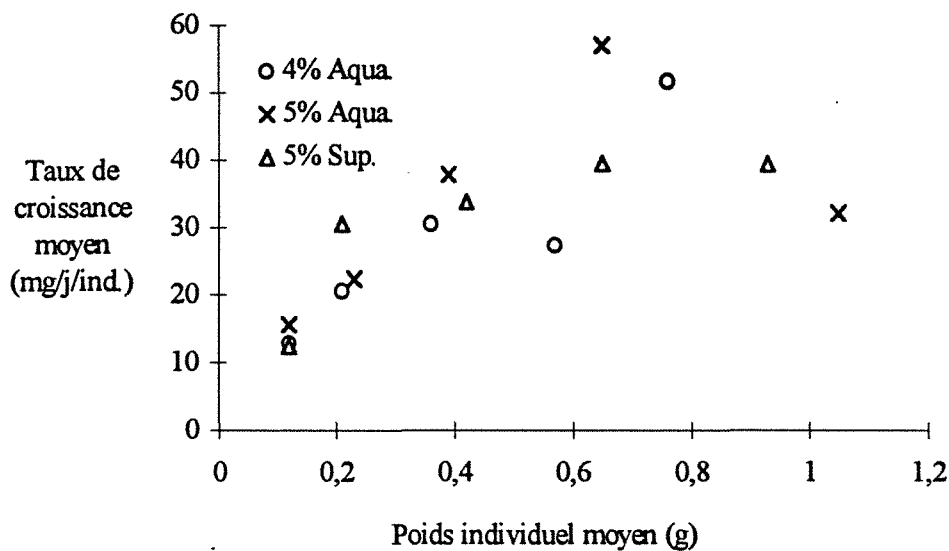
Figure 57 : Evolution du taux de croissance hebdomadaire moyen (moyenne + 2 écarts types) chez des alevins de truite nourris à 3 niveaux de rationnement différents.



Semaine 4 : 5% Sup. et 5% Aqua. > 4% Aqua. ( $P < 0,05$ )

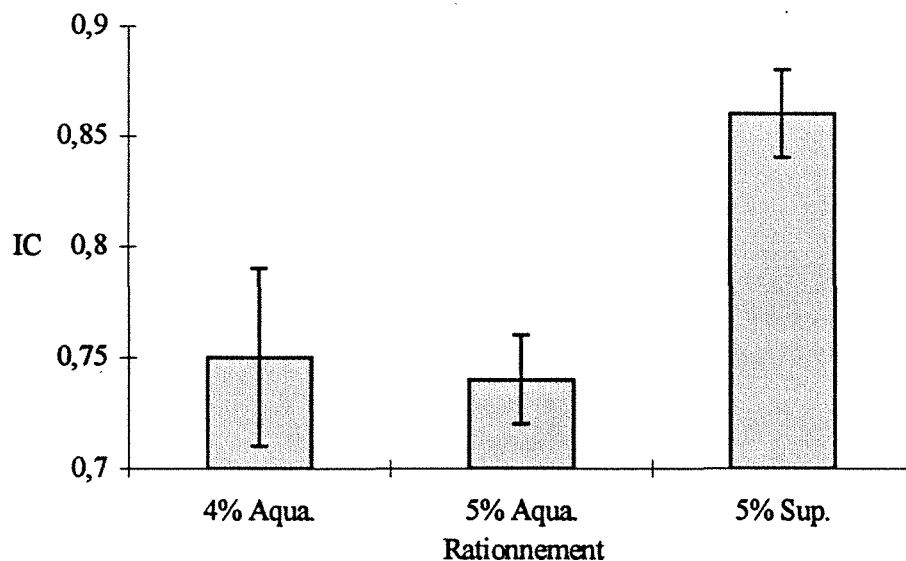
En rapportant les taux de croissance relevés au poids moyen initial des alevins (Figure 58), on note que, jusqu'à un stade de 0,4 g, les trois régimes alimentaires testés aboutissent à des taux de croissance relativement proches. Puis globalement, entre 0,4 et 1 g, un nourrissage avec l'aliment Aquastart rationné à 4 ou 5% semble plus favorable qu'une alimentation avec l'aliment Superalevin distribué à hauteur de 5%.

**Figure 58** : Evolution du taux de croissance hebdomadaire moyen en fonction du poids initial des alevins.



c : Indice de conversion alimentaire

**Figure 59** : Indices de conversion alimentaire globaux en fonction du taux de rationnement.



Parmi tous les lots expérimentaux et sur la durée totale de cet essai, les indices de conversion alimentaire oscillent entre 0,71 (1706) et 0,87 (1703). En fait, la valorisation des aliments dépend fortement du type d'aliment utilisé. Indépendamment du taux de rationnement, l'aliment Aquastart présente des indices de conversion alimentaire nettement inférieurs (Figure 59, Tableau 30,  $P < 0,01$ ).

### 3.3.2 : Variations de la physico-chimie de l'eau

#### a : Température

En moyenne, les températures mesurées restent comprises entre 18 et 20°C (Tableau 31).

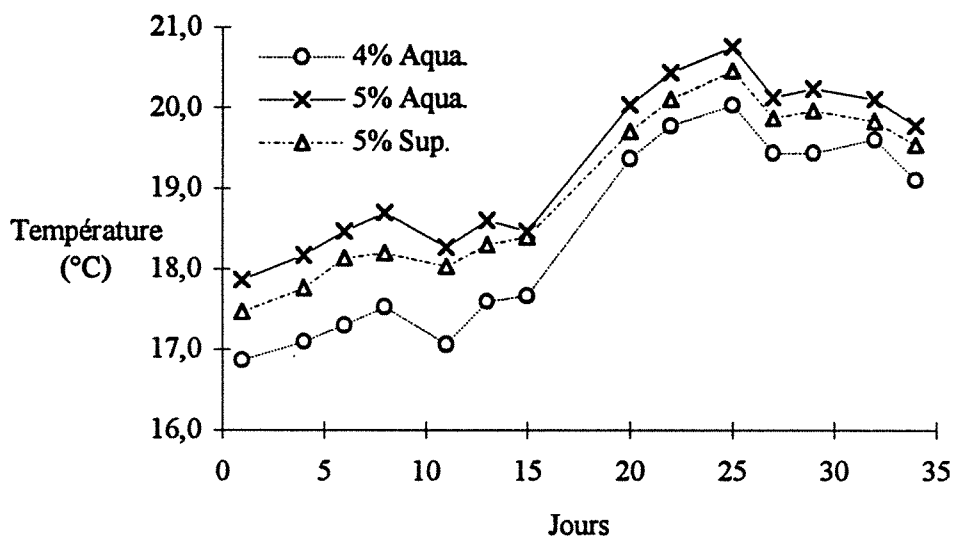
**Tableau 31** : Valeurs moyennes (moyenne  $\pm$  écart type), minimales et maximales de la température, du pH et de la teneur en oxygène dissous.

Paramètres	D (4% Aqua.)	E (5% Aqua.)	F (5% Sup.)
Température (°C)	18,4 $\pm$ 1,2 (a) (16,2 - 20,3)	19,4 $\pm$ 0,9 (a) (17,7 - 21,0)	18,9 $\pm$ 1,0 (a) (17,3 - 20,5)
pH	7,16 $\pm$ 0,20 (a) (6,33 - 7,58)	7,18 $\pm$ 0,22 (a) (6,59 - 7,57)	6,99 $\pm$ 0,27 (a) (6,26 - 7,64)
Oxygène (mg O <sub>2</sub> /l)	8,72 $\pm$ 0,82 (a) (6,80 - 9,85)	8,49 $\pm$ 1,09 (a) (6,30 - 10,20)	8,24 $\pm$ 0,96 (a) (6,40 - 10,20)

En complément, la figure 60 montre clairement l'existence de fluctuations thermiques au cours des 34 jours d'expérimentation. Pendant les 15 premiers jours, la température de l'eau des BA demeure quasiment en permanence entre 17 et 19°C. Durant cette période, l'eau des BA du lot D est plus froide que celle des lots E et F ( $P < 0,01$ ). La disposition des BA du lot D à proximité du climatiseur explique cette différence.



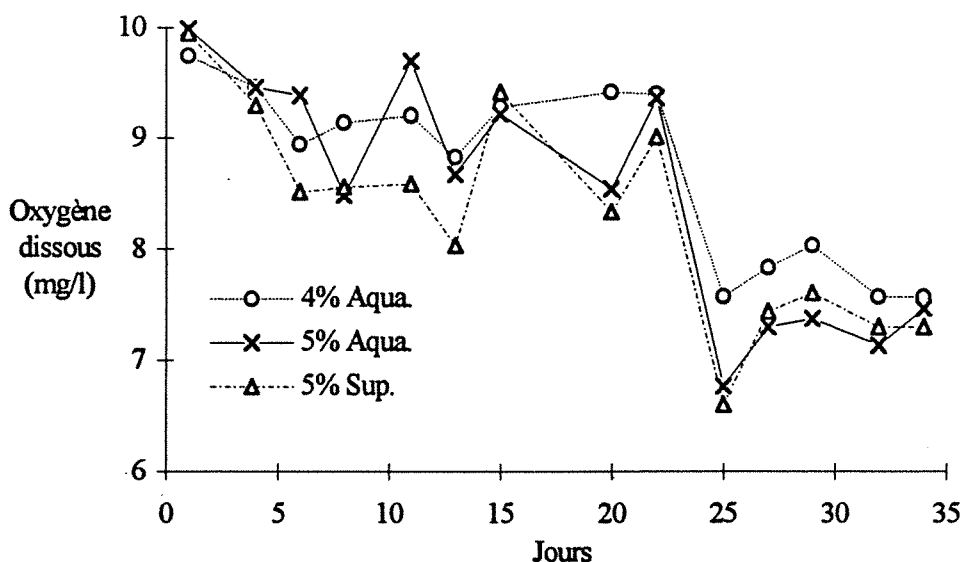
**Figure 60** : Evolution de la température.



Entre les 15ème et 20ème jours, la mise en marche du groupe de réfrigération de l'EPIM et une augmentation de la température extérieure induisent une élévation de la température du local et un réchauffement des eaux des BA, dont la température se stabilise entre 19 et 21°C lors des 10 derniers jours. Pour cette seconde période, les variations inter-lots disparaissent, même si les tendances subsistent (Figure 60).

**b : Oxygène dissous**

**Figure 61** : Evolution du taux d'oxygène dissous.



Globalement, les teneurs moyennes en oxygène dissous restent supérieures à 8 mg O<sub>2</sub>/l (Tableau 31). Cependant, sur la période d'élevage, un abaissement de ce taux de 10 à 7,5

mg O<sub>2</sub>/l est enregistré (Figure 61). Si, de manière simplifiée, ce phénomène intervient progressivement, il faut en complément signaler la chute brutale des teneurs en oxygène dissous des BA lors du réajustement alimentaire effectué le 22ème jour. Logiquement, son impact est moins important pour le lot D.

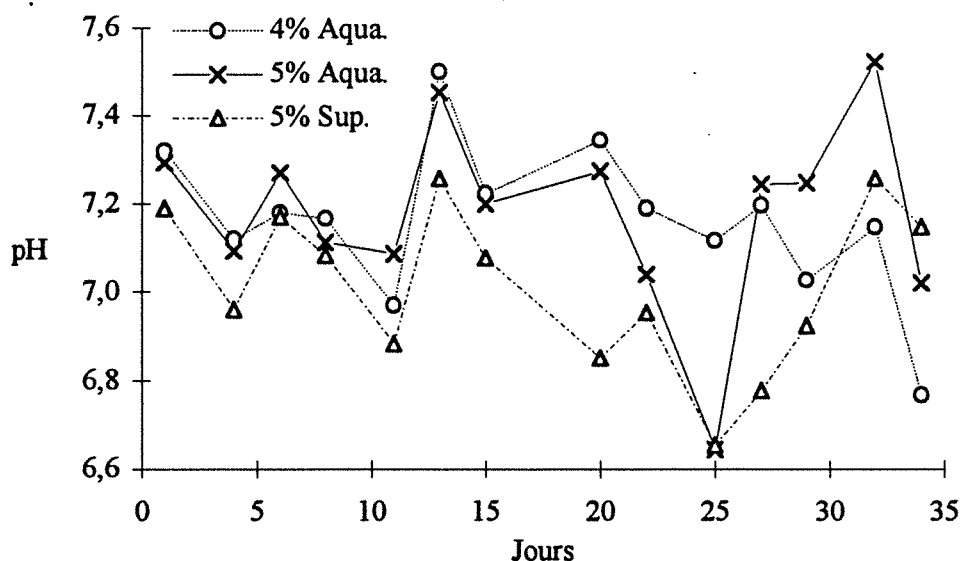
L'analyse statistique ne révèle aucun effet du régime alimentaire sur les fluctuations de ce paramètre. Seules quelques différences ponctuelles sont mises en évidence (jours 8, 13, 20 et 25).

### c : pH

Approximativement, le pH est maintenu entre 7,0 et 7,4 (Tableau 31). Pendant la première quinzaine expérimentale, il évolue de manière similaire dans les différents BA et indépendamment du régime alimentaire ( $P < 0,01$ ). Après cette phase initiale, le pH des différents bassins varie de façon irrégulière.

Malgré l'absence d'effets significatifs de l'alimentation sur les variations de ce paramètre, la figure 62 montre que, d'une manière générale, l'eau des bassins du lot F est souvent plus acide que celle des lots E et F. Au niveau statistique, cette différence est uniquement confirmée pour les jours 1, 11, 13 et 20 ( $P < 0,01$ ).

Figure 62 : Evolution du pH.



Cette acidification accentuée de l'eau des BA du lot C est observée bien que des quantités supérieures de carbonate disodique soient déversées dans ces bassins (Tableau 30,  $P < 0,01$ ). La quantité de bicarbonate consommée par kilogramme de poisson produit dépend du type d'aliment distribué. Ainsi l'aliment Superalevin nécessite en moyenne 110 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/kg, alors que son homologue Aquastart n'impose qu'une consommation de 75 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/kg. Donc ce dernier réduit considérablement les besoins en régulateur de pH. Ceci est à mettre en

relation avec l'activité du lit bactérien qui, du fait d'un abaissement de la quantité d'ammoniac rejetée, demeure moins acidifiante.

#### d : Bilans ioniques initiaux et finaux

Les bilans ioniques initiaux et finaux (Tableau 32) précisent l'évolution des principaux paramètres chimiques pouvant jouer un rôle important dans la conduite de l'élevage, notamment lors d'une intoxication du milieu ambiant par l'ammoniac ou les nitrites.

Tableau 32 : Bilans ioniques initiaux et finaux (moyenne  $\pm$  écart type,  $P < 0,01$ ).

Paramètres	Bilans initiaux			Bilans finaux		
	D 4% Aqua.	E 5% Aqua.	F 5% Sup.	D 4% Aqua.	E 5% Aqua.	F 5% Sup.
Bicarbonates (mg/l)	56,0 $\pm$ 0,1 (a)	53,3 $\pm$ 0,5 (b)	52,7 $\pm$ 2,5 (ab)	47,0 $\pm$ 19,6 (ab)	213,0 $\pm$ 19,4 (c)	107,5 $\pm$ 77,5 (abc)
Calcium (mg/l)	29,3 $\pm$ 2,5 (a)	28,0 $\pm$ 1,6 (a)	30,0 $\pm$ 1,6 (a)	30,0 $\pm$ 1,6 (a)	27,3 $\pm$ 0,9 (a)	29,0 $\pm$ 1,0 (a)
Chlorures (mg/l)	11,4 $\pm$ 0,3 (ab)	11,3 $\pm$ 0,1 (a)	11,7 $\pm$ 0,1 (b)	40,7 $\pm$ 1,3 (c)	47,5 $\pm$ 2,5 (d) *	63,7 $\pm$ 3,8 (e)
Nitrates (mg/l)	9,0 $\pm$ 0,1 (a)	8,2 $\pm$ 0,2 (b) **	10,4 $\pm$ 1,1 (a)	385,9 $\pm$ 33,7 (c)	294,7 $\pm$ 42,1 (c)	511,9 $\pm$ 86,6 (c)

\* :  $[\text{Cl}^-]$  finale de E  $>$   $[\text{Cl}^-]$  finale de D et  $<$   $[\text{Cl}^-]$  finale de F avec  $P < 0,05$ .

\*\* :  $[\text{NO}_3^-]$  initiale de E  $<$   $[\text{NO}_3^-]$  initiales de D et F avec  $P < 0,05$ .

Pour les bicarbonates, il apparaît qu'un rationnement à hauteur de 5% favorise un enrichissement du milieu. Ainsi, à la fin de l'expérience, l'eau des BA du lot E présente des teneurs en  $\text{HCO}_3^-$  significativement plus élevées que celle du lot D, où aucune élévation de la concentration en  $\text{HCO}_3^-$  n'est observée ( $P < 0,01$ ). La forte variabilité des mesures enregistrée pour le lot F ne permet pas une vérification statistique de l'indéniable augmentation du taux de

bicarbonate dans ce lot. Enfin, il faut noter que initialement l'eau du lot D est plus riche en  $\text{HCO}_3^-$  que celle de son homologue E ( $P < 0,01$ ).

Aucune variation de la concentration en calcium n'est mesurée.

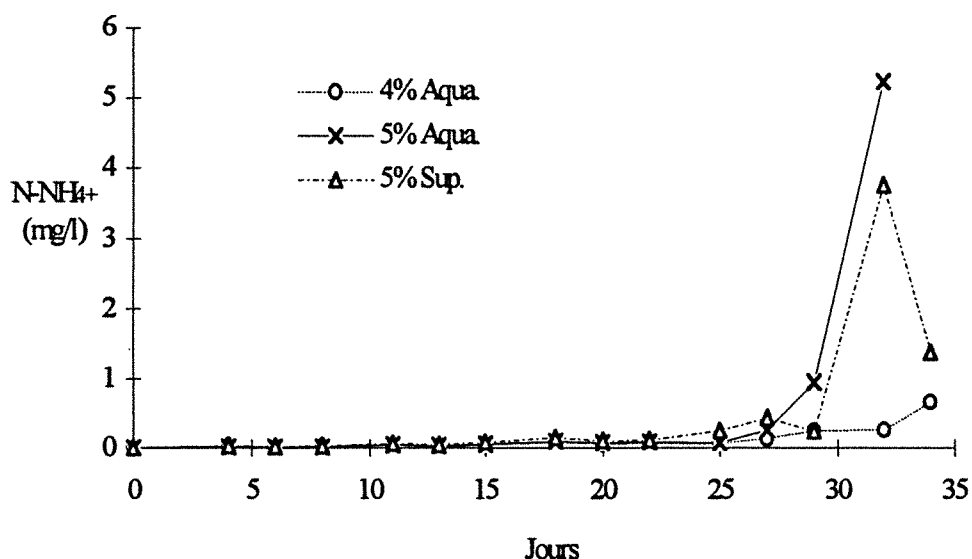
Au contraire, les teneurs en chlorures augmentent au cours des 34 jours d'expérience ( $P < 0,01$ ). Initialement, l'eau des différents BA présente des teneurs très proches en ions  $\text{Cl}^-$ , même si la concentration moyenne rencontrée dans le lot F est significativement plus élevée que celle du lot E ( $P < 0,01$ ). La réalisation des bilans ioniques finaux indique un enrichissement supérieur de l'eau des BA pour le lot F par rapport aux lots E ( $P < 0,05$ ) et D ( $P < 0,01$ ). De plus, la concentration finale en ions apparaît plus élevée dans l'eau des BA du lot E par comparaison à celle du lot D ( $P < 0,05$ ). Un accroissement du niveau de rationnement d'une part et un nourrissage avec l'aliment Superalevin d'autre part semblent favoriser une hausse de la teneur en chlorures de l'eau au cours d'une production d'alevins de truite.

Pour les nitrates, une importante élévation du taux ambiant est enregistrée ( $P < 0,01$ ). Cependant, la variabilité des mesures n'autorise pas la mise en évidence d'une influence des traitements alimentaires. L'observation des valeurs moyennes (Tableau 32) suggère toutefois que l'aliment Superalevin accentue ce phénomène. Il faut également signaler les plus faibles taux initiaux en  $\text{NO}_3^-$  rencontrés dans l'eau des BA du lot E par rapport à ceux dosés pour les lots D et F, dont le rinçage et le séchage ont été insuffisants ( $P < 0,05$ ). L'enrichissement du milieu ambiant en nitrates confirme un ensemencement correct des filtres biologiques.

### 3.3.3 : Variations des teneurs en azote ammoniacal et nitreux

a : Azote ammoniacal

**Figure 63** : Influence du taux de rationnement sur l'évolution de la teneur en azote ammoniacal.

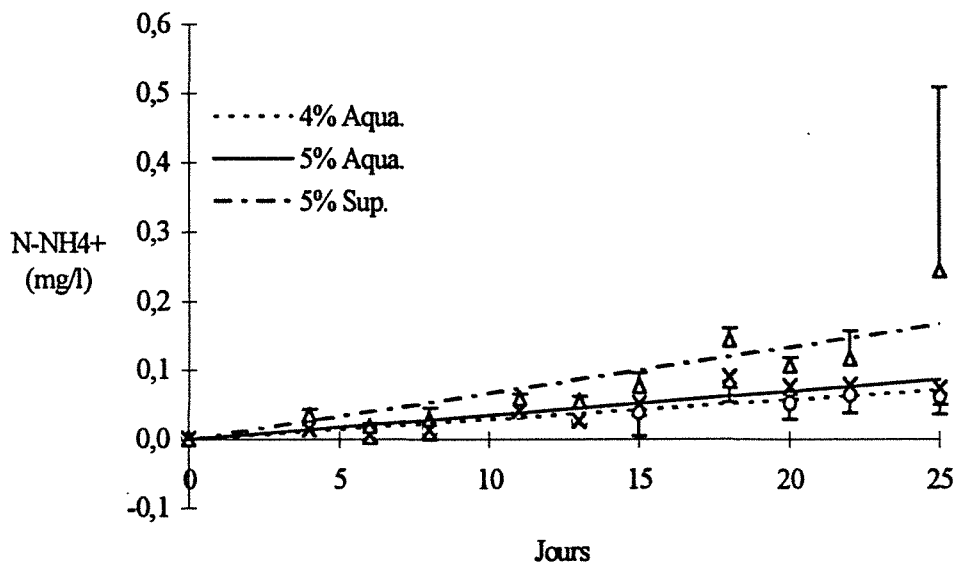


Globalement, sur la durée totale de cet essai, une élévation de la concentration en azote ammoniacal dosée à 9h00 est notée ( $P < 0,01$ ). Pour tous les BA, celle-ci est lente et progressive pendant les 4 premières semaines, puis brutale lors de la dernière semaine (Figure 63). Cette dernière observation est principalement valable pour les lots E et F, lesquels enregistrent des teneurs en azote ammoniacal comprises entre 3 et 6 mg/l, soit environ 0,03-0,05 mg  $\text{NH}_3/\text{l}$  ( $\text{pH} = 7,2$ ,  $t = 20^\circ\text{C}$ ).

En décomposant la période d'élevage en trois parties (J0-J13, J13-J25, J25-J34), l'analyse statistique révèle que les variations des teneurs en  $\text{N-NH}_4^+$  sont fonction du régime alimentaire pour les phases J0-J13 ( $P < 0,01$ ) et J13-J25 ( $P < 0,05$ ). Cette dépendance n'existe plus pour la troisième phase. En résumé, sur la période J0-J25, les concentrations en azote ammoniacal rencontrées dans le lot F sont supérieures à celles observées pour les lots D et E. Excepté aux jours 6, 8, 15 et 25, cette différence est hautement significative ( $P < 0,01$ ). Enfin, seul au jour 20, les teneurs enregistrées dans le lot E sont supérieures à celles du lot D ( $P < 0,01$ ). Ces fluctuations sont correctement expliquées par un modèle simple linéaire (Figure 64,  $P < 0,001$ ).

Sur le plan de la toxicité, les teneurs en azote ammoniacal dosées restent inférieures aux seuils préconisés pour les élevages salmonicoles. Seuls les pics de concentration observés pour les lots E et F entre les 29 et 32ème jours d'élevage atteignent ces valeurs limites. Toutefois, celles-ci restent très largement en-deçà des seuils de toxicité aiguë.

Figure 64 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal pendant les 25 premiers jours.

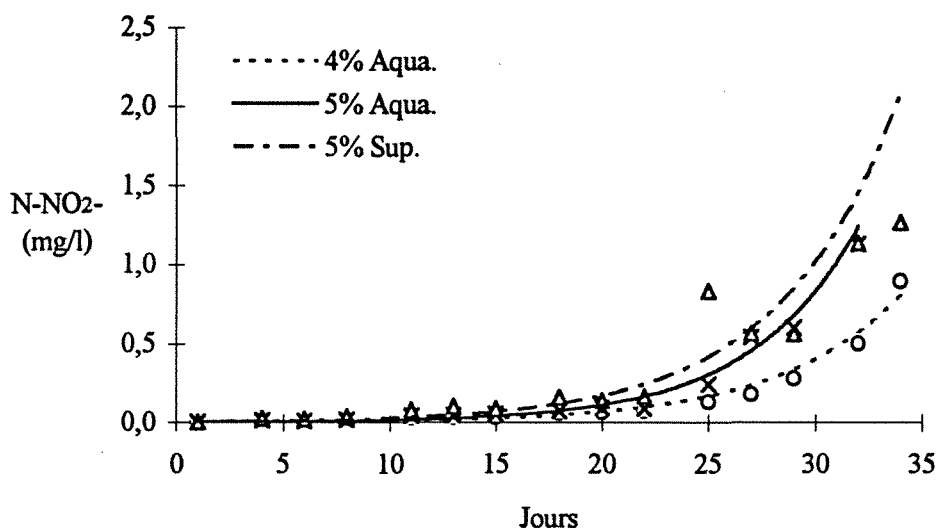


o : 4% Aqua. (moyenne - 2 écarts types)	$y = 0,0029 x$	$r = 0,87$ , $n = 11$
x : 5% Aqua. (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0035 x$	$r = 0,91$ , $n = 11$
Δ : 5% Sup. (moyenne + 2 écarts types)	$y = 0,0067 x$	$r = 0,88$ , $n = 11$

## b : Azote nitreux

Durant les 34 jours d'élevage, les teneurs en nitrites dosées dans les BA augmentent ( $P < 0,01$ ) et aucune incidence significative des régimes alimentaires n'est décelée. Cette élévation est lente jusqu'au 22ème jour, puis s'accélère dans les 12 derniers jours (Figure 65).

Figure 65 : Evolution de la teneur en azote nitreux sur la période J0-J34.



o : 4% Aqua.  $y = 0,0021 e^{0,1557x}$   $r = 0,94$ ,  $n = 15$

x : 5% Aqua.  $y = 0,0021 e^{0,2x}$   $r = 0,94$ ,  $n = 15$

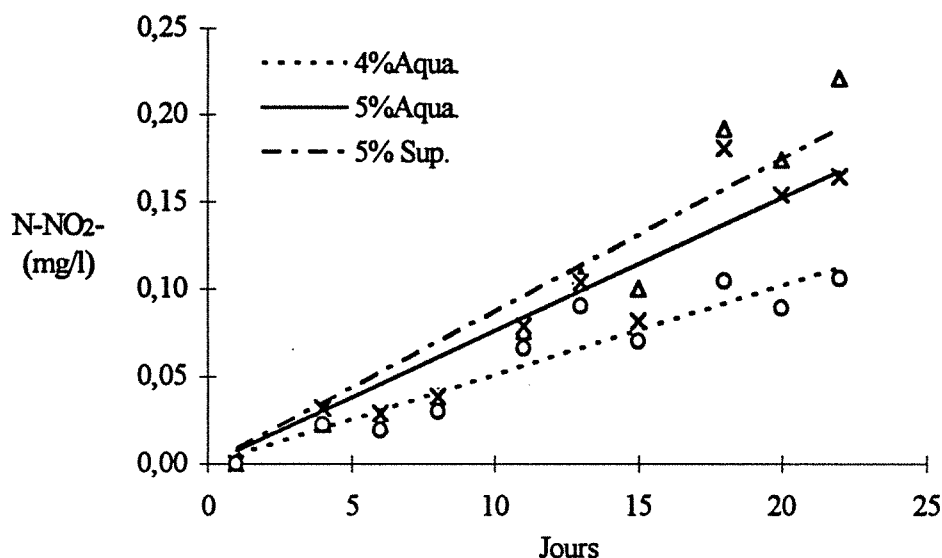
Δ : 5% Sup.  $y = 0,0048 e^{0,1785x}$   $r = 0,89$ ,  $n = 15$

Le profil exponentiel, qui traduit convenablement ces variations ( $P < 0,001$ ), diffère selon le lot expérimental considéré. Ainsi chronologiquement, les fortes teneurs en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> apparaissent d'abord dans le lot F, puis dans le lot E et enfin dans le lot D. L'observation de la figure 65, notamment l'émergence des fortes teneurs, incite à penser que les fluctuations des teneurs en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> dépendent principalement du taux de rationnement.

Jusqu'à l'élévation brutale des concentrations (jour 25), les taux de nitrites suivent une progression linéaire (Figure 66,  $P < 0,001$ ).

Comme dans le cas de l'azote ammoniacal, la distinction de 3 périodes (J0-J13, J13-J25, J25-J34) permet de déterminer une influence temporaire du régime alimentaire sur l'évolution des concentrations en azote nitreux. Ainsi, une corrélation significative existe pour la phase J13-J25 ; elle traduit essentiellement la présence de plus fortes teneurs pour le lot F par rapport aux deux autres lots (Figure 66,  $P < 0,05$ ). Cette différence semble exister pour la phase initiale, mais demeure masquée par des interactions entre les effets liés au temps et au traitement. Enfin, elle disparaît dans la dernière phase.

Figure 66 : Evolution de la teneur en azote nitreux sur la période J0-J22.



○ : 4% Aqua.  $y = 0,0051 x$   $r = 0,94, n = 10$

× : 5% Aqua.  $y = 0,0076 x$   $r = 0,94, n = 10$

△ : 5% Sup.  $y = 0,0087 x$   $r = 0,94, n = 10$

D'un point de vue toxicologique, les concentrations maximales conseillées pour les élevages salmonicoles sont franchies entre le 10<sup>ème</sup> et le 15<sup>ème</sup> jour pour les lots E et F, et vers le 20<sup>ème</sup> jour pour le lot D. Les seuils létaux sont atteints respectivement aux alentours de J30 et de J34 pour les lots E et F d'une part et le lot D d'autre part.

### 3.4 : Discussion

Avant d'engager une réflexion sur les perspectives engendrées par l'emploi de l'aliment Aquastart pour la production d'alevins de truite de 1 g dans les BA, il est nécessaire de préciser l'incidence de la qualité initiale des larves sur les performances zootechniques observées.

Dans la présente étude, la phase des premiers nourrissages en EPIM est trop longue (16 jours) et conduit à un empoissonnement des BA à partir d'alevins amaigris. Ainsi leur poids moyen (0,12 g) est inférieur à celui des alevins utilisés lors de l'expérience sur le taux de rationnement, où les truitelles, plus jeunes de 13 jours, pèsent en moyenne 0,13 g. Cet affaiblissement initial est responsable des fortes mortalités (> 20%), anormalement élevées au cours de la conduite de cet élevage. A cette occasion, il apparaît qu'un dénombrement exact des cadavres est quasiment impossible. Cette situation a probablement entraîné une suralimentation des cheptels expérimentaux, ce qui expliquerait l'encrassement précoce des filtres des lots E et F. Lors de la vidange des BA au 34<sup>ème</sup> jour, l'observation sur le fond des BA du lot E d'un dépôt organique, d'origine alimentaire, appuie également cette hypothèse.

De même, ce mauvais état de santé des larves à l'empoissonnement a vraisemblablement influé, de manière négative, sur les taux de croissance relevés durant la première semaine d'élevage. Ceci expliquerait notamment les plus faibles taux de croissance (12,4 mg/j/ind.) calculés au cours de cette période pour le lot F par comparaison au 17,1 mg/j/ind. mentionnés pour le lot C dans la précédente expérience ( $P < 0,05$ ). Toutefois, cette constatation est à prendre avec précaution car, bien que l'aliment utilisé dans ces deux expériences soit de même type, leur composition chimique varie sensiblement.

Enfin, tous les inconvénients engendrés par la médiocre qualité initiale des larves sont certainement à mettre en relation avec les indices de conversion alimentaires relativement élevés obtenus dans cet essai. En effet, des valeurs moyennes de 0,74 pour l'aliment Aquastart et de 0,86 pour l'aliment Superalevin sont calculées, alors que, dans des conditions standards, ils assurent respectivement des taux de conversion de 0,63 et 0,69 (Robert, com. pers.). Ces différences sont très significatives ( $P < 0,01$ ). Les performances de l'aliment Superalevin sont également en-deça de celles enregistrées dans la précédente étude (IC = 0,74) ( $P < 0,05$ ).

La qualité des larves à leur sortie de l'EPIM influence considérablement le niveau des performances zootechniques d'un alevinage en BA.

Malgré les problèmes exposés ci-dessus et les perturbations induites par une inversion des rations des lots E et F pendant la deuxième semaine, cette étude démontre les avantages d'un nourrissage utilisant un aliment extrudé enrichi en lipides et appauvri en protéines (Aquastart) par comparaison à un aliment classique (Superalevin).

Indéniablement, l'aliment Aquastart autorise de meilleurs indices de conversion alimentaire. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Beamish et Medland (1986) d'une part et Johnsen et Wandsvik (1991) d'autre part sur cette même espèce. Logiquement, cette efficacité accrue de la ration alimentaire s'accompagne de taux de croissance supérieurs. Ainsi, sur les 34 jours d'élevage, les taux de croissance moyens sont respectivement de 34,0 et de 31,9 mg/j/ind. pour les alevins rationnés à 5% avec les aliments Aquastart et Superalevin. Si on ne prend pas en considération la dernière semaine, où le comportement des poissons du lot E est considérablement perturbé par le dysfonctionnement des biofiltres, les taux de croissance moyens correspondants sont de 33,3 (E) et 29,0 (F) mg/j/ind.. De ce fait, l'aliment Aquastart permet une croissance légèrement supérieure des alevins, même si celle-ci n'apparaît pas significativement différente.

Tous les avantages procurés par l'utilisation de l'aliment Aquastart ont abouti à la production d'alevins de 1 g en 28 jours, ce qui coïncide avec le meilleur résultat obtenu dans la précédente expérimentation (lot C). En considérant les aléas de la présente étude, on peut projeter, sous réserve de conditions expérimentales plus favorables, un raccourcissement de la durée du cycle de production par l'utilisation de l'aliment Aquastart.



En ce qui concerne l'incidence de l'aliment Aquastart sur les rejets azotés inorganiques, une diminution des charges polluantes est mise en évidence. Cette étude confirme les avantages d'un aliment appauvri en protéines, déjà mentionné pour les Salmonidés par Johnsen *et al.* (1991) et par Schuster *et al.* (1992). Pendant les 25 premiers jours, le suivi des variations des teneurs en azote ammoniacal dosées à 9h00 indique une réduction moyenne de la charge ammoniacale d'environ 50% pour les lots nourris avec l'aliment Aquastart. Au-delà de cette période, une élévation brutale des concentrations en azote ammoniacal, du fait du colmatage des biofiltres (lots E et F), ne permet plus une telle analyse des fluctuations ammoniacales. Parallèlement, le type d'aliment distribué ne semble pas influencer de manière significative l'évolution des teneurs en nitrites, bien que les plus fortes concentrations soient toujours rencontrées dans l'eau des BA dont le cheptel est nourri avec l'aliment Superalevin. Les fluctuations de cette substance apparaissent davantage liées aux taux de rationnement. Ainsi, une ration établie à 5% engendre des variations en azote nitreux similaires qu'il s'agisse des aliments Aquastart ou Superalevin.

L'abaissement de la pollution ammoniacale provient essentiellement d'une diminution du taux d'ammoniac excrété, en relation directe avec la réduction du taux de protéines alimentaires de 61 à 55%. Cette diminution de la charge ammoniacale agit sur le fonctionnement des biofiltres. Par exemple, il conduit à une limitation du taux de nitrates produit et à une acidification atténuée du milieu. Cette dernière assure une réduction de 30% de la consommation en régulateur de pH ce qui allège beaucoup la maintenance du cheptel.

En complément, l'aliment Aquastart limite l'enrichissement du milieu en chlorures qui demeure également sous la dépendance du niveau de rationnement. De leur côté, les teneurs en bicarbonates dépendent surtout de la quantité d'aliment distribuée, alors qu'elles restent invariables en ce qui concerne le calcium.

En raison des performances zootechniques et de la réduction des rejets ammoniacaux qu'il entraîne, l'aliment Aquastart convient mieux à la production d'alevins de TAC en BA. De cette constatation, il ressort qu'un enrichissement en lipides de 17 à 21% et qu'un appauvrissement en protéines de 61 à 55% sont favorables au développement des alevins élevés en circuit fermé. Etant donné qu'une accumulation de composés azotés inorganiques constitue le principal facteur limitant la capacité de production des BA, cette voie d'investigation est prometteuse. Elle l'est d'autant plus qu'une réduction du taux protéique des aliments à 35% est envisageable (Takeuchi *et al.*, 1978).

## TROISIEME PARTIE : DISCUSSION GENERALE

### 1 : Les techniques aquariologiques

Dans l'optique d'un élevage piscicole intensif, leur adaptation à la réalisation d'un prototype de bassin d'alevinage, prévu pour fonctionner en eau recyclée, s'effectue sans difficulté majeure. Les caractéristiques techniques (agencement des diverses unités de traitement, matériaux employés) et hydrauliques (taux de recyclage, disposition des aspirations, et des rejets d'eau) des BA permettent un comportement et un développement normaux des alevins de TAC.

Ainsi, pour des taux de rationnement de 3 à 5%, un débit d'eau qui varie entre 1600 et 2000 l/h, assure une parfaite collecte des déchets (aliment non ingéré, fécès), dès lors que la plaque perforée qui confine les poissons dans le volume utile, est régulièrement nettoyée (une fois par semaine). Par précaution, cette fréquence de nettoyage pourrait devenir bihebdomadaire à partir de la 4<sup>ème</sup> semaine d'élevage. Lors de la vidange des bassins, l'absence de dépôts sur le fond du compartiment empoissonné atteste d'un drainage convenable des déchets piscicoles solides. Toutefois, une accumulation de matières organiques, notamment dans les angles de ce compartiment, peut se produire. De même, dans une situation normale où les mortalités restent modestes, la circulation de l'eau conduit au regroupement des cadavres sous les diffuseurs et facilite leur dénombrement rapide. Enfin, ces débits permettent un fonctionnement correct des autres maillons de la chaîne de traitement. Cependant, la charge hydraulique influençant le rendement d'un biofiltre (Forster, 1974 ; Liao et Mayo, 1974 ; Brune et Gunther, 1981) , il conviendrait de préciser son incidence sur les performances du biofiltre, notamment en fonction de l'évolution des concentrations en substrats (ammoniac, nitrites).

Le biofiltre, responsable des filtrations mécanique et biologique, assure une rétention efficace des matières en suspension, dont le dépôt est nettement visible à la surface des cylindres filtrants, et supporte le développement d'une microflore nitrifiante très active. A ce niveau, une rapide augmentation des teneurs en nitrates confirme que l'utilisation de mousses de polyuréthane prélevées dans un biofiltre en activité, puis passées dans un machine à laver à l'eau froide, constitue un réel moyen de disposer de filtresensemencés et propres.

Jusqu'aux charges piscicoles maximales testées (15 kg/BA), le biofiltre, composé de 21 blocs de mousse de polyuréthane, permet une filtration mécanique efficace. Toutefois, en fin de cycle, un colmatage partiel est fréquemment observé, ce qui indique une saturation de la capacité de filtration. Un tel encrassement est favorisé par une suralimentation des cheptels. Cependant, il est prématuré de conclure qu'une charge piscicole de 15 kg/BA, nourrie à 4 %, constitue la limite du filtre mécanique. La forte dégradation de la qualité physico-chimique qui

précède l'apparition des premiers signes de colmatage, agit certainement sur le comportement alimentaire des alevins. Elle pourrait restreindre l'appétit des truitelles et accroître les proportions d'aliment non ingéré ce qui inévitablement accélère le colmatage des filtres.

Concernant la filtration biologique, le biofiltre ne peut empêcher un accroissement des teneurs en azote ammoniacal et en nitrites. En fait, l'enrichissement du milieu en ces substances toxiques représente le principal facteur limitant du procédé actuel. Parmi les différents maillons de la chaîne de traitement, la filtration biologique se présente comme l'étape limitante des potentialités d'élevage du prototype de BA proposé. Pour ces raisons, elle fait l'objet d'une réflexion particulière dans la suite de cette discussion générale.

L'absence de problèmes pathologiques durant les diverses expériences conduites et la vérification par les Services Vétérinaires agréés de Colmar de l'état sanitaire irréprochable des truitelles de 1 g produites suggèrent l'adéquation de l'unité de purification microbienne aux besoins.

Malgré une baisse régulière du taux d'oxygène dissous, souvent notée au cours des 4 ou 5 semaines d'élevage et parfois favorisée par une élévation de la température, les teneurs en oxygène relevées sont quasiment toujours restées supérieures à 6,5 mg/l et ne sont jamais descendu en dessous de 5 mg/l, concentration minimale couramment admise pour les Salmonidés. Contrairement à certains circuits fermés (Mc Kay et van Toever, 1981), l'oxygénation n'apparaît pas, dans le cas présent, comme la phase limitante du procédé. Toutefois, vu la tendance évolutive de ce paramètre, une élévation de la capacité de production du BA conduirait vraisemblablement à un dépassement des limites de l'aération par diffusion d'air surpressé, telle qu'elle est conçue dans cette première version de BA. Techniquement, il faut également noter que les performances des diffuseurs sont fortement affectées par les coupures d'électricité ce qui démontre l'importance d'une source électrogène d'appoint. Enfin, si les teneurs en oxygène dissous mesurées indiquent l'absence de situations hypoxiques létales, une étude concernant l'évolution de leurs variations nyctémérales dans le volume utile et dans le biofiltre est souhaitable pour vérifier l'incidence exacte de ce paramètre sur l'expression des potentialités zootechniques d'une part et sur l'activité microbienne nitrifiante d'autre part. Conjointement à l'accroissement de la charge piscicole, l'apparition de périodes sub-hypoxiques postprandiales pourrait jouer un rôle dans l'abaissement des taux de croissance généralement observés à partir de la 4ème semaine. De même, une diminution du taux d'oxygène dissous inhibe progressivement l'activité aérobie du lit bactérien (Liao et Mayo, 1974 ; Kaiser et Wheaton, 1983). Les germes nitrifiants, notamment du genre *Nitrobacter*, y étant plus sensibles (Hanaki *et al.*, 1990), ce phénomène pourrait être partiellement responsable de l'élévation des teneurs en nitrites enregistrées au cours de nos différents essais. L'incorporation d'un aérateur dans le biofiltre constitue une solution à cet éventuel problème.

Globalement, la climatisation du local expérimental assure une thermorégulation convenable de l'eau des BA entre 18 et 20°C, plage thermique souhaitée. Toutefois, l'évacuation des calories produites devient difficile lorsque la température extérieure est élevée. Enfin, du fait de sa disposition et de sa puissance, le climatiseur utilisé induit une évolution hétérogène de la température de l'eau des divers BA. Pour remédier à ce problème, cet équipement doit être soit disposé différemment, soit complété par l'installation d'un second appareil.

Des adjonctions de briquettes de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans le compartiment de filtration régulent correctement l'acidification normale de l'eau des BA et assurent le maintien du pH entre 7 et 7,4. Leur consommation est liée au développement du cheptel et à l'activité du lit bactérien (durée de fonctionnement, taux de nitrification). A partir du regroupement des résultats des différentes études réalisées, celle-ci représente en moyenne de 2,9-3,4 et de 2,2-2,3 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ /kg de poisson produit/jour pour respectivement les aliments Superalevin et Aquastart. A l'avenir, l'élaboration d'une table de rationnement de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  qui prendrait en compte l'empoisonnement initial et le taux de rationnement alimentaire, apparaît nécessaire, car une régulation empirique de ce paramètre fondamental constitue un sérieux frein au développement du procédé. Des valeurs de pH trop faibles inhibent l'activité du biofiltre (Spotte, 1970 ; Haug et Mc Carty, 1972 ; Petit, 1974), alors que des valeurs trop élevées accroissent la toxicité de l'ammoniac (Armstrong *et al.*, 1978). A l'aide de capteurs, une régulation continue et automatisée du pH est également envisageable.

En pratique, la maintenance de cet équipement est faible (20 mn/j/BA) et se limite au nourrissage du cheptel (8 repas), à la régulation du pH et au nettoyage hebdomadaire de la plaque perforée qui confine les truitelles dans le volume utile. Sous réserve d'une distribution automatisée de la ration alimentaire, la durée de l'entretien quotidien est inférieure à 10 mn/j/BA. La seule contrainte relevée à ce niveau demeure la collecte et le dénombrement des cadavres dans le cas d'une mortalité anormalement importante.

Sur le plan technique, aucun problème majeur ne remet en cause l'applicabilité des techniques aquariologiques concernées à la mise au point d'un procédé d'alevinage intensif. Sur la base d'un fonctionnement total en circuit fermé, le prototype réalisé permet une production de 15 kg/BA à l'issue d'un cycle de production. Cependant, cette charge piscicole constitue la charge maximale admissible. A ce stade, les performances du filtre biologique sont dépassées, ce qui nécessite un renouvellement immédiat de l'eau.

## 2 : Les performances zootechniques

Avec une température de l'eau maintenue entre 18 et 20°C, le bassin d'alevinage proposé permet un développement satisfaisant des alevins de TAC. A partir de 10 000 à 15 000 larves d'un poids initial de 0,12-0,13 g, une production d'alevins d'un poids moyen supérieur à 1 g est obtenue en 29 jours d'élevage avec un taux de survie supérieur à 90%. Dans le cadre d'un fonctionnement en circuit fermé total, l'obtention de telles performances nécessite au moins un taux de rationnement à hauteur de 5% de la biomasse piscicole. Ce niveau de rationnement induit des taux de croissance élevés, notamment pendant les 3 premières semaines. Les taux de croissance calculés dans nos essais sont très proches de ceux obtenus par Austreng *et al.* (1987) en circuit ouvert et avec une température de 16°C. Pour les stades physiologiques 0,12-0,5 et 0,5-1 g, ils obtiennent respectivement des taux de croissance de 9,0 et 10,5 %/j, alors que nos valeurs correspondantes sont de 12,1 et 7,3%/j. Cette comparaison confirme le comportement favorable des alevins introduits dans les BA, notamment jusqu'au stade 0,5 g. L'intégration d'un taux de rationnement initial supérieur à 5% pourrait éventuellement améliorer les taux de croissance relevés pour la phase 0,12-0,5 g. Pour les truitelles élevées dans les BA, l'abaissement anormal du taux de croissance calculé pour le second stade physiologique traduit essentiellement une diminution de la croissance des alevins après 3 à 4 semaines d'élevage. Cela s'explique principalement par une forte détérioration de la qualité de l'eau. En effet, en relation avec un dysfonctionnement ou une saturation de la capacité d'épuration des biofiltre, les réductions des taux de croissance signalées ci-dessus coïncident toujours avec une élévation des teneurs en azote ammoniacal (1 à 5 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/l) et en azote nitreux (2 à 6 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/l).

Parallèlement à l'enregistrement de taux de croissance compétitifs, des indices de conversion alimentaire performants sont obtenus. Ainsi, un nourrissage à 5% avec un aliment pressé classique (Superalevin, AQUALIM) induit un indice de conversion alimentaire de 0,74. Cette valeur est proche de celle (0,69) avancée par le fournisseur et obtenue en circuit ouvert.

L'utilisation d'aliments à plus haute valeur énergétique (Aquastart, AQUALIM) qui présentent un enrichissement en lipides (4% / matières sèches) et un appauvrissement en protéines (6% / matières sèches), semble bénéfique pour le développement des truitelles dans les BA. Ils autorisent une amélioration des performances zootechniques (indice de conversion alimentaire inférieur, taux de croissance supérieurs). Cette catégorie d'aliments laisse également envisager un raccourcissement de la durée du cycle de production. Malheureusement, certaines difficultés rencontrées au cours de l'expérimentation, rendent délicate toute interprétation approfondie. La réalisation d'une nouvelle expérience est nécessaire pour apprécier les avantages zootechniques apportés par ce type d'aliment.

Cependant, il ressort de cette expérience imparfaite que l'expression des potentialités zootechniques des alevins de TAC élevés dans les BA dépend fortement de la qualité des larves introduites. Un empoissonnement avec des larves affaiblies, consécutivement à un séjour prolongé en EPIM, réduit considérablement l'étendue de ces performances (augmentation de la mortalité, taux de croissance faibles). Cette observation dévoile une absence de données concernant la première phase d'élevage en EPIM, notamment en ce qui concerne l'incidence de la durée de la période d'initiation à l'alimentation exogène sur la qualité et la viabilité des larves produites.

### 3 : Qualité de l'eau

Hormis l'enrichissement du milieu en azote ammoniacal et nitreux, déjà évoqué et discuté plus loin, le développement des truitelles dans les BA fonctionnant en circuit fermé, implique de nombreux changements au niveau de la composition chimique de l'eau. Une coloration et une minéralisation progressives de l'eau traduisent un enrichissement du milieu qui, globalement, apparaît favorable.

Ainsi, une élévation des teneurs en chlorures et en bicarbonates, ions inhibiteurs de la toxicité des nitrites (Perrone et Meade, 1977), constitue une protection des cheptels vis-à-vis de ce problème. Durant la plus grande partie de la période d'élevage, le rapport  $Cl^-/NO_2^-$  demeure supérieur à 17 et assure une protection des alevins (Eddy et Williams, 1987). Toutefois, lors des brusques augmentations du taux de nitrites, enregistrées généralement vers la 4ème ou 5ème semaine et conduisant à l'arrêt des expériences, ce rapport tombe à 6-7. Cela signifie que, si au préalable un apport de chlorures n'est pas utile, il le devient lors de l'observation de ces pics en nitrites. Dans ce cas précis, des adjonctions de NaCl peuvent limiter l'impact toxique des fortes teneurs en  $NO_2^-$  (Wedemeyer et Yasutake, 1978 ; Huey *et al.*, 1980).

Pour les mêmes raisons, les variations des teneurs en calcium sont intéressantes. Or, au travers des divers essais menés, cet anion évolue différemment. Si dans la première expérience, une hausse favorable est constatée, elle ne l'est plus lors des deux suivantes. Cette divergence apparaît difficilement explicable par une précipitation du calcium avec les phosphates rejetés (Saeki, 1958 ; Hirayama, 1974), mais semble plutôt liée au développement d'une abondante population de physes dans le compartiment de filtration, non décelé pendant la première expérience. La fixation de calcium et de carbonates pour l'élaboration de leur exosquelette et leur éventuel rôle dans l'entretien des surfaces du biofiltre confèrent probablement une importance particulière à ces mollusques.

Une élévation de la concentration ambiante en azote ammoniacal favorisant une excrétion de l'ammoniac par le biais d'échanges ioniques  $Na^+/NH_4^+$  (Heisler, 1990), l'élévation de la teneur en sodium enregistrée représente également un changement chimique positif.

Enfin, l'activité nitrifiante du lit bactérien (Kawai *et al.*, 1964 ; Scherb et Braun, 1971) et, à un degré moindre, l'alimentation des cheptels (Clark *et al.*, 1985) conduisent à un fort accroissement des teneurs en nitrates (500-800 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l). Si Russo *et al.* (1981) considèrent que les nitrates agissent favorablement sur la toxicité des nitrites, ces fortes concentrations en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, bien qu'éloignées des seuils létaux (Russo, 1985), peuvent gêner le développement des alevins et participer à l'abaissement des performances zootechniques noté durant les deux dernières semaines d'élevage (Colt et Armstrong, 1981 ; Wickins, 1981). De plus, vu le gradient de concentration imposé aux bactéries, il est possible que de telles concentrations aient ralenti l'activité des microorganismes nitrifiants (Martin, 1979). Enfin, la présence d'un milieu hypoxique dans le biofiltre envisagée précédemment, associées à de fortes teneurs en nitrates, peut faciliter le développement d'une microflore dénitrifiante et induire la production de nitrites et d'ammoniac. La conduite d'essais avec une limitation des teneurs en nitrates (dénitrificateur) est souhaitable pour répondre à ces interrogations.

4 : La filtration biologique et les fluctuations des concentrations en ammoniac et en nitrites

A l'issue des diverses expérimentations menées, le principal facteur limitant du prototype de BA proposé réside dans l'accumulation de substances azotées inorganiques toxiques (ammoniac, nitrites), qui demeure l'inconvénient majeur des élevages piscicoles fonctionnant en circuit fermé (Bovendeur *et al.*, 1987).

Les variations des teneurs en azote ammoniacal dépendent principalement de la gestion de l'alimentation. Ainsi, les fluctuations nycthémérales des taux de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, qui présentent comme dans les salmonicultures en circuit ouvert une zone de concentrations maximales entre 20h00 et 23h00 (Fivelstad *et al.*, 1990 ; Bergheim *et al.*, 1991b), varient en fonction de l'amplitude des réajustements alimentaires. A ce niveau, il faut préciser que l'enrichissement du milieu en cette substance s'effectue principalement durant les jours suivant les réajustements hebdomadaires des rations. En effet, trois jours après l'augmentation des rations, les fluctuations préalablement observées ont pratiquement disparu, ce qui signifie une adaptation de la microflore nitrifiante à la charge polluante supplémentaire engendrée. Ce phénomène est enregistré jusqu'à des rations de 350-400 g avec un ajout de 100 g lors du réajustement alimentaire. A partir de courbes de croissance prévisionnelles, l'opération de réajustements alimentaires plus fréquents, mais moins importants, limiterait probablement l'amplitude de ces variations qui accentue les effets toxiques de cette substance (Soderberg, 1985 ; Klontz *et al.*, 1985). Enfin, l'enrichissement du milieu en ammoniac augmente avec une élévation du taux de rationnement et avec une distribution d'aliment enrichi en protéines (Superalevin / Aquastart).

Toutefois, considérant le maintien du pH dans la zone 7-7,4, les variations de ce composé azoté toxique n'ont que rarement induit des concentrations létales. De plus, ces dernières suivent généralement l'apparition d'un premier problème (colmatage des filtres, élévation des teneurs en nitrites) qui favorise l'apparition de ces fortes teneurs en azote ammoniacal. L'enrichissement progressif du milieu en  $\text{NH}_4^+$  traduit indéniablement une insuffisance de la biofiltration, mais n'apparaît pas comme la principale lacune de l'actuel filtre biologique.

En effet, les fluctuations des teneurs en nitrites sont beaucoup plus préoccupantes. Si les variations nyctémérales semblent moins influencées par les réajustements alimentaires, une modification du profil de ces variations indique que la distribution d'une ration alimentaire de 250 g accentue l'accumulation de  $\text{NO}_2^-$  dans l'eau d'élevage. Lorsque cette ration s'élève à 400-500 g, cet enrichissement du milieu en azote nitreux s'accélère fortement. Dans les trois essais conduits, cette même constatation est effectuée. Dès que la ration dépasse 400 g, une brusque élévation des teneurs en nitrites est dosée et conduit généralement à une intoxication du cheptel et à l'arrêt des expériences. Par comparaison avec les variations en azote ammoniacal, un dépassement beaucoup plus précoce des seuils limites préconisés pour les élevages salmiconoles d'une part et des concentrations létales d'autre part est observé. En fait, les variations des teneurs en  $\text{NO}_2^-$  dépendent étroitement des quantités d'aliment distribuées, une élévation du taux de rationnement accroît l'enrichissement en nitrites.

Parallèlement à l'augmentation de la ration alimentaire en relation avec le développement du cheptel, la quantité de nitrites produite par la nitrification devient progressivement, puis rapidement, plus importante que son homologue transformée en nitrates par la nitrification. L'enrichissement continu du milieu en nitrates démontre le maintien d'une nitrification active durant toute la période d'élevage. Aussi, ces constatations confirment que la nitrification constitue l'étape limitante des lits bactériens nitrifiants appliqués à l'aquaculture (van Rijn et Rivera, 1990), bien que, dans des conditions optimales, la nitrification soit l'étape limitante de la nitrification (Alleman, 1984). Etant très sensibles aux variations environnementales, les germes nitrifiants, notamment ceux du genre *Nitrobacter*, n'expriment que très rarement leur plein pouvoir épurateur.

A ce sujet, l'hypothèse d'une inhibition de l'activité des germes nitrifiants par des concentrations trop élevées en  $\text{NH}_4^+$  n'apparaît pas justifiée dans la présente étude. Le seuil inhibiteur (1 mg N- $\text{NH}_4^+$ /l), proposé par van Rijn et Rivera (1990), est nettement supérieur aux concentrations dosées lors des fortes augmentations en nitrites. Toutefois, il est possible que l'élévation progressive de la teneur en  $\text{NH}_4^+$  ralentisse l'activité des bactéries nitrifiantes. Au même titre, l'accumulation de matières organiques dans la cuve de décantation et à la surface des mousses filtrantes influence probablement l'écologie microbienne du biofiltre. Elle pourrait



notamment favoriser le développement d'une microflore nitrifiante hétérotrophe moins efficace (Verhagen et Laanbroek, 1991 ; van Niels *et al.*, 1993 ; Wijffels *et al.*, 1993).

Le processus de nitrification du biofiltre demeure l'étape limitante de la chaîne de traitement présentée par le prototype de bassin d'alevinage élaboré. Parallèlement à l'accroissement de la ration alimentaire, il semble notamment que le taux de nitrification devient plus élevé que le taux de nitratation. Une augmentation de la capacité de production des BA nécessite des aménagements des caractéristiques techniques et du mode de fonctionnement de cet équipement. Une gestion de l'alimentation mieux adaptée à l'élevage en circuit fermé est également souhaitable. Ces changements en perspectives auraient en grande partie pour objectif de restreindre le taux de nitrification en limitant la quantité d'ammoniac produite.

Cependant, une étude descriptive de la dynamique spatio-temporelle des microflores microbiennes semble nécessaire pour préciser l'influence des facteurs écologiques (matières organiques, oxygène dissous) sur l'activité des germes bactériens nitrifiants et nitrifiants.

## 5 : Les aménagements et les améliorations en perspective

### 5.1 : Alimentation

Une meilleure gestion de l'alimentation est susceptible d'accroître les performances du BA. Ainsi, une parfaite adaptation du taux de rationnement aux besoins des alevins est nécessaire. Le passage d'un taux de rationnement initialement fixé à 5%, voire à 6%, à un taux de 4% apparaît souhaitable. Cela permettrait notamment de limiter une distribution trop hâtive de rations supérieures à 400 g.

Un ajustement de la fréquence de distribution des repas pourrait également réduire les pertes ammoniacales (Poxton et Lloyd, 1989) et alléger la maintenance liée à une distribution manuelle des rations. De même, l'insertion d'un jour de jeûne hebdomadaire autoriserait probablement une épuration complète des teneurs en azote ammoniacal et en nitrites de l'eau des BA (Poxton et Allouse, 1987). Toutefois, son incidence sur les performances zootechniques doit être estimée.

Enfin, les aliments à plus haute valeur énergétique, appauvris en protéines, apparaissent particulièrement convenir pour l'élevage en circuit fermé. Une utilisation de ces aliments, avec des niveaux de rationnement correctement définis, garantit l'obtention de taux de croissance élevés et de faibles indices de conversion alimentaire (Kaushik et de Olivia-Telès, 1985 ; Beamish et Medland, 1986), ce qui laisse également envisager une réduction de la durée du cycle de production. De plus, ces aliments diminuent fortement les rejets ammoniacaux engendrés (Johnsen *et al.*, 1991 ; Schuster *et al.*, 1992). Ainsi, par comparaison avec l'aliment Superalevin AQUALIM, l'aliment Aquastart AQUALIM, qui présente seulement un taux de

protéines inférieur de 6%, permet une réduction de 50% des teneurs en  $\text{NH}_4^+$  sur les 25 premiers jours d'élevage. Son impact sur les concentrations en nitrites est visible graphiquement, mais non significatif. Aussi la possibilité de bénéficier d'aliments dosés à 35% de protéines (Tackeuchi *et al.*, 1978 ; Watanabe *et al.*, 1979 ; le Grow et Beamish, 1985) est-elle très prometteuse. En complément, ces aliments allègent la maintenance résultant de la régulation du pH, du fait d'une réduction de l'activité nitrifiante.

## 5.2 : Mode de fonctionnement

Le passage d'un mode de fonctionnement en circuit fermé total à un mode de fonctionnement en circuit fermé partiel, avec un taux de renouvellement quotidien de 1 à 10% à définir, constitue un aménagement susceptible d'améliorer sensiblement la capacité de production du BA. Cela limiterait l'accumulation des composés azotés toxiques et d'autres substances (nitrates). Un avantage supplémentaire demeure le maintien d'un remplissage total des BA durant toute la durée du cycle de production, car l'abaissement de ce niveau affecte logiquement le volume du biofiltre en activité et, par conséquent, ses performances.

De plus, une telle pratique peut être couplée à une élimination des matières organiques accumulées dans le filtre. En effet, le renouvellement de l'eau pourrait être associé à une vidange partielle du compartiment de filtration et une évacuation des dépôts sédimentés. Eventuellement, un nettoyage superficiel des filtres est envisageable. A cette occasion, l'élimination des matières organiques limiterait aussi probablement la quantité d'azote ammoniacal produite par l'ammonification, dont l'incidence sur l'élévation de charge ammoniacale mérite d'être précisée.

Les modalités d'un tel changement d'eau, en relation avec les disponibilités hydrauliques, doivent inévitablement prendre en considération ses effets sur la thermorégulation, la régulation du pH et l'oxygénation.

Enfin, un aménagement du débit d'eau en circulation, pour optimiser la charge hydraulique en fonction des concentrations en substrats, peut autoriser une augmentation des performances du biofiltre.

## 5.3 : Biofiltre

Sans modifier les proportions du compartiment de filtration, quelques aménagements peuvent améliorer les actuelles performances du biofiltre. L'utilisation de mousses de polyuréthane à plus grande surface spécifique ou de filtres plus hauts, grâce à un abaissement du biofiltre dans le compartiment de filtration, constituent des solutions envisageables pour élever la capacité d'épuration du biofiltre. Elles augmenteraient la surface disponible pour le

développement des germes nitrifiants (Lesel, 1979 ; Kaiser et Wheaton, 1983 ; Heinsbroek et Kamstra, 1990).

Si cela est justifié, un accroissement des proportions relatives du compartiment de filtration est réalisable. Il peut impliquer ou non une modification de l'encombrement global du bassin d'alevinage. Au regard des volumes de filtration usuels (Otte et Rosenthal, 1979 ; Jespersen, 1989 ; Yang-Liang, 1990), un élargissement des proportions du compartiment de filtration du BA (20% du volume total) apparaît normal.

## 6 : Facteurs économiques

La charge piscicole maximale admise par un BA, fonctionnant en circuit fermé, s'élève en fin de cycle à 15-16 kg. Aussi, considérant la durée d'un cycle de production (28 jours), la capacité de production annuelle d'un BA, dans sa configuration actuelle, est estimée à 200 kg, soit 200 000 alevins de 1 g. Une telle production implique des consommations totales évaluées à 22 m<sup>3</sup> pour l'eau, à 20 kg pour le régulateur de pH et à 135 kg pour l'aliment (Superalevin, AQUALIM).

Considérant la faible technicité mise en oeuvre, la légèreté de la maintenance et ses actuelles performances, une intégration à court terme du bassin d'alevinage dans le cadre d'une aquaculture productive demeure un objectif raisonnable. Si cet équipement ne peut pas prétendre répondre aux exigences d'une aquaculture intensive très modernisée, il peut cependant s'insérer au sein d'une aquaculture locale, en relation avec l'existence de micro-marchés.

Cette structure peut notamment contribuer à :

- limiter la dépendance vis-à-vis des disponibilités en eau,
- lutter efficacement contre certaines pathologies (NPI),
- réduire la durée des cycles de production, souvent très longs en eau froide,
- produire en permanence des alevins de grande qualité.

Cet objectif apparaît d'autant plus accessible qu'il existe de nombreuses perspectives en vue d'une amélioration des potentialités de production du BA. Toutefois, une véritable étude économique est nécessaire pour définir les coûts de production et de fonctionnement du bassin d'alevinage d'une part et l'intérêt de différentes options (aliments à haute valeur énergétique plus coûteux, gestion des calories, taux de renouvellement de l'eau, approvisionnement en oeufs) d'autre part.

## CONCLUSION GENERALE

Actuellement, de nombreux élevages fonctionnant en circuit fermé, particulièrement en anguilliculture, cessent leur activité. La complexité des systèmes proposés impose une gestion beaucoup trop lourde de ces équipements et leur forte technicité engendre une rentabilisation aléatoire. Aussi, du fait de leur simplicité de mise en oeuvre et de la faible maintenance qu'elles exigent, les techniques aquariologiques, utilisées de longue date à l'Aquarium Tropical de Nancy, sont susceptibles de jouer un rôle important dans le développement d'une aquaculture en eau recyclée, essentiellement à l'échelle locale en relation soit avec l'existence de micro-marchés soit avec une problématique particulière (production d'alevins de grande qualité, sevrage d'individus issus du milieu naturel, maîtrise des reproductions délicates...).

A court terme, la production d'alevins de grande qualité se présente comme la première application envisageable. La présente étude montre notamment leur applicabilité à la mise au point d'un procédé d'élevage intensif d'alevins de truite arc-en-ciel de 1 g en eau recyclée et échauffée (18-20°C). Elle confirme les avantages d'un élevage en circuit fermé (performances zootechniques satisfaisantes, état sanitaire irréprochable, raccourcissement du cycle de production...) et souligne ceux spécifiques au procédé proposé (gestion souple, faible maintenance, techniques accessibles à la profession...). En accord avec la majorité des travaux réalisés sur divers systèmes, elle a également permis de vérifier que le principal facteur limitant des élevages en circuit fermé reste l'accumulation des substances azotées toxiques (azote ammoniacal, nitrites) et, par conséquent, la capacité d'épuration du filtre biologique.

Une participation active du bassin d'alevinage, élaboré à partir des techniques aquariologiques, au développement de l'activité aquacole notamment régionale est rapidement envisageable. Toutefois, elle dépend essentiellement de l'exactitude des perspectives d'amélioration de sa capacité de production. De même, une évaluation précise des facteurs économiques, prenant en considération les nombreuses options de fonctionnement, apparaît indispensable avant un éventuel transfert de technologie.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABELING (U.) and C.F. SEYFRIED, 1992. - Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite. *Wat. Sci. Tech.*, 26 (5-6): 1007-1015.
- AFNOR, 1994. Qualité de l'eau, environnement. Recueil de normes françaises, 1ère édition, 862 pp.
- ALABASTER (J.S.) and D.W.M. HERBERT, 1954. - Influence of carbon dioxide on the toxicity of ammonia. *Nature*, 174: 404.
- ALABASTER (J.S.), D.G. SHURBEN and G. KNOWLES, 1979. - The effect of dissolved oxygen and salinity on the toxicity of ammonia to smolts of salmon, *Salmo salar* L.. *J. Fish Biol.*, 15: 705-712.
- ALANÄRÄ (A.) and S.J. CRIPPS, 1991. - Feeding management and suspended particle removal to reduce nutrient losses. *EAS pub.*, 14 : 6-7.
- ALCARAZ (G.) and S. ESPINA, 1994. - Effect of nitrite on the survival of Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.), with relation to chloride. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 74-79.
- ALLEMAN (J.E.), 1984. - Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Wat. Sci. Tech.*, 17: 409-419.
- ALSTED (N.S.), 1991. - Studies on the reduction of discharges from fish farms by modification of the diet. In *Nutritional strategies and aquaculture waste*, C.B. Cowey and C.Y.Cho eds, chap. 6: 77-89.
- ANDERSON (B.C.) and D.S. MAVINIC, 1993. - Behaviour and control of nutrients in the enhanced aerobic digestion process: pilot-scale studies. *Environ. Technol.*, 14: 301-318.
- ANTHONISEN (A.C.), R.C. LOEHR, T.B.S. PRAKASAM and E.G. SRINATH, 1976. - Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 48 (5): 835-852.
- ARILLO (A.), C. MARGIOCCO, F. MELODIA, P. MENSI and G. SCHENONE, 1981. - Ammonia toxicity mechanism in fish: studies on rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 5: 316-328.
- ARILLO (A.), E. GAINO, C. MARGIOCCO, P. MENSI and G. SCHENONE, 1984. - Biochemical and ultrastructural effects of nitrite in rainbow trout: liver hypoxia as the root of the acute toxicity mechanism. *Environ. Res.*, 34: 135-154.
- ARMSTRONG (D.A.), D. CHIPPENDALE, A.W. KNIGHT and J.E. COLT, 1978. - Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull.*, 154: 15-31.
- ASHLEY (L.M.) and J.E. HALVER, 1968. - Dimethylnitrosamine-induced hepatic cell carcinoma in rainbow trout. *J. Nat. Cancer Inst.*, 41 (2): 531-552.
- ATHERTON (W.D.) and A. AITKEN, 1970. - Growth, nitrogen metabolism and fat metabolism in *Salmo gairdneri*, Rich.. *Comp. Biochem. Physiol.*, 36: 719-747.
- AUSTRENG (E.), T. STOREBAKKEN and T. ÅSGÅRD, 1987. - Growth rate estimates for cultured atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 60: 157-160.
- BAHAMONDES-ROJAS (I.), 1982. - Influence de la température et du taux d'oxygène dissous sur la nutrition azotée de la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). Etude de l'évolution post-prandiale des acides aminés libres. Etude de la protéosynthèse. Thèse Doct. INPT, 75 pp.
- BAILEY (J.E.), S.D. RICE, J.J. PELLA and S.G. TAYLOR, 1980. - Effects of seeding density of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, eggs on water chemistry, fry characteristics, and fry survival in gravel incubators. *Fish. Bull.*, 78 (3): 649-658.

- BALDWIN (E.), 1948. - The excretion of nitrogen. In *An introduction to comparative biochemistry*, third edition, chap. 4, Cambridge university press: 46-54.
- BALDWIN (E.), 1960. - Ureogenesis in Elasmobranch fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 1: 24-37.
- BALL (I.R.), 1967. - The relative susceptibilities of some species of fresh-water fish to poisons. I. Ammonia. *Water Res.*, 1: 767-775.
- BALM (P.), N. GOOSSEN, S. van de RIJKE and S.W. BONGA, 1988. - Characterization of transport Na<sup>+</sup>-ATPases in gills of freshwater tilapia. Evidence for branchial Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ATPase activity in fish gills. *Fish Physiol. Biochem.*, 5 (1): 31-38.
- BALMELLE (B.), K.M. NGUYEN, B. CAPDEVILLE, J.C. CORNIER and A. DEGUIN, 1992. - Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Wat. Sci. Tech.*, 26 (5-6): 1017-1025.
- BATH (R.N.) and F.B. EDDY, 1980. - Transport of nitrite across fish gills. *J. Exp. Zool.*, 214: 119-121.
- BEAMISH (F.W.H.) and A. TANDLER, 1990. - Ambient ammonia, diet and growth in lake trout. *Aquat. Toxicol.*, 17: 155-166.
- BEAMISH (F.W.H.) and E. THOMAS, 1984. - Effects of dietary protein and lipid on nitrogen losses in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 41: 359-371.
- BEAMISH (F.W.H.) and T.E. MEDLAND, 1986. Protein sparing effects in large rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 55: 35-42.
- BEJERANO (I.) and S. NIZAN, 1990. - The effect of ammonia and nitrite on tilapia. In *Research on modern aquaculture*, H. Rosenthal and S. Sarig, *EAS pub.*, 11: 17-27.
- BELHASNAT (R.), 1988 - Contribution à l'étude biotechnique des élevages piscicoles en eau recyclée: application à la salmoniculture. Thèse Doct. Univ. Nancy I, 136pp.
- BERGERHOUSE (D.L.), 1993. - Lethal effects of elevated pH and ammonia on early life stages of hybrid striped bass. *J. Appl. Aquaculture*, 2 (3/4): 81-100.
- BERGERO (D.), F. di NATALE, G. FOMERIS and G.B. PALMEGIANO, 1991. - Evaluation of italian zeolitic tuffs removal in fishculture systems. *EAS pub.*, 14: 25-26.
- BERGHEIM (A.) and O.I. FORSBERG, 1993. - Attempts to reduce effluent loadings from salmon farms by varying feeding frequencies and mechanical effluent treatment. *EAS pub.*, 18: 115-124.
- BERGHEIM (A.), E.A. SEYMOUR, S. SANI, T. TYVOLD and S. FIVELSTAD, 1991 (b). - Measurements of oxygen consumption and ammonia excretion of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in commercial-scale, single-pass freshwater and seawater landbased culture systems. *Aquacult. Eng.*, 10: 251-267.
- BERGHEIM (A.), H. HUSTVEIT, A. KITTELSEN and A.R. SELMER-OLSEN, 1984. - Estimated pollution loadings from norwegian fish farms. II. Investigations 1980 - 1981. *Aquaculture*, 36: 157-168.
- BERGHEIM (A.), J.P. AABEL and E.A. SEYMOUR, 1991 (a). - Past and present approaches to aquaculture waste management in norwegian net pen culture operations. In *Nutritional strategies and aquaculture waste*, C.B. Cowey and C.Y. Cho eds, chap. 10: 117-136.
- BERGOT (F.), 1979. - Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition. *Aquaculture*, 18 : 157-167.
- BIANCHI (M.), J. PERFETTINI and A. BIANCHI, 1992. - Marine heterotrophic bacteria associated with enrichment culture of nitrifying bacteria planned for closed aquaculture systems. *Aquat. Living Resour.*, 5: 137-144.
- BILLARD (R.) et F. NADOT, 1989. - Changement de nom de la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri* (Richardson) en *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *La pisciculture française*, 97: 19-20.

- BILLARD (R.), 1986. - La salmoniculture en eau douce. Dans *Aquaculture*, G. Barnabé, Technique et documentation, Lavoisier, vol. 2: 526-569.
- BIRKETT (L.), 1969. - The nitrogen balance in plaice, sole and perch. *J. Exp. Biol.*, 50: 375-386.
- BLACK (V.S.), 1960. - Excretion and osmoregulation. In *The physiology of fishes*, M.E. Brown ed., Academic press, New York, vol 1, chap 4: 163-205.
- BLANCHETON (J.P.) and D. COVES, 1993. - Closed system in intensive marine finfish hatcheries: state of the art and future prospects. *EAS pub.*, 18: 87-93.
- BLANCO (O.) and T. MEADE, 1980. - Effect of dietary ascorbic acid on the susceptibility of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) to nitrite toxicity. *Rev. Biol. Trop.*, 28 (1): 91-107.
- BOHL (M.), 1977. - Some initial aquaculture experiments in recirculating water systems. *Aquaculture*, 11: 323-328.
- BOUDIGUE (D.), 1978. - Variations saisonnières du catabolisme azoté chez deux téléostéens d'eau douce, la carpe (*Cyprinus carpio* L.) et la truite arc en ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). Thèse Univ. Toulouse, 81 pp.
- BOURRIEL (C.), 1993. - Elevage expérimental de juvéniles de truite arc en ciel à différentes températures. Rapport de DIT, 29 pp.
- BOVENDEUR (J.) and A. KLAPWIJK, 1989. - Fixed-biofilm reactors in water recirculating aquaculture systems: nitrification kinetics, design criteria, and expected performance. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 2: 1061-1068.
- BOVENDEUR (J.), E.H. EDING and A.M. HENKEN, 1987. - Design and performance of a water recirculation system for high-density culture of the african catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture*, 63: 329-353.
- BOWER (C.E.) and D.T. TURNER, 1981. - Accelerated nitrification in new seawater culture systems: effectiveness of commercial additives and seed media from established systems. *Aquaculture*, 24: 1-9.
- BOWER (C.E.) and D.T. TURNER, 1984. - Evaluation of two commercial nitrification accelerators in closed seawater culture systems. *Aquaculture*, 41: 155-159.
- BOWER (C.E.) and J.P. BIDWELL, 1978. - Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 1012-1016.
- BOWSER (P.R.), W.W. FALLS, J. van ZANDT, N. COLLIER and J.D. PHILLIPS, 1983. - Methemoglobinemia in channel catfish: methods of prevention. *Prog. Fish-Cult.*, 45 (3): 154-158.
- BRETT (J.R.) and C.A. ZALA, 1975. - Daily pattern of nitrogen excretion and oxygen consumption of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) under controlled conditions. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32 (12): 2479-2486.
- BROCKSEN (R.W.) and J.P. BUGGE, 1974. - Preliminary investigations on the influence of temperature on food assimilation by rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 6: 93-97.
- BROCKWAY (D.R.), 1950. - Metabolic products and their effects. *Prog. Fish-Cult.*, 12 (3): 127-129.
- BRODERIUS (S.), R. DRUMMOND, J. FIANDT and C. RUSSOM, 1985. - Toxicity of ammonia to early life stages of the smallmouth bass at four pH values. *Environ. Toxicol. Chem.*, 4: 87-96.
- BROWN (D.A.) and D.J. Mc LEAY, 1975. - Effect of nitrite on methemoglobin and total hemoglobin of juvenile rainbow trout. *Prog. Fish-Cult.*, 37 (1): 36-38.
- BROWN (G.W.), 1970. - Some evolutionary aspects of urea biosynthesis. *Excerpta Med. Int. Cong. Series*, 195: 3-14.
- BROWN (V.M.), 1968. - The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout. *Water Res.*, 2: 723-733.

- BRUNE (D.E.) and D.C. GUNTHER, 1981. - The design of a new high rate nitrification filter for aquaculture water reuse. *J. World Maricul. Soc.*, 12 (1): 20-31.
- BRUNEL (A.), 1937 (a). - Métabolisme de l'azote d'origine purique chez les Poissons et les Batraciens. I. Catabolisme de l'azote d'origine purique chez les Sélaciens. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 19: 805-826.
- BRUNEL (A.), 1937 (b). - Métabolisme de l'azote d'origine purique chez les Poissons et chez les Batraciens. II. Catabolisme de l'azote d'origine purique chez les Téléostéens. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 19: 1027-1036.
- BUBIEN (J.K.) and T.L. MEADE, 1986. - Electrophysiological abnormalities produced by ammonium in isolated perfused brook trout, *Salvelinus fontinalis*, hearts. *J. Fish Biol.*, 28: 47-53.
- BUCKLEY (J.A.), C.M. WHITMORE and B.D. LIMING, 1979. - Effects of prolonged exposure to ammonia on the blood and liver glycogen of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 63: 297-303.
- BUCKLEY (L.J.) and D.W. DILLMANN, 1982. - Nitrogen utilization by larval summer flounder, *Paralichthys dentatus* (Linnaeus). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 59: 243-256.
- BULLOCK (G.L.) and H.M. STUCKEY, 1977. - Ultraviolet of water for destruction of five gram-negative bacteria pathogenic to fishes. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 1244-1249.
- BURKHALTER (D.E.) and C.M. KAYA, 1977. - Effects of prolonged exposure to ammonia on fertilized eggs and sac fry of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 106 (5): 470-475.
- BURROWS (R.E.) and B.D. COMBS, 1968. - Controlled environments for salmon propagation. *Prog. Fish-Cult.*, 30 (3): 123-136.
- BURROWS (R.E.), 1964. - Effects of accumulated excretory products on hatchery-reared salmonids. *Research Report*, 66: 12pp.
- BUTZ (I.) and B. VENS-CAPPELL, 1982. - Organic load from the metabolic products of rainbow trout fed with dry food. *EIFAC technical paper*, FAO, Rome, 41: 73-82.
- CALAMARI (D.), R. MARCHETTI and G. VALATI, 1981. - Effects of long-term exposure to ammonia on the developmental stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Rapp. P.-v. Réun. Cons. int. Explor. Mer*, 178: 81-86.
- CAMERON (J.N.) and N. HEISLER, 1983. - Studies of ammonia in rainbow trout: physico-chemical parameters, acid-base behaviour and respiratory clearance. *J. Exp. Biol.*, 105: 107-125.
- CAMERON (J.N.), 1971. - Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 40: 743-749.
- CAMPBELL (J.W.), P.L. ASTER and J.E. VORHABEN, 1983. - Mitochondrial ammoniogenesis in liver of the channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Am. J. Physiol.*, 244: 709-717.
- CARMIGNANI (G.M.) and J.P. BENNETT, 1977. - Rapid start-up of a biological filter in a closed aquaculture system. *Aquaculture*, 11: 85-88.
- CHAKRABORTY (S.C.), L.G. ROSS and B. ROSS, 1992. - The effect of dietary protein level and ration level on excretion of ammonia in common carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 103 (4): 801-808.
- CHAPMAN (P.M.), J.D. POPHAM, J. GRIFFIN, D. LESLIE and J. MICHAELSON, 1987. - Differentiation of physical from chemical toxicity in solid waste fish bioassays. *Water, Air and Soil Pollut.*, 33: 295-308.
- CHEN (S.), M.B. TIMMONS, D.J. ANESHANSLEY and J.J. BISOGNI, 1993. - Suspended solids characteristics from recirculating aquacultural systems and design implications. *Aquaculture*, 112: 143-155.
- CHIANG (H.C.) and J.C. LEE, 1986. - Study of treatment and reuse of aquacultural wastewater in Taiwan. *Aquacult. Eng.*, 5: 301-312.



- CHIU (Y.N.), R.E. AUSTIC and G.L. RUMSEY, 1986. - Urea cycle activity and arginine formation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, 116: 1640-1650.
- CHO (C.Y.) and B. WOODWARD, 1989. - Studies on the protein-to-energy ratio in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Proc. 11th symp. on energy metabolism*, Lunteren, Pudoc, Wageningen, EAAP Publi., 43: 37-40.
- CHO (C.Y.) and S.J. KAUSHIK, 1985. - Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets. In *Nutrition and feeding in fish*, C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell eds, Academic press, London, pp 95-117.
- CHO (C.Y.) and S.J. KAUSHIK, 1990. - Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In *Aspects of food production, consumption and energy values*, Bourne G.H. ed., *World Rev. Nutr. Diet.*, 61: 132-172.
- CHO (C.Y.) and T. WATANABE, 1986. - Dietary energy and lipid requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at different water temperatures. *Proc. 10th int. symp. on energy metabolism*, Airlie, pp 206-209.
- CHO (C.Y.), S.J. SLINGER and H.S. BAYLEY, 1982. - Bioenergetics of Salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 73 (1): 25-41.
- CHOUBERT (G.), J. de la NOÛE and P. LUQUET, 1979. - Continuous quantitative automatic collector for fish feces. *Prog. Fish-Cult.*, 41 (2): 64-67.
- CLAIBORNE (J.B.) and D.H. EVANS, 1988. - Ammonia and acid-base balance during high ammonia exposure in a marine teleost (*Myoxocephalus octodecimspinosus*). *J. Exp. Biol.*, 140: 89-105.
- CLARK (E.R.), J.P. HARMAN and J.R.M. FORSTER, 1985. - Production of metabolic and waste products by intensively farmed rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 27: 381-393.
- COCKCROFT (A.C.) and H.H. du PREEZ, 1990. - Nitrogen and energy loss in the marine teleost *Lithognathus mormyrus* (Linnaeus). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 140: 159-171.
- COLLINS (M.T.), J.B. GRATZEK, D.L. DAWE and T.G. NEMETZ, 1975 (b). - Effects of parasiticides on nitrification. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 2033-2037.
- COLLINS (M.T.), J.B. GRATZEK, D.L. DAWE and T.G. NEMETZ, 1976. - Effects of antibacterial agents on nitrification in an aquatic recirculating system. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 215-218.
- COLLINS (M.T.), J.B. GRATZEK, E.B. SCHOTTS, D.L. DAWE, L.M. CAMPBELL and D.R. SENN, 1975 (a). - Nitrification in an aquatic recirculating system. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 2025-2031.
- COLT (J.) and G. TCHOBANOGLIOUS, 1976. - Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 8: 209-224.
- COLT (J.) and G. TCHOBANOGLIOUS, 1978. - Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to ammonia: effects on growth and survival. *Aquaculture*, 15 : 353-372.
- COLT (J.), R. LUDWIG, G. TCHOBANOGLIOUS and J.J. CECH, 1981. - The effects of nitrite on the short-term growth and survival of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 24: 111-122.
- COLT (J.E.) and D.A. ARMSTRONG, 1981. - Nitrogen toxicity to crustaceans, fish, and molluscs. *Bio-Engineering Symposium for fish Culture*, FCS Publ., 1: 34-47.
- CORNELLIE (S.), L. NOTERDAEME and F. OLLEVIER, 1989. - Culture of sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in completely closed recirculation systems with artificial seawater. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 1: 125-131.
- COWEY (C.B.) and P. LUQUET, 1983. - Physiological basis of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. *IVth int. symp. protein metabolism and nutrition*, Clermont-Ferrand, France, 5-9 sept. 1983, éd. INRA Publ., 16: 365-384.

- CRAWFORD (R.E.) and G.H. ALLEN, 1977. - Seawater inhibition of nitrite toxicity to chinook salmon. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 106 (1): 105-109.
- CRIPPS (S.J.), 1991. - Comparison of methods for the removal of suspended particles from aquaculture effluents. *EAS pub.*, 14: 80-81.
- CUI (Y.) and R.J. WOOTTON, 1988. - Bioenergetics of growth of a cyprinids, *Phoxinus phoxinus*: the effect of ration, temperature and body size on food consumption, faecal production and nitrogenous excretion. *J. Exp. Biol.*, 33: 431-443.
- CVANCARA (V.A.), 1969 (a). - Comparative study of liver uricase activity in fresh-water teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 28: 725-732.
- CVANCARA (V.A.), 1969 (b). - Distribution of liver allantoinase and allantoinase activity in fresh-water teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 29: 631-638.
- CVANCARA (V.A.), 1969 (c). - Studies on tissue arginase and ureogenesis in fresh-water teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 30: 489-496.
- DABROWSKA (H.) and T. WLASOW, 1986. - Sublethal effect of ammonia on certain biochemical and haematological indicators in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 83 (1): 179-184.
- DABROWSKI (K.) and S.J. KAUSHIK, 1984. - Rearing of coregonid (*Coregonus schinzi palea* Cuv. et Val.) larvae using dry and live food. II. Oxygen consumption and nitrogen excretion. *Aquaculture*, 41: 333-344.
- DABROWSKI (K.), S.J. KAUSHIK and P. LUQUET, 1984. - Metabolic utilization of body stores during the early life of whitefish, *Coregonus lavaretus* L.. *J. Fish Biol.*, 24: 721-729.
- DANIELS (H.V.), C.E. BOYD and R.V. MINTON, 1987. - Acute toxicity of ammonia and nitrite to spotted seatrout. *Prog. Fish-Cult.*, 49: 260 - 263.
- DAOUST (P.Y.) and H.W. FERGUSON, 1983. - Gill diseases of cultured salmonids in Ontario. *Can. J. Comp. Med.*, 47: 358-362.
- DAOUST (P.Y.) and H.W. FERGUSON, 1984. - The pathology of chronic ammonia toxicity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Diseases*, 7: 199-205.
- DAVENPORT (J.) and M.D. SAYER, 1986. - Ammonia and urea excretion in the amphibious teleost *Blennius pholis* (L.) in sea-water and air. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 84 (1): 189-194.
- de GRAAF (F.), 1964. - Maintenance problems in large public aquaria. *Arch. Néerland. Zool.*, 16: 142-143.
- de VOOYS (C.G.N.), 1969. - Formation and excretion of ammonia in teleostei. II. Occurrence and transport of ammonia in the blood. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 77: 112-118.
- de VOOYS (G.G.N.), 1968. - Formation and excretion of ammonia in teleostei. I. Excretion of ammonia through the gills. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 76: 268-272.
- DELAUNAY (H.), 1929. - Sur l'excrétion azotée des poissons. *C. R. Sc. Soc. Biol. Bordeaux*, 101: 371-372.
- DEMAEL-SUARD (A.), D. GARIN, G. BRICHON, M. MURE et G. PERES, 1974. - Néoglycogénèse à partir de la glycine <sup>14</sup>C chez la tanche (*Tinca vulgaris* L.) au cours de l'asphyxie. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 47: 1023-1033.
- DENIS (W.), 1913. - Metabolism studies on cold-blooded animals. II. The blood and urine of fish. *J. Biol. Chem.*, 16: 389-393.
- DEPECHE (J.) et H. CHIAPELLO, 1977. - Cycle de l'urée et purinolyse dans les embryons et les femelles gravides du poisson téléstéen *Poecilia reticulata*. *C. R. Acad. Sc. Paris D*, 284: 2415-2418.
- DEPECHE (J.), R. GILLES, S. DAUFRESNE and H. CHIAPELLO, 1979. - Urea content and urea production via the ornithine-urea cycle pathway during the ontogenic development of two teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 63: 51-56.

- DESSART (H.), 1990. - Un nouveau procédé de restauration des lacs acides: le traitement des sédiments par des briquettes de carbonate de soude. *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances*, 140: 94-96.
- DIAB (S.) and M. SHILO, 1988. - Effect of light on the activity and survival of *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. isolates from fish ponds. *Bamidgeh*, 40 (2): 50-56.
- DICKSON (I.W.) and R.H. KRAMER, 1971. - Factors influencing scope for activity and active and standard metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 28: 587-596.
- DORSON (M.), 1982. - Nécrose pancréatique infectieuse des salmonidés: état des connaissances concernant les virus et les possibilités de lutte contre la maladie. *Bull. Fr. Piscic.*, 285: 195-209.
- DORSON (M.), 1985. - La nécrose pancréatique infectieuse des salmonidés: étude de la maladie, du virus et de la réaction de la truite. Thèse Doct. Univ. Paris VII, 92 pp.
- DOWNING (K.M.) and J.C. MERKENS, 1955. - The influence of dissolved-oxygen concentration on the toxicity of un-ionized ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Ann. appl. Biol.*, 43 (2): 243-246.
- DRIEDZIC (W.R.) and P.W. HOCHACHKA, 1978. - Metabolism in fish during exercise. In *Fish physiology*, W.S. Hoar and D.J. Randall eds, Academic press, New York, vol. 7: 503-543.
- DROUIN (H.), J. de la NOÛE and M. LAVOIE, 1989. - Activation of a nitrifying biofilter using a pH controller. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 2: 1069.
- DURBIN (E.G.) and A.G. DURBIN, 1981. - Assimilation efficiency and nitrogen excretion of a filter-feeding planktivore, the atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus* (Pisces: Clupeidae). *Fish. Bull.*, 79 (4): 601-616.
- ECHEVARRIA (G.), N. ZARAUZ, J. LOPEZ-RUIZ and S. ZAMORA, 1993. - Study of nitrogen excretion in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): influence of nutritional state. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 105 (1): 17-19.
- EDDY (F.B.) and E.M. WILLIAMS, 1987. - Nitrite and freshwater fish. *Chem. Ecol.*, 3: 1-38.
- EDDY (F.B.), P.A. KUNZLIK and R.N. BATH, 1983. - Uptake and loss of nitrite from the blood of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and atlantic salmon, *Salmo salar* L. in fresh water and in dilute sea water. *J. Fish. Biol.*, 23: 105-116.
- EIFAC, 1971. - Critère de qualité des eaux pour les poissons d'eau douce européens. Rapport sur l'ammoniac et les pêches intérieures. *Papier technique*, 11: 13pp.
- EIFAC, 1984. - Water quality criteria for european freshwater fish. Report on nitrite and freshwater fish. *Technical paper*, 46: 19pp.
- EIKEBROKK (B.), 1990. - Design and performance of the Biofish water recirculation system. *Aquacult. Eng.*, 9: 285-294.
- ELLIOTT (J.M.), 1976. - Energy losses in the waste products of brown trout (*Salmo trutta* L.). *J. Anim. Ecol.*, 45: 561-580.
- ELLIOTT (J.M.), 1979. - Energetics of freshwater teleosts. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 44: 29-61.
- EMERSON (K.), R.C. RUSSO, R.E. LUND and R.V. THURSTON, 1975. - Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32 (12): 2379-2383.
- ERICKSON (R.J.), 1985. - An evaluation of mathematical models for the effects of pH and temperature on ammonia toxicity to aquatic organisms. *Water Res.*, 19 (8): 1047-1058.
- ESCALIER (G.), 1976. - Purification bactériologique des eaux par rayons ultra-violet: application à l'aquariophilie. *Rev. fr. Aquariol.*, 3 (1): 37-41.
- EVANS (D.H.) and J.N. CAMERON, 1986. - Gill ammonia transport. *J. Exp. Zool.*, 239: 17-23.

- EVANS (D.H.) and K.J. MORE, 1988. - Modes of ammonia transport across the gill epithelium of the dogfish pup (*Squalus acanthias*). *J. Exp. Biol.*, 138: 375-397.
- EVANS (D.H.), 1977. - Further evidence for Na/NH<sub>4</sub> exchange in marine teleost fish. *J. Exp. Biol.*, 70: 213-220.
- EVANS (D.H.), 1980. - Kinetic studies of ion transport by fish gill epithelium. *Am. J. Physiol.*, 238: 224-230.
- EVANS (D.H.), K.J. MORE and S.L. ROBBINS, 1989. - Modes of ammonia transport across the gill epithelium of the marine teleost fish *Opsanus beta*. *J. Exp. Biol.*, 144: 339-356.
- FAUCONNEAU (B.), G. CHOUBERT, D. BLANC, J. BREQUE and P. LUQUET, 1983. - Influence of environmental temperature on flow rate of foodstuffs through the gastrointestinal tract of rainbow trout. *Aquaculture*, 34: 27-39.
- FEDOROV (K.Y.) and Z.V. SMIRNOVA, 1978. - Dynamics of ammonia accumulation and its effect on the development of the pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, in closed circuit incubation systems. *J. Ichthyology*, 78: 288-295.
- FINN (R.N.), H.J. FYHN and M.S. EVJEN, 1991. - Respiration and nitrogen metabolism of atlantic halibut eggs (*Hippoglossus hippoglossus*). *Mar. Biol.*, 108: 11-19.
- FISCHER (Z.), 1976. - Nitrogen conversion in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 23 (2): 309-326.
- FISCHER (Z.), 1977. - Nitrogen changes in starved eel (*Anguilla anguilla* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 24 (2): 289-298.
- FIVELSTAD (S), J.M. THOMASSEN, M.J. SMITH, H. KJARTANSSON and A. SANDØ, 1990. - Metabolite production rates from atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) reared in single pass land-based brackish water and sea-water systems. *Aquacult. Eng.*, 9: 1-21.
- FLIS (J.), 1968 (a). - Anatomicohistopathological changes induced in carp (*Cyprinus carpio* L.) by ammonia water. I. Effects of toxic concentrations. *Acta Hydrobiol.*, 10 (1-2): 203-224.
- FLIS (J.), 1968 (b). - Anatomicohistopathological changes induced in carp (*Cyprinus carpio* L.) by ammonia water. II. Effects of subtoxic concentrations. *Acta Hydrobiol.*, 10 (1-2): 225-235.
- FLORKIN (M.), 1965. - Les produits terminaux du métabolisme azoté des animaux. Aspects écologiques et aspects phylogéniques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 47 (12): 2191-2205.
- FONTAINE (P), 1989. - Contribution à la mise au point d'un procédé d'élevage en eau recyclée: application à la carpiculture intensive. Mémoire de DEA, INPL, 76pp.
- FONTAINE (Y.A.), 1969. - Le catabolisme des protéines dans le règne animal, *G. M. de France*, 76 (4): 757-772.
- FORSBERG (J.A.) and R.C. SUMMERFELT, 1992. - Effect of temperature on diel ammonia excretion of fingerling walleye. *Aquaculture*, 102: 115-126.
- FORSTER (J.R.M.), 1974. - Studies on nitrification in marine biological filters. *Aquaculture*, 4: 387-397.
- FORSTER (R.P.) and L. GOLDSTEIN, 1969. - Formation of excretory products. In *Fish physiology*, W.S. Hoar and D.J. Randall eds, Academic press, New York, vol. 1: 313-350.
- FOUNDATION FOR WATER RESEARCH, 1993. - Effects of ammonia on fish phase II. Final report, 2pp.
- FREEMAN (L.), T.L. BEITINGER and D.W. HUEY, 1983. - Methemoglobin reductase activity in phylogenetically diverse piscine species. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 75 (1): 27-30.
- FRENCH (C.J.), T.P. MOMMSEN and P.W. HOCHACHKA, 1981. - Amino acid utilisation in isolated hepatocytes from rainbow trout. *Eur. J. Biochem.*, 113: 311-317.

- FRIDMAN (A.L.), 1981. - Recirculation systems in eastern europe. *Proc. World Symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 2: 317-327.
- FROM (J.) and G. RASMUSSEN, 1984. - A growth model, gastric evacuation, and body composition in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, 1836. *Dana*, 3: 61-139.
- FROMM (P.O.) and J.R. GILLETTE, 1968. - Effect of ambient ammonia on blood ammonia and nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 26: 887-896.
- FROMM (P.O.), 1963. - Studies on renal and extra-renal excretion in a freshwater teleost, *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 10: 121-128.
- GAINO (E.), A. ARILLO and P. MENSI, 1984. - Involvement of the gill chloride cells of trout under acute nitrite intoxication. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 77 (4): 611-617.
- GALLAGHER (M.L.) and A.M. MATTHEWS, 1987. - Oxygen consumption and ammonia excretion of the american eel *Anguilla rostrata* fed diets with varying protein energy ratios and protein levels. *J. World Aquaculture Soc.*, 18 (2): 107-112.
- GARCIA (M.), S. ZAMORA and M.A. LOPEZ, 1981. - The influence of partial replacement of protein by fat in the diet on protein utilization by the rainbow trout (*Salmo gairdnerii*). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 68: 457-460.
- GERKING (S.D.), 1952. - The protein metabolism of sunfishes of different ages. *Physiol. Zool.*, 25: 358-372.
- GERKING (S.D.), 1955 (a). - Endogenous nitrogen excretion of bluegill sunfish. *Physiol. Zool.*, 28: 283-289.
- GERKING (S.D.), 1955 (b). - Influence of rate of feeding on body composition and protein metabolism of bluegill sunfish. *Physiol. Zool.*, 28 (4): 267-282.
- GERKING (S.D.), 1971. - Influence of rate of feeding and body weight on protein metabolism of bluegill sunfish. *Physiol. Zool.*, 44: 9-19.
- GIJS KUENEN (J.) and L.A. ROBERTSON, 1987. - Ecology of nitrification and denitrification. In *The nitrogen and sulphur cycles*, J.A. Cole and S.J. Ferguson, Cambridge university press, pp 161-218.
- GOLDSTEIN (L.) and R.P. FORSTER, 1961. - Source of ammonia excreted by the gills of the marine teleost, *Myoxocephalus scorpius*. *Am. J. Physiol.*, 200: 1116-1118.
- GOLDSTEIN (L.) and R.P. FORSTER, 1970. - Nitrogen metabolism in fishes. In *Comparative biochemistry of nitrogen metabolism*, J.W. Campbell ed., Academic press, New York, vol. 2, chap. 10: 495-518
- GOLDSTEIN (L.) and R.P. FORSTER, 1971. - Urea biosynthesis and excretion in freshwater and marine elasmobranchs. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 39: 415-421.
- GOLDSTEIN (L.), 1972. - Adaptation of urea metabolism in aquatic vertebrates. In *Nitrogen metabolism and the environment*, ed. J.W. Campbell and L. Goldstein, Academic press, New York: 55-77.
- GOLDSTEIN (L.), J.B. CLAIBORNE and D.E. EVANS, 1982. - Ammonia excretion by the gills of two marine teleost fish: the importance of  $\text{NH}_4^+$  permeance. *J. Exp. Zool.*, 219: 395-397.
- GOLDSTEIN (L.), R.P. FORSTER and G.M.J. FANELLI, 1964. - Gill blood flow and ammonia excretion in the marine teleost, *Myoxocephalus scorpius*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 12: 489-499.
- GRABDA (E.), T. EINSZPORN-ORECKA, C. FELINSKA and R. ZBANYSZEK, 1974. - Experimental methemoglobinemia in rainbow trout. *Acta Ichthyologica Piscatoria*, 4 (2): 43-71.
- GRINDLEY (J.), 1945. - Toxicity to rainbow trout and minnows of some substances known to be present in waste water discharged to rivers. *Ann. Appl. Biol.*, 33: 103-112.

- GROLLMAN (A.), 1929. - The urine of the goosfish (*Lophius piscatorius*): its nitrogenous constituents with special reference to the presence in it of trimethylamine oxide. *J. Biol. Chem.*, 81: 267-278.
- GUERIN-ANCEY (O.), 1976 (a). - Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. II. Effets du jeûne sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. *Aquaculture*, 9: 187-194.
- GUERIN-ANCEY (O.), 1976 (b). - Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. I. Effets de la température et du poids du corps sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. *Aquaculture*, 9: 71-80.
- GUERIN-ANCEY (O.), 1976 (c). - Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. III. Effets du volume et de la concentration initiale en ammoniac sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. *Aquaculture*, 9: 253-258.
- GUERIN-ANCEY (O.), 1976 (d). - Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. IV. Effets de la manipulation et du MS-222 Sandoz sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. *Aquaculture*, 9: 367-372.
- GUILLEN (J.L.), M. ENDO, J.F. TURNBULL, H. KAWATSU, R.H. RICHARDS and T. AOKI, 1993. - Depressed growth rate and damage to the cartilage of red sea bream larvae associated with exposure to ammonia. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (7): 1231-1234.
- HAAG (W.R.), J. HOIGNE and H. BADER, 1984. - Improved ammonia oxidation by ozone in the presence of bromide ion during water treatment. *Water Res.*, 18 (9): 1125-1128.
- HAMPSON (B.L.), 1976. - Ammonia concentration in relation to ammonia toxicity during a rainbow trout rearing experiment in a closed freshwater-seawater system. *Aquaculture*, 9: 61-70.
- HANAKI (K.), C. WANTAWIN and S. OHGAKI, 1990. - Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Water Res.*, 24 (3): 297-302.
- HANDY (R.D.) and M.G. POXTON, 1993. - Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 3: 205-241.
- HANSON (L.A.) and J.M. GRIZZLE, 1985. - Nitrite-induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. *Prog. Fish-Cult.*, 47 (2): 98-101.
- HARADER (R.R.) and G.H. ALLEN, 1983. - Ammonia toxicity to chinook salmon parr: reduction in saline water. *Trans. Amer. Fish Soc.*, 112: 834-837.
- HASAN (M.R.) and D.J. MACINTOSH, 1986. - Effect of chloride concentration on the acute toxicity of nitrite to common carp, *Cyprinus carpio* L., fry. *Aquaculture Fish. Manage.*, 17: 19-30.
- HAUG (R.T.) and P.L. Mc CARTY, 1972. - Nitrification with submerged filters. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 44 (11): 2086-2102.
- HAYWOOD (G.P.), 1983. - Ammonia toxicity in teleost fishes: a review. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1177: 35 pp.
- HAZEL (C.R.), W. THOMSEN and S.J. MEITH, 1971. - Sensivity of striped bass and stickleback to ammonia in relation to temperature and salinity. *Calif. Fish and Game*, 57 (3): 154-161.
- HEINSBROEK (L.T.N.) and A. KAMSTRA, 1990. - Design and performance of water recirculation systems for eel culture. *Aquacult. Eng.*, 9: 187-207.
- HEISLER (N.), 1990. - Mechanisms of ammonia elimination in fishes. In *Animal nutrition and transport processes*. 2. Transport, respiration and excretion: comparative and environmental aspects. J.P. Truchot and B. Lahlou eds, vol. 6: 137-151.
- HEMPEL (E.), 1993. - Constraints and possibilities for developing aquaculture. *Aquaculture International*, 1: 2-19.

- HENDERSON (J.P.) and N.R. BROMAGE, 1988. - Optimising the removal of suspended solids from aquacultural effluents in settlement lakes. *Aquacult. Eng.*, 7: 167-181.
- HERBERT (D.W.M.) and D.S. SHURBEN, 1965. - The susceptibility of salmonid fish to poisons under estuarine conditions. II. Ammonium chloride. *Int. J. Air Wat. Pollut.*, 9: 89-91.
- HILGE (V.) and U.V. RAKELMANN, 1984. - Laboratory scale experiments on the nitrification of fish tank effluent in a fixed film bed reactor. In *Research on aquaculture*, H. Rosenthal and S. Sarig eds, EAS pub., 8: 55-66.
- HILLABY (B.A.) and D.J. RANDALL, 1979. - Acute ammonia toxicity and ammonia excretion in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 36: 621-629.
- HILTON (J.W.) and J.L. ATKINSON, 1982. - Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. *Br. J. Nutr.*, 47: 597-607.
- HILTON (J.W.), C.Y. CHO and S.J. SLINGER, 1981. - Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption, and the physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 25: 185-194.
- HIRAYAMA (K.), 1965. - Studies on water control by filtration through sand bed in a marine aquarium with closed circulating system. I. Oxygen consumption during filtration as an index in evaluating the degree of purification of breeding water. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 31 (12): 977-982.
- HIRAYAMA (K.), 1974. - Water control by filtration in closed culture systems. *Aquaculture*, 4: 369-385.
- HOAR (W.S.), 1958. - Effects of synthetic thyroxine and gonadal steroids on the metabolism of goldfish. *Can. J. Zool.*, 36: 113-121.
- HOFER (R.) and E. GATUMU, 1994. - Necrosis of trout retina (*Oncorhynchus mykiss*) after sublethal exposure to nitrite. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26: 119-123.
- HOKANSON (K.E.F.), C.F. KLEINER and T.W. THORSLUND, 1977. - Effects of constant temperatures and diel temperature fluctuations on specific growth and mortality yield of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 639-648.
- HOLETON (F.G.), P. NEUMANN and N. HEISLER, 1983. - Branchial ion exchange and acid-base regulation after strenuous exercise in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Respir. Physiol.*, 51: 303-318.
- HOLT (G.J.) and C.R. ARNOLD, 1983. - Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. *Trans. Amer. Fish Soc.*, 112: 314-318.
- HOOPER (A.B.), 1989. - Biochemistry of the nitrifying lithoautotrophic bacteria. In *Autotrophic bacteria*, H.G. Schlegel and B. Bowien eds, Science tech. pub., Madison, Wisconsin, chap. 13: 239-265.
- HOOSE (K.V.) and J.G. RILEY, 1991. - A recirculating seawater system for salmon research. In *Aquaculture systems engineering*, ASAE pub., 2: 128-138.
- HOVGAARD (P.), 1993. - A simple light regime for successful smoltification of 0+ salmon in heated and recirculated water. *EAS pub.*, 19: 386.
- HUEY (D.W.) and T.L. BEITINGER, 1982. - A methemoglobin reductase system in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Can. J. Zool.*, 60: 1511-1513.
- HUEY (D.W.), B.A. SIMCO and D.W. CRISWELL, 1980. - Nitrite-induced methemoglobin formation in channel catfish. *Trans. Amer. Fish Soc.*, 109: 558-562.
- HUGGINS (A.K.), G. SKUTSCH and E. BALDWIN, 1969. - Ornithine-urea cycle enzymes in teleostean fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 28: 587-602.
- HYNES (R.K.) and R. KNOWLES, 1983. - Inhibition of chemoautotrophic nitrification by sodium chlorate and sodium chlorite: a reexamination. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45 (4): 1178-1182.

- INABA (D.), C. OGINO, C. TAKAMATSU, S. SUGANO and H. HATA, 1962. - Digestibility of dietary components in fishes. I. Digestibility of dietary proteins in rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sc. Fish.*, 28 (3): 367-371.
- INFANTE (O.), 1974. - Untersuchung über die Stickstoffexkretion junger Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) im Hunger und bei Fütterung. *Arch. Hydrobiol./suppl.* 47, 2: 239-281.
- IUCHI (I.), 1973. - Chemical and physiological properties of the larval and the adult hemoglobins in rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 44: 1087-1101.
- IWATA (K.), 1970. - Relationship between food and growth in young crucian carp, *Carassius auratus cuvieri*, as determined by the nitrogen balance. *Jpn. J. Limn.*, 31: 129-151.
- IWATA (K.), 1988. - Nitrogen metabolism in the mudskipper *Perioththalmus cantonensis*: changes in free amino acids and related compounds in various tissues under conditions of ammonia loading, with special reference to its high ammonia tolerance. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 91 (3): 499-508.
- IWATA (K.), S. CHEN, X. LIU and T. MIURA, 1990. - Estimation of ingestion rates of silver and bighead carp using nitrogen balance method. *Jpn. J. Limnol.*, 51 (2): 89-99.
- JANICKI (R.) and J. LINGIS, 1970. - Mechanism of ammonia production from aspartate in teleost liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 37: 101-105.
- JANSSENS (P.A.) and P.P. COHEN, 1968. - Nitrogen metabolism in the african lungfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 24: 879-886.
- JAYAMOHAN (S.), S. OHGAKI and K. HANAKI, 1988. - Effects of DO on kinetics of nitrification. *Water Supply*, 6: 141-150.
- JAYARAM (M.G.) and F.W.H. BEAMISH, 1992. - Influence of dietary protein and lipid on nitrogen and energy losses in lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 2267-2272.
- JENSEN (F.B.), 1990. - Nitrite and red cell function in carp: control factors for nitrite entry, membrane potassium ion permeation, oxygen affinity and methaemoglobin formation. *J. Exp. Biol.*, 152: 149-166.
- JENSEN (F.B.), N.A. ANDERSEN and N. HEISLER, 1987. - Effects of nitrite exposure on blood respiratory properties, acid-base and electrolyte regulation in the carp (*Cyprinus carpio*). *J. Comp. Physiol. B*, 157: 533-541.
- JESPERSEN (T.), 1989. - Eel farming in an indoor recirculating system: technical, biological, and economical aspects. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 1: 185-196.
- JHA (B.S.) and S. PANDEY, 1989. - Histopathological lesions induced by lead nitrate in the stomach of the air-breathing teleost *Channa punctatus*. *Environ. Ecol.*, 7 (3): 721-723.
- JOBLING (M.), 1981. - Some effects of temperature, feeding and body weight on nitrogenous excretion in young plaice *Pleuronectes platessa* L.. *J. Fish Biol.*, 18: 87-96.
- JOBLING (M.), 1983. - Effect of feeding frequency on food intake and growth of arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J. Fish. Biol.*, 23: 177-185.
- JOHNSEN (F.) and A. WANDSVIK, 1991. - The impact of high energy diets on pollution control in the fish farming industry. In *Nutritional strategies and aquaculture waste*, C.B. Cowey and C.Y. Cho eds, chap. 4: 51-63.
- JOHNSEN (F.), M. HILLESTAD and E. AUSTRENG, 1991. - High energy diets for atlantic salmon. Effects on pollution. IV. *International symposium on fish nutrition and feeding*, june 24-27, 1991, Biarritz, France, 9 pp.
- JOHNSON (P.W.) and J. McN. SIEBURTH, 1974. - Ammonia removal by selective ion exchange, a backup system for microbiological filters in closed-system aquaculture. *Aquaculture*, 4: 61-68.
- KAISER (G.E.) and F.W. WHEATON, 1983. - Nitrification filters for aquatic culture systems: state of the art. *J. World Maricul. Soc.*, 14: 302-324.



- KAUSHIK (S.) et P. LUQUET, 1976. - Etude de la digestibilité des acides aminés de régimes à base de zéine chez la truite arc en ciel. *Ann. Hydrobiol.*, 7 (1): 11-19.
- KAUSHIK (S.J.) and A. de OLIVIA TELES, 1985. - Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. *Aquaculture*, 50: 89-101.
- KAUSHIK (S.J.) and K. DABROWSKI, 1983 (a). - Postprandial metabolic changes in larval and juvenile carp (*Cyprinus carpio*). *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 23 (2 A): 223-234.
- KAUSHIK (S.J.) and K. DABROWSKI, 1983 (b). - Nitrogen and energy utilization in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) fed casein, amino acids or a protein-free diet. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 23 (4): 741-754.
- KAUSHIK (S.J.), 1977. - Influence de la salinité sur le métabolisme azoté et le besoin en arginine chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* R.). Thèse Univ. Brest, 230 pp.
- KAUSHIK (S.J.), 1980. - Influence of nutritional status on the daily patterns of nitrogen excretion in the carp (*Cyprinus carpio* L.) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 20 (6): 1751-1765.
- KAUSHIK (S.J.), 1981. - Influence of a rise in temperature on the nitrogen excretion of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Proc. world symp. on heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. I: 77-89.
- KAUSHIK (S.J.), 1983. - Le bilan azoté chez le poisson. *Ichthyophysiologicala acta*, 7: 89-113.
- KAUSHIK (S.J.), B. FAUCONNEAU and J.M. BLANC, 1984. - A study of nitrogen excretion and oxygen consumption in five half-sib families of rainbow trout. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 24 (4): 431-438.
- KAUSHIK (S.J.), K. DABROWSKI and P. LUQUET, 1982. - Patterns of nitrogen excretion and oxygen consumption during ontogenesis of common carp (*Cyprinus carpio*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 1095-1105.
- KAWAI (A.), Y. YOSHIBA and M. KIMATA, 1964. - Biochemical studies on the bacteria in the aquarium with a circulating system. I. Changes of the qualities of breeding water and bacterial population of the aquarium during fish cultivation. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 30 (1): 55-62.
- KAWAI (A.), Y. YOSHIBA and M. KIMATA, 1965. - Biochemical studies on the bacteria in the aquarium with a circulating system. II. Nitrifying activity of the filter-sand. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 31 (1): 65-71.
- KAWAMOTO (N.Y.), 1961. - The influence of excretory substances of fishes on their own growth. *Prog. Fish-Cult.*, 23 (2): 70-75.
- KENTOURI (M.), P. DIVANACH, N. PAPANDROULAKIS and S. STEFANAKIS, 1993. - Biological performance of intensively reared sea bream (*Sparus aurata*) larvae in a pilot closed system. *EAS pub.*, 19: 396.
- KERSTETTER (T.H.) and M. KEELER, 1976. - On the interaction of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{Na}^+$  fluxes in the isolated trout gill. *J. Exp. Biol.*, 64: 517-527.
- KLONTZ (G.W.), B.C. STEWART and D.W. EIB, 1985. - On the etiology and pathophysiology of environmental gill disease in juvenile salmonids. In *Fish and Shellfish Pathology*, A.E. Ellis ed., Academic press, London, chap. 20: 199-210.
- KNEPP (G.L.) and G.F. ARKIN, 1973. - Ammonia toxicity levels and nitrate tolerance of channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, 35 (4): 221-224.
- KNOWLES (G.), A.L. DOWNING and M.J. BARRETT, 1965. - Determination of kinetic constants for nitrifying bacteria in mixed culture, with the aid of an electronic computer. *J. Gen. Microbiol.*, 38: 263-278.
- KOBAYASHI (T.), H. YOTSUMOTO, T. OZAWA and H. KAWAHARA, 1993. - Closed circulatory system for mariculture using ozone. *Ozone Sc. Eng.*, 15: 311-330.
- KOILLER (M.) and R.R. AVTALION, 1985. - A laboratory scale recycling water unit for tilapia breeding. *Aquacult. Eng.*, 4: 235-246.

- KONIKOFF (M.), 1975. - Toxicity of nitrite to channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, 37 (2): 96-98.
- KORSGAARD (B.), 1994. - Nitrogen distribution and excretion during embryonic post-yolk sac development in *Zoarcetes viviparus*. *J. Comp. Physiol. B*, 164: 42-46.
- KOSHIO (S.), S. TESHIMA, A. KANAZAWA and T. WATASE, 1993. - The effect of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenile huruma prawns, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 113: 101-114.
- KROGH (A.), 1938. - The active absorption of ions in some freshwater animals. *Z. Vergl. Physiol.*, 25: 335-350.
- KROM (M.D.), C. PORTER and H. GORDIN, 1985. - Causes of fish mortalities in semi-intensively operated seawater ponds in Eilat, Israel. *Aquaculture*, 49: 159-177.
- KROUS (S.R.), V.S. BLAZER and T.L. MEADE, 1982. - Effect of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: the role of "chloride cells". *Prog. Fish-Cult.*, 44 (3): 126-130.
- KRÜNER (G.) and H. ROSENTHAL, 1984. - Start-up phase of a biological filter using two substrates. In *Research on aquaculture*, H. Rosenthal and S. Sarig eds, EAS pub., 8: 67-68.
- KUTTY (M.N.), 1972. - Respiratory quotient and ammonia excretion in *Tilapia mossambica*. *Mar. Biol.*, 16: 126-133.
- KUTTY (M.N.), 1978. - Ammonia quotient in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Fish. Res. Board. Can.*, 35: 1003-1005.
- LANG (T.), G. PETERS, R. HOFFMANN and E. MEYER, 1987. - Experimental investigations on the toxicity of ammonia: effects on ventilation frequency, growth, epidermal mucous cells, and gill structure of rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Disease aquat. Org.*, 3: 159-165.
- LARMOYEUX (J.D.) and R.G. PIPER, 1973. - Effects of water reuse on rainbow trout in hatcheries. *Prog. Fish-Cult.*, 35 (1): 2-8.
- le GROW (S.M.) and F.W.H. BEAMISH, 1986. - Influence of dietary protein and lipid on apparent heat increment of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 19-25.
- LEE (D.J.) and G.B. PUTNAM, 1973. - The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. *J. Nutr.*, 103: 916-922.
- LELONG (D.), 1987. - Etude quantitative du bilan azoté chez le poisson en conditions expérimentales. *Ann. Inst. Michel Pacha*, 14-15: 19-28.
- LESEL (R.), 1979. - Etude de la nitrification dans les circuits d'eau recyclée. II. Dynamique des microflores bactériennes. *Bull. Cent. Etud. Rech. sci. Biarritz*, 12 (4): 651-680.
- LEVI (G.), G. MORISI, A. COLETTI and R. CATANZARO, 1974. - Free amino acids in fish brain: normal levels and changes upon exposure to high ammonia concentrations *in vivo*, and upon incubation of brain slices. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 49: 623-636.
- LEWIS (W.M.) and D.P. MORRIS, 1986. - Toxicity of nitrite to fish: a review. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 115 (2): 183-195.
- LI (M.) and R.T. LOVELL, 1992. - Effect of dietary protein concentration on nitrogenous waste in intensively fed catfish ponds. *J. World Aquaculture Soc*, 23 (2): 122-127.
- LIAO (P.B.) and R.D. LIAO, 1972. - Salmonid hatchery water reuse systems. *Aquaculture*, 1: 317-335.
- LIAO (P.B.) and R.D. MAYO, 1974. - Intensified fish culture combining water reconditioning with pollution abatement. *Aquaculture*, 3: 61-85.
- LIAO (P.B.), 1970 (a). - Pollution potential of salmonid fish hatcheries. *Water Sewage Works* 117 (8): 291-297.
- LIAO (P.B.), 1970 (b). - Salmonid hatchery wastewater treatment. *Water Sewage Works*, 117 (12): 439-443.

- LIAO (P.B.), 1981. - Treatment units used in recirculation systems for intensive aquaculture. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 1: 183-197.
- LIED (E.) and B. BRAATEN, 1984. - The effect of feeding and starving, and different ratios of protein energy to total energy in the feed on the excretion of ammonia in atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol. A*, 78 (1): 49-52.
- LILTVED (H.) and B. LANDFALD, 1991. - Inactivation of two bacterial fish pathogens by ultraviolet radiation and recovery by subsequent treatment with visible light. *EAS pub.*, 19: 405.
- LINDMARK (G.K.), 1982. - Acidified lakes: sediment treatment with sodium carbonate - a remedy? *Hydrobiologia*, 92: 537-547.
- LINDMARK (G.K.), 1984. - Acidified lakes: ecosystem response following sediment treatment with sodium carbonate. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, 22: 772-779.
- LIU (Y.) and B. CAPDEVILLE, 1994. - Some observations on free ammonia inhibition to *Nitrobacter* in nitrifying biofilm reactor. *Biotechnol. lett.*, 16 (3): 309-314.
- LLOYD (R.) and D.W.M. HERBERT, 1960. - The influence of carbon dioxide on the toxicity of un-ionized ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson). *Ann. appl. Biol.*, 48 (2): 399-404.
- LLOYD (R.) and L.D. ORR, 1969. - The diuretic response by rainbow trout to sub-lethal concentrations of ammonia. *Water Res.*, 3: 335-344.
- LLOYD (R.), 1961. - Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson). *J. Exp. Biol.*, 38: 447-455.
- LO (K.V.) and P.H. LIAO, 1993. - Treatment of hatchery wastewater by a sequencing batch reactor process. *Aquacult. Eng.*, 12: 191-202.
- LOSORDO (T.M.), 1991. - Engineering considerations in closed recirculating systems. In *Aquaculture systems engineering*, ASAE pub., 2: 58-69.
- LUCHETTI (G.L.) and G.A. GRAY, 1988. - Water reuse system: a review of principal components. *Prog. Fish-Cult.*, 50 (1): 1-6.
- MAETZ (J.) and F. GARCIA-ROMEU, 1964. - The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish, *Carassius auratus*. II. Evidence of  $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$  and  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  exchanges. *J. Gen. Physiol.*, 47: 1209-1227.
- MAETZ (J.), 1971. - Fish gills: mechanisms of salt transfer in fresh water and sea water. *Phil. Trans. Roy. Lond. B.*, 262: 209-249.
- MAETZ (J.), 1972. - Branchial sodium exchange and ammonia excretion in the goldfish *Carassius auratus*. Effects of ammonia-loading and temperature changes. *J. Exp. Biol.*, 56: 601-620.
- MAETZ (J.), 1973. -  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanges and  $\text{NH}_3$  movement across the gill of *Carassius auratus*. *J. Exp. Biol.*, 58: 255-275.
- MAISSE (G.) et M. DORSON, 1981. - La désinfection de l'eau par les rayons ultra-violet. *La pisciculture française*, 64 : 29-31.
- MAISSE (G.), M. DORSON et C. TORCHY, 1980. - Inactivation de deux virus pathogènes pour les Salmonidés (virus de la nécrose pancréatique infectieuse et de la septicémie hémorragique virale) par les rayons ultraviolets. *Bull. Fr. Piscic.*, 278: 34-40.
- MAKAREWICZ (W.) and M. ZYDOWO, 1962. - Comparative studies on some ammonia-producing enzymes in the excretory organs of vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 6: 269-275.
- MÄKINEN (T.), S. LINDGREN and P. ESKELINEN, 1988 - Sieving as an effluent treatment method for aquaculture. *Aquacult. Eng.*, 7: 367-377.
- MØLLER (D.) and Ø. BJERK, 1981. - Smolt production in a recirculation system in northern Norway. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 2: 415-429.

- MANTHE (D.P.) and R.F. MALONE, 1987. - Chemical addition for accelerated biological filter acclimation in closed blue crab shedding systems. *Aquacult. Eng.*, 6: 227-236.
- MANTLE (G.J.), 1982. - Biological and chemical changes associated with the discharge of fish-farm effluent. *EIFAC technical paper*, FAO, Rome, 41 (10): 103-112.
- MARGIOCCO (C.), A. ARILLO, P. MENSI and G. SCHENONE, 1983. - Nitrite bioaccumulation in *Salmo gairdneri* Rich. and hematological consequences. *Aquat. Toxicol.*, 3: 261-270.
- MARSHALL (K.C.), R. STOUT and R. MITCHELL, 1971. - Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J. Gen. Microbiol.*, 68: 337-348.
- MARSTALLER (T.), J.A. OLESZKIEWCZ and D.M. Mc CARTNEY, 1992. - Effects of chlorination on nitrification. *Environ. Toxicol.*, 13: 1077-1084.
- MARTIN (G.), 1979. - Le problème de l'azote dans les eaux. Edition Technique et documentation, Lavoisier, 279 pp.
- MARTY (G.D.), J.J. CECH and D.E. HINTON, 1990. - Effect of incubation temperature on oxygen consumption and ammonia production by japonese medaka, *Oryzias latipes*, eggs and newly hatched larvae. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9: 1397-1403.
- MAUREL (P.), 1983. - Les circuits fermés en aquaculture: technologie et domaines d'application. *La pisciculture française*, 71: 5-17.
- MAYO (R.D.), 1981. - Recirculation systems in northern america. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 2: 329-342.
- Mc BEAN (R.L.), M.J. NEPPEL and L. GOLDSTEIN, 1966. - Glutamate dehydrogenase and ammonia production in the eel (*Anguilla rostrata*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 18: 909-920.
- Mc CARTHY (J.J.) and T.E. WHITLEDGE, 1972. - Nitrogen excretion by anchovy (*Engraulis mordax* and *E. ringens*) and jack mackerel (*Trachurus symmetricus*). *Fish. Bull.*, 70 (2): 395-401.
- Mc CARTY (J.C.) and G.M. CARMIGNANI, 1975. - Procédé d'accélération de l'établissement de l'activité de nitrification dans un filtre biologique. Brevet N° 76 01916, 16 pp.
- Mc CAULEY (R.W.) and W.L. POND, 1971. - Temperature selection of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings in vertical and horizontal gradients. *J. Fish. Res. Board Can.*, 28: 1801-1804.
- Mc CRIMMON (H.R.) and A.H. BERST, 1966. - A water recirculation unit for use in fishery laboratories. *Prog. Fish-Cult.*, 28 (3): 165-170.
- Mc KAY (K.T.) and W. van TOEVER, 1981. - An ecological approach to a water recirculating system for salmonids: preliminary experience. *Bio-engineering symposium for fish culture*, FCS pub., 1: 249-258.
- MEADE (J.W.), 1985. - Allowable ammonia for fish culture. *Prog. Fish-Cult.*, 47 (3): 135-145.
- MEADE (T.L.) and S.J. PERRONE, 1980. - Effect of chloride ion concentration and pH on the transport of nitrite across the gill epithelia of coho salmon. *Prog. Fish-Cult.*, 42 (2): 71-72.
- MEDALE (F.), 1985. - Influence d'une réduction du taux de l'oxygène de l'eau pendant une période prolongée, sur certains aspects du métabolisme chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). Thèse Doct. Univ. Toulouse, 112 pp.
- MEDALE (F.), J.P. PARENT et F. VELLAS, 1985. - Effet d'une réduction de l'oxygénation de l'eau sur l'excrétion d'ammoniaque chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). *Revue française des Sciences de l'Eau*, 4: 341-347.
- MEHRLE (P.M.) and R.A. BLOOMFIELD, 1974. - Ammonia detoxifying mechanisms of rainbow trout altered by dietary dieldrin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 27: 355-365.

- MILLER (D.C.), S. POUCHER, J.A. CARDIN and D. HANSEN, 1990. - The acute and chronic toxicity of ammonia to marine fish and a mysid. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19 (1): 40-48.
- MINISTRY OF TECHNOLOGY, 1967. - Effects of pollution on fish. Water pollution research, HMSO, London, 56-65.
- MITCHELL (S.J.) and J.J. CECH, 1983. - Ammonia-caused gill damage in channel catfish (*Ictalurus punctatus*): confounding effects of residual chlorine. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40: 242-247.
- MOMMSEN (T.B.) and P.J. WALSH, 1991. - Urea synthesis in fishes: evolutionary and biochemical perspectives. In *Biochemistry and molecular biology of fishes*, P.W. Hochachka and T.B. Mommsen eds, vol. 1, chap. 6: 137-163.
- NICOLAS (F.), 1979. - Circuits fermés et recyclage: éléments de conception. Rapport CTGREF, 30 pp.
- NIJHOF (M.) and J. BOVENDEUR, 1990. - Fixed film nitrification characteristics in seawater recirculation fish culture systems. *Aquaculture*, 87: 133-143.
- NOSE (T.), 1967. - On the metabolic fecal nitrogen in young rainbow trout. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, 17: 97-105.
- OGATA (H.), T. MURAI and T. NOSE, 1983. - Free amino acid composition in urine of carp and channel catfish. *Bull. Jpn. Soc. Sc. Fish.*, 49 (9): 1471.
- OGINO (C.), H. KAWASAKI and H. NANRI, 1980. - Method for the determination of nitrogen retained in the fish body by the carcass analysis. *Bull. Jpn. Soc. Sc. Fish.*, 46 (1): 105-108.
- OGINO (C.), J. KAKINO and M.S. CHEN, 1973. - Protein nutrition in fish. II. Determination of metabolic fecal nitrogen and endogenous nitrogen excretions of carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 39 (5): 519-523.
- OLSON (K.R.) and P.O. FROMM, 1971. - Excretion of urea by two teleosts exposed to different concentrations of ambient ammonia. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 40: 999-1007.
- OLSON (R.J.), 1981. - Differential photoinhibition of marine nitrifying bacteria: a possible mechanism for the formation of the primary nitrite maximum. *J. Mar. Res.*, 39 (2): 227-238.
- OPPENBORN (J.B.) and C.A. GOUDIE, 1993. - Acute and sublethal effects of ammonia on striped bass and hybrid striped bass. *J. World Aquaculture Soc.*, 24 (1): 90-101.
- OTTE (G.) and H. ROSENTHAL, 1979. - Management of a closed brackish water system for high-density fish culture by biological and chemical water treatment. *Aquaculture*, 18: 169-181.
- PALACHEK (R.M.) and J.R. TOMASSO, 1984 (a). - Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*Tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*): evidence for a nitrite exclusion mechanism. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1739-1744.
- PALACHEK (R.M.) and J.R. TOMASSO, 1984 (b). - Nitrite toxicity to fathead minnows: effect of fish weight. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 238-242.
- PALEY (R.K.), I.D. TWITCHEN and F.B. EDDY, 1993. - Ammonia, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> levels in rainbow trout yolk-sac fry in response to external ammonia. *J. Exp. Biol.*, 180: 273-284.
- PALLER (M.H.) and W.M. LEWIS, 1988. - Use of ozone and fluidized-bed biofilters for increased ammonia removal and fish loading rates. *Prog. Fish-Cult.*, 50: 141-147.
- PARENT (J.P.) et F. VELLAS, 1990. - Effets d'une hypoxie prolongée, au printemps et en automne, sur la croissance et l'excrétion ammoniacale chez la truite arc-en-ciel. *Ichthyophysiologicala acta*, 13: 123-130.

- PARENT (J.P.), 1969. - La glutamate déshydrogénase chez la carpe miroir: Distribution et rôle dans l'ammoniogénèse. DES Univ. Toulouse, 24 pp.
- PAULSON (L.J.), 1980. - Models of ammonia excretion for brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 1421-1425.
- PAYAN (P.) and A.J. MATTY, 1975. - The characteristics of ammonium excretion by a perfused isolated head of trout (*Salmo gairdneri*): effect of temperature and CO<sub>2</sub>-free ringer. *J. Comp. Physiol.*, 96: 167-184.
- PAYAN (P.) et P. PIC, 1977. - Origine de l'ammonium excrété par les branchies chez la truite (*Salmo gairdneri*). *C. R. Acad. Sc. Paris D*, 284: 2519-2522.
- PAYAN (P.), 1978. - A study of the Na<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> exchange across the gill of the perfused head of trout (*Salmo gairdneri*). *J. Comp. Physiol.*, 124: 181-188.
- PEER (M.M.) and M.N. KUTTY, 1981. - Respiratory quotient and ammonia quotient in *tilapia mossambica* (Peters) with special reference to hypoxia and recovery. *Hydrobiologia*, 76: 3-9.
- PEQUIN (L.) et A. SERFATY, 1963. - L'excrétion ammoniacale chez un téléostéen dulcicole: *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 10: 315-324.
- PEQUIN (L.) et F. SERFATY, 1968. - La régulation hépatique et intestinale de l'ammoniémie chez la carpe. *Arch. Sci. Physiol.*, 22: 449-459.
- PEQUIN (L.), 1962. - Les teneurs en azote ammoniacal du sang chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *C. R. Acad. Sci. Paris*, 255: 1795-1797.
- PEQUIN (L.), 1967. - Dégradation et synthèse de la glutamine chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Sci. Physiol.*, 21: 193-203.
- PEQUIN (L.), F. VELLAS et G. BOUCHE, 1969. - La glutamine synthétase chez la carpe (*Cyprinus carpio*). Observations sur les répartitions tissulaire et intracellulaire. *Arch. Sci. Physiol.*, 23: 469-480.
- PEQUIN (L.), J.P. PARENT et F. VELLAS, 1970. - La glutamate déshydrogénase chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.). Distribution et rôle dans l'ammoniogénèse. *Arch. Sc. Physiol.*, 24: 315-322.
- PERFETTINI (J.) and M. BIANCHI, 1990. - The comparison of two protocols designed to initiate and stimulate ammonia oxidation in closed aquaculture systems. *Aquaculture*, 88: 179-188.
- PERRONE (S.J.) and T.L. MEADE, 1977. - Protective effect of chloride on nitrite toxicity to coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 486-492.
- PERSON LE RUYET (J.), H. CHARTOIS and E. DESBRUYERES, 1993. - Comparative acute toxicity of ammonia to fish juveniles. *EAS pub.*, 19: 434.
- PETIT (J.), 1974. - Recyclage et épuration en pisciculture: étude théorique et bibliographique. Actes de colloques, n° 1, éd. CNEXO: 445-469.
- PETIT (J.), 1986. - L'approvisionnement en eau, le traitement de l'eau et le recyclage en aquaculture. Dans *Aquaculture*, G. Barnabé, éditions Technique et documentation, Lavoisier, vol. 1 (2): 45-180.
- PIEPER (A.) and E. PFEFFER, 1980. - Studies on the effect of increasing proportions of sucrose or gelatinized maize starch in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) on the utilization of dietary energy and protein. *Aquaculture*, 20: 333-342.
- PIERCE (R.H.), J.M. WEEKS and J.M. PRAPPAS, 1993. - Nitrate toxicity to five species of marine fish. *J. World Aquaculture Soc.*, 24 (1): 105-107.
- POQUILLON (P.) and J. PETIT, 1989. - Practical basis of nitrification in aquaculture wastewater. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 2: 1115-1123.
- PORA (E.A.) et O. PRECUP, 1958. - Relation entre le volume d'eau ambiant et l'excrétion azotée chez les poissons dulcicoles. *J. Physiol.*, 50: 459-462.

- PORA (E.A.) et O. PRECUP, 1971. - Contribution à l'étude de l'excrétion azotée chez les poissons. VIII. Action des hormones corticoïdes et de l'ACTH. *Mar. Biol.*, 11: 77-81.
- PORTER (C.B.), M.D. KROM, M.G. ROBBINS, L. BRICKELL and A. DAVIDSON, 1987. - Ammonia excretion and total N budget for gilthead seabream (*Sparus aurata*) and its effect on water quality conditions. *Aquaculture*, 66: 287-297.
- POSSOMPES (B.P.), P. BERGOT et P. LUQUET, 1975. - Mise au point d'une méthode d'étude du transit gastro-intestinal chez la truite arc-en-ciel *Salmo gairdnerii* Richardson: influence du nombre de repas, des quantités ingérées et de la température d'acclimatation. *Ann. Hydrobiol.*, 6 (2): 131-143.
- POXTON (M.G.) and N.J. LLOYD, 1989. - Fluctuations in ammonia production by eels (*Anguilla anguilla* L.) as a result of feeding strategy. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol. 2: 1125-1135.
- POXTON (M.G.) and S.B. ALLOUSE, 1987. - Cyclical fluctuations in ammonia and nitrite-nitrogen resulting from the feeding of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), in recirculating systems. *Aquacult. Eng.*, 6: 301-322.
- POXTON (M.G.), K.R. MURRAY, B.T. LINFOOT and A.B.W. POOLEY, 1981. - The design and performance of biological filters in an experimental mariculture facility. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 1: 369-382.
- PROSSER (C.L.), 1962. - Nitrogen excretion. In *Comparative animal physiology*, C.L. Prosser and G.W. Brown, Saunders ed., chap. 6: 135-152.
- QUERELLOU (J.), A. FAURE and C. FAURE, 1982. - Pollution loads from rainbow trout farms in Brittany, France. *EIFAC technical paper*, FAO, Rome, 41 (8): 87-97.
- QUINLAN (A.V.), 1984. - Prediction of the optimum pH for ammonia-N oxidation by *Nitrosomonas europea* in well-aerated natural and domestic-waste waters. *Water Res.*, 18 (5): 561-566.
- RAM (R.N.) and S.K. SINGH, 1988. - Long-term effect of ammonium sulfate fertilizer on histophysiology of adrenal in the telesost, *Channa punctatus* (Bloch). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41 (6): 880-887.
- RAMNARINE (I.W.), J.M. PIRIE, A.D.F. JOHNSTONE and G.W. SMITH, 1987. - The influence of ration size and feeding frequency on ammonia excretion by juvenile atlantic cod, *Gadus morhua* L.. *J. Fish Biol.*, 31: 545-559.
- RANDALL (D.J.) and P.A. WRIGHT, 1987. - Ammonia distribution and excretion in fish. *Fish Physiol. Biochem.*, 3 (3): 107-120.
- RANDALL (D.J.) and P.A. WRIGHT, 1989. - The interaction between carbon dioxide and ammonia excretion and water pH in fish. *Can. J. Zool.*, 67 (12): 2936-2942.
- RANDALL (D.J.), C.M. WOOD, S.F. PERRY, H. BERGMAN, G.M.O. MALOY, T.P. MOMMSEN and P.A. WRIGHT, 1989. - Urea excretion as a strategy for survival in a fish living in a very alkaline environment. *Nature*, 337 (12): 165-166.
- RANDALL (D.J.), S.F. PERRY and T.A. HEMING, 1982. - Gas transfer and acid/base regulation in salmonids. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 73 (1): 93-103.
- READ (L.), 1971. - The presence of high ornithine-urea cycle enzyme activity in the teleost *Opsanus tau*. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 39: 409-413.
- REDNER (B.D.) and R.R. STICKNEY, 1979. - Acclimation to ammonia by *Tilapia aurea*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 108: 383-388.
- REEVES (T.G.), 1972. - Nitrogen removal: a literature review. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 44 (10): 1895-1908.
- RICE (S.D.) and J.E. BAILEY, 1980. - Survival, size, and emergence of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, alevins after short- and long-term exposures to ammonia. *Fish. Bull.*, 78 (3): 641-648.

- RICE (S.D.) and R.M. STOKES, 1973. - Metabolism of nitrogenous wastes in the eggs and alevins of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. In *The early life history of fish*, J.H.S. Blaxter ed., Springer verlag, Berlin, pp 325-337.
- RICE (S.D.) and R.M. STOKES, 1975. - Acute toxicity of ammonia to several developmental stages of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish. Bull.*, 73 (1): 207-211.
- ROBINETTE (H.R.), 1976. - Effect of selected sublethal levels of ammonia on the growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Prog. Fish-Cult.*, 38 (1): 26-29.
- RODIER (J.), 1978. - Analyse de l'eau. Editions Bordas, 6ème édition, 1135 pp.
- RODRIGUEZ-MORENO (P.A.) and J.V. TARAZONA, 1994. - Nitrite-induced methemoglobin formation and recovery in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at high chloride concentrations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 53 (1): 113-119.
- ROGERS (G.L.) and S.L. KLEMETSON, 1985. - Calculation of un-ionized ammonia concentrations. *J. Aquariculture Aquat. Sc.*, 4 (3): 61-65.
- ROSENTHAL (H.), 1981. - Ozonation and sterilization. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 1: 219-277.
- ROSENTHAL (H.), R. ANDJUS and G. KRÜNER, 1981. - Daily variations of water quality parameters under intensive culture conditions in a recycling system. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, may 28-30, 1980, vol. 1: 113-120.
- RUANE (R.J.), T.Y.J. CHU and V.E. VANDERGRIF, 1977. - Characterization and treatment of waste discharged from high-density catfish cultures. *Wat. Res.*, 11: 789-800.
- RUBIN (A.J.) and G.A. ELMARAGHY, 1977. - Studies on the toxicity of ammonia, nitrate and their mixtures to guppy fry. *Water Res.*, 11: 927-935.
- RUFFIER (P.J.), W.C. BOYLE and J. KLEINSCHMIDT, 1981. - Short-term acute bioassays to evaluate ammonia toxicity and effluent standards. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53 (3): 367-377.
- RUSSO (R.C.), 1985. - Ammonia, nitrite, and nitrate. In *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, G.M. Rand and S.R. Petrocelli, Hemisphere publishing corporation, Washington: 455-471.
- RUSSO (R.C.), C.E. SMITH and R.V. THURSTON, 1974. - Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 3 (10): 1653-1655.
- RUSSO (R.C.), R.V. THURSTON and K. EMERSON, 1981. - Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): effects of pH, nitrite species, and anion species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38: 387-393.
- RUSTEN (B.) and C. HARR, 1989. - Design and evaluation of a water recycling plant for atlantic salmon smolt production. In *Aquaculture - a biotechnology in progress*, EAS pub., vol 2: 1143-1148.
- RYCHLY (J.) and B.A. MARINA, 1977. - The ammonia excretion of trout during a 24-hour period. *Aquaculture*, 11: 173-178.
- RYCHLY (J.) and L. SPANNHOF, 1979. - Nitrogen balance in trout. I. Digestibility of diets containing varying levels of protein and carbohydrate. *Aquaculture*, 16: 39-46.
- RYCHLY (J.), 1980. - Nitrogen balance in trout. II. Nitrogen excretion and retention after feeding diets with varying protein and carbohydrate levels. *Aquaculture*, 20: 343-350.
- SAEKI (A.), 1958. - Studies on fish culture in the aquarium of the closed-circulating system. Its fundamental theory and standard plan. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 23 (11): 684-695.
- SAHA (N.) and B.K. RATHA, 1989. - Comparative study of ureogenesis in freshwater, air-breathing teleosts. *J. Exp. Zool.*, 252 (1): 1-8.
- SAHA (N.) and B.K. RATHA, 1990. - Alterations in excretion pattern of ammonia and urea in a freshwater air-breathing, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) during hyper-ammonia stress. *Indian J. Exp. Biol.*, 28: 597-599.



- SAHA (N.), J. CHAKRAVORTY and B.K. RATHA, 1988. - Diurnal variation in renal and extra-renal excretion of ammonia-N and urea-N in a freshwater air-breathing teleost, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Proc. Indian Acad. Sci.*, 97 (6): 529-537.
- SALVATORE (F.), V. ZAPPIA and C. COSTA, 1965. - Comparative biochemistry of deamination of L-amino acids in elasmobranch and teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 16: 303-309.
- SATO (S.), T. MATSUSHIMA, N. TANAKA, T. SUGIMURA and F. TAKASHIMA, 1973. - Hepatic tumors in the guppy (*Lebistes reticulatus*) induced by aflatoxin B<sub>1</sub>, dimethylnitrosamine, and 2-acetylaminofluorene. *J. Nat. Cancer Inst.*, 50 (3): 767-778.
- SAVITZ (J.), 1969 (a). - Effects of temperature and body weight on endogenous nitrogen excretion in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Fish. Res. Board. Can.*, 26 (7): 1813-1821.
- SAVITZ (J.), 1969 (b). - Effect of M.S. 222 on nitrogen excretion of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, 85: 150-151.
- SAVITZ (J.), 1971 (a). - Nitrogen excretion and protein consumption of the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Fish. Res. Board. Can.*, 28: 449-451.
- SAVITZ (J.), 1971 (b). - Effects of starvation on body protein utilization of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus* Rafinesque) with a calculation of caloric requirements. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 100: 18-21.
- SAVITZ (J.), 1973. - Influence of low level handling stress on nitrogen excretion of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 3: 629-630.
- SAVITZ (J.), E. ALBANESE, M.J. EVINGER and P. KOLASINSKI, 1977. - Effect of ration level on nitrogen excretion, nitrogen retention and efficiency of nitrogen utilization for growth in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Fish Biol.*, 11: 185-192.
- SCARANO (G.) and M.G. SAROGLIA, 1984. - Recovery of fish from functional and haemolytic anaemia after brief exposure to a lethal concentration of nitrite. *Aquaculture*, 43: 421-426.
- SCARANO (G.), M.G. SAROGLIA, R.H. GRAY and E. TIBALDI, 1984. - Hematological responses of sea bass *Dicentrarchus labrax* to sublethal nitrite exposures. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 113: 360-364.
- SCHENONE (G.), A. ARILLO, C. MARGIOCCO, F. MELODIA and P. MENSI, 1982. - Biochemical bases for environmental adaptation in goldfish (*Carassius auratus* L.): resistance to ammonia. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 6: 479-488.
- SCHERB (K.) und F. BRAUN, 1971. - Erfahrungen mit der Intensivhaltung von Regenbogenforellen bei biologischer Reinigung des Abwassers mit belebtem Schlamm im Kreislaufsystem. *Wasser- und Abwasser-Forschung*, 4: 118-124.
- SCHULZE-WIEHENBRAUCK (H.), 1976. - Effects of sublethal ammonia concentrations on metabolism in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Ber. dt. wiss. Kommn. Meeresforsch.*, 24: 234-250.
- SCHUSTER (C.), H. STELZ und O. SCHMITZ-SCHLANG, 1992. - Stickstoff- und CSB-Belastung von Vorflutern durch Forellenhaltung unter dem Einfluss des Eiweissgehaltes der Futtermittel. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 99: 473-528.
- SCHWEDLER (T.E.) and C.S. TUCKER, 1983. - Empirical relationship between percent methemoglobin in channel catfish and dissolved nitrite and chloride in ponds. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 112: 117-119.
- SCOTT (E.M.) and J.P. HARRINGTON, 1985. - Methemoglobin reductase activity in fish erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 82 (3): 511-513.
- SCOTT (K.R.) and D.C. GILLESPIE, 1972. - A compact recirculation unit for the rearing and maintenance of fish. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 29: 1071-1074.

- SCOTT (K.R.) and L. ALLARD, 1984. - A four-tank water recirculation system with a hydrocyclone prefilter and a single water reconditioning unit. *Prog. Fish-Cult.*, 46 (4): 254-261.
- SEAMAN (M.N.L.) and W. SCHWARZ, 1991. - Spontaneous nitrification of ammonia to nitrate at low temperatures in oyster storage tanks. *Magazine World Aquaculture Soc.*, 22 (3): 60-61.
- SHARMA (B.) and R.C. AHLERT, 1977. - Nitrification and nitrogen removal. *Water Res.*, 11: 897-925.
- SHEEHAN (R.J.) and W.M. LEWIS, 1986. - Influence of pH and ammonia salts on ammonia toxicity and water balance in young channel catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 115: 891-899.
- SHEWAN (J.M.), 1951. - The chemistry and metabolism of the nitrogenous extractives in fish. *Biochem. Soc. Symp.*, 6: 28-48.
- SHTERMAN (L.Y.), 1970. - Methemoglobin in fish blood. *J. Ichthyology*, 10 (5): 709-712.
- SIDDALL (S.E.), 1974. - Studies of closed marine culture systems. *Prog. Fish-Cult.*, 36 (1): 8-15.
- SINGH (R.A.) and S.N. SINGH, 1989. - Tissue glutamine synthetase associated with ammonia detoxication and nitrogen metabolism in *Clarias batrachus*. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 97: 145-152.
- SLONE (W.J.), D.J. JESTER and P.R. TURNER, 1981. - A closed vertical raceway fish cultural system containing clinoptilolite as an ammonia stripper. *Bio-engineering symposium for fish culture*, FCS pub., 1: 104-115.
- SMART (G.), 1976. - The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, 8: 471-475.
- SMART (G.R.), 1978. - Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. *J. Fish Biol.*, 12: 93-104.
- SMITH (C.E.) and R.G. PIPER, 1975. - Lesions associated with chronic exposure to ammonia. In *The Pathology of Fishes*, W.C. Ribelin and G. Migaki, University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, pp 497-514.
- SMITH (C.E.) and R.C. RUSSO, 1975. - Nitrite-induced methemoglobinemia in rainbow trout. *Prog. Fish-Cult.*, 37 (3): 150-152.
- SMITH (C.E.) and W.G. WILLIAMS, 1974. - Experimental nitrite toxicity in rainbow trout and chinook salmon. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 2: 389-390.
- SMITH (H.W.), 1929. - The excretion of ammonia and urea by the gills of fish. *J. Biol. Chem.*, 81: 727-742.
- SMITH (M.A.K.) and A. THORPE, 1976. - Nitrogen metabolism and trophic input in relation to growth in freshwater and saltwater *Salmo gairdneri*. *Biol. Bull.*, 150: 139-151.
- SMITH (M.A.K.) and A. THORPE, 1977. - Endocrine effects on nitrogen excretion in the euryhaline teleost, *Salmo gairdnerii*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 32: 400-406.
- SMITH (S.), 1947. - Studies in the development of the rainbow trout (*Salmo irideus*). I. The heat production and nitrogenous excretion. *J. Exp. Biol.*, 23: 357-378.
- SODERBERG (R.W.), 1985. - Histopathology of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, exposed to diurnally fluctuating un-ionized ammonia levels in static-water ponds. *J. Fish Diseases*, 8: 57-64.
- SODERBERG (R.W.), J.B. FLYNN and H.R. SCHMITTOU, 1983. - Effects of ammonia on growth and survival of rainbow trout in intensive static-water culture. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 112: 448-451.
- SOLBE (J.F. de L.G.) and D.G. SHURBEN, 1989. - Toxicity of ammonia to early life stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Water Res.*, 23 (1): 127-129.

- SOLBE (J.F. de L.G.), 1982. - Fish-farm effluents; a United Kingdom survey. *EIFAC technical paper*, FAO, Rome, 41 (3): 29-55.
- SOUSA (R.J.), T.L. MEADE and R.E. WOLKE, 1974. - Reduction of ammonia toxicity by salinity and pH manipulation. *Proceedings of the Vth annual meeting world mariculture society*, Charleston, United states, january 21-25, 1974, pp 343-354.
- SPEECE (R.E.), 1973. - Trout metabolism characteristics and the rational design of nitrification facilities for water reuse in hatcheries. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 2: 323-334.
- SPOTTE (S.) and G. ANDERSON, 1989. - Plasma cortisol changes in seawater-adapted mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) exposed to ammonia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46: 2065-2069.
- SPOTTE (S.), 1970. - Fish and invertebrate culture. Water management in closed systems. J. Wiley ed., 145pp.
- STANDARD METHODS, 1971. - For the examination of water and wastewater. 13th edition, APHA, AWWA, WPCF, 874 pp.
- STIEBER (S.F.) and V.A. CVANCARA, 1977. - Tissue deamination of L-amino acids in the teleost *Stizostedion vitreum* (Mitchill). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 56: 285-287.
- STORER (J.H.), 1967. - Starvation and the effects of cortisol in the goldfish (*Carassius auratus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 20: 939-948.
- STRENTROM (M.K.) and R.A. PODUSKA, 1980. - The effect of dissolved oxygen concentration on nitrification. *Water Res.*, 14: 643-649.
- SUN (L.T.) and G.W. KLONTZ, 1990. - Water chemistry of nitrification in a recirculating system. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 17 (1):43-51.
- SUTHERSAN (S.) and J.J. GANCZARCZYK, 1986. - Inhibition of nitrite oxidation during nitrification - some observations. *Water Pollut. Res. J. Can.*, 21 (2): 257-266.
- TABATA (K.), 1962. - Toxicity of ammonia to aquatic animals with reference to the effect of pH and carbon dioxide. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 34: 67-75.
- TAKEUSHI (T.), T. WATANABE and C. OGINO, 1978. - Optimum ratio of protein to lipid in diets of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 44 (6): 683-688.
- TAMAZOUZT (L.), B. CAPDEVILLE, P. FONTAINE, D. TERVER and A. GEORGES, 1993. - Growth of perch (*Perca fluviatilis*) fed on a formulated diet reared in two culture systems : closed circuit and floating cage culture. *EAS pub.*, 19: 272.
- TATRAI (I.), 1981 (a). - The nitrogen metabolism of bream, *Abramis brama* L.. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 68: 119-121.
- TATRAI (I.), 1981 (b). - Diurnal pattern of the ammonia and urea excretion of feeding and starved bream, *Abramis brama* L.. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 70: 211-215.
- TCHOBANOGLIOUS (G.) and F. BURTON, 1991. - Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse. 3th edition, Metcalf and Eddy, Inc., 1334pp.
- TERVER (D.) et P. FONTAINE, 1994. - Techniques aquariologiques et aquaculture continentale. *EAS pub.*, 21: 290-291.
- TERVER (D.), 1977. - Production, distribution et utilisation de l'air surpressé à l'Aquarium Tropical de Nancy. *Rev. fr. Aquariol.*, 4 (1) : 21-26.
- TERVER (D.), 1979 (a). - Techniques aquariologiques et élevages aquatiques. Application à un aquarium-vivier en P.V.C. cellulaire. *Rev. fr. Aquariol.*, 6 (1): 17-22.
- TERVER (D.), 1979 (b). - Etude comparative de quelques dispositifs de filtration dans des aquariums fonctionnant en circuit fermé avec référence à un sable vivant commercialisé. *Rev. fr. Aquariol.*, 6 (2): 45-58.
- TERVER (D.), 1980. - Une écloserie piscicole intégrée. *La pisciculture française*, 59: 31-37.
- TERVER (D.), 1989. - Manuel d'aquariologie. I. L'aquarium, eau douce, eau de mer. Réalisations éditoriales pédagogiques, 4ème édition, Paris, 303pp.

- THORNBURN (C.C.) and A.J. MATTY, 1963. - The effect of thyroxine on some aspects of nitrogen metabolism in the goldfish (*Carassius auratus*) and the trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 8: 1-12.
- THURSTON (R.V.) and R.C. RUSSO, 1983. - Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 112: 696-704.
- THURSTON (R.V.), C. CHAKOUMAKOS and R.C. RUSSO, 1981 (c). - Effect of fluctuating exposures on the acute toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cutthroat trout (*S. clarki*). *Water Res.*, 15: 911-917.
- THURSTON (R.V.), G.R. PHILLIPS, R.C. RUSSO and S.M. HINKINS, 1981 (b). - Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38: 983-988.
- THURSTON (R.V.), R.C. RUSSO and C.E. SMITH, 1978. - Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 107 (2): 361-368.
- THURSTON (R.V.), R.C. RUSSO and G.A. VINOGRADOV, 1981 (a). - Ammonia toxicity to fishes. Effect of pH on the toxicity of the un-ionized ammonia species. *Environ. Sci. Technol.*, 15 (7): 837-840.
- THURSTON (R.V.), R.C. RUSSO and G.R. PHILLIPS, 1983. - Acute toxicity of ammonia to fathead minnows. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 112: 705-711.
- THURSTON (R.V.), R.C. RUSSO, E.L. MEYN, R.K. ZAJDEL and C.E. SMITH, 1986. - Chronic toxicity of ammonia to fathead minnows. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 115: 196-207.
- THURSTON (R.V.), R.C. RUSSO, R.J. LUEDTKE, C.E. SMITH, E.L. MEYN, C. CHAKOUMAKOS, K.C. WANG and C.J.D. BROWN, 1984. - Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 113: 56-73.
- TOMASSO (J.R.), M.I. WRIGTH, B.A. SIMCO and K.B. DAVIS, 1980 (b). - Inhibition of nitrite-induced toxicity in channel catfish by calcium chloride and sodium chloride. *Prog. Fish-Cult.*, 42 (3): 144-146.
- TOMASSO (J.R.), 1986. - Comparative toxicity of nitrite to freshwater fishes. *Aquat. Toxicol.*, 8: 129-137.
- TOMASSO (J.R.), B.A. SIMCO and K.B. DAVIS, 1979. - Chloride inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 36: 1141-1144.
- TOMASSO (J.R.), C.A. GOUDIE, B.A. SIMCO and K.B. DAVIS, 1980 (a). - Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 109: 229-234.
- TOMASSO (J.R.), K.B. DAVIS and B.A. SIMCO, 1981. - Plasma corticosteroid dynamics in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) exposed to ammonia and nitrite. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38: 1106-1112.
- TRAMA (F.B.), 1954. - The acute toxicity of some common salts of sodium, potassium and calcium to the common bluegill (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Proc. Acad. Natur. Sc. Philadelphia*, 106: 185-205.
- TRUSSELL (R.P.), 1972. - The percent un-ionized ammonia in aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperatures. *J. Fish. Res. Board Can.*, 29: 1505-1507.
- TSUNO (H.), I. SOMIYA, N. MATSUMOTO and S. SASAI, 1992. - Attached growth reactor for BOD removal and nitrification with polyurethane foam medium. *Wat. Sci. Tech.*, 26 (9-11): 2035-2038.
- TUCKER (C.S.), R. FRANCIS-FLOYD and M.H. BELEAU, 1989. - Nitrite-induced anemia in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43 (2): 295-301.

- UEMOTO (H.), K. KIKUCHI and M. KIYONO, 1993. - Isolation of a marine ammonia-oxidizing bacterium from a closed recirculating seawater system for fish culture. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (12): 2003-2008.
- ULGENES (Y.) and B. EIKEBROKK, 1993. - Applications of simplified recirculation technology for production of salmonids in freshwater and seawater. *EAS pub.*, 19: 485.
- URRUTIA (M.L.) and J.R. TOMASSO, 1987. - Acclimation of channel catfish to environmental nitrite. *J. World Aquaculture Soc.*, 18 (3): 175-179.
- van den THILLART (G.) and F. KESBEKE, 1978. - Anaerobic production of carbon dioxide and ammonia by goldfish *Carassius auratus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol. A*, 59: 393-400.
- van NIEL (E.W.J.), L.A. ROBERTSON and J.G. KUENEN, 1993 (a). - A mathematical description of the behaviour of mixed chemostat cultures of an autotrophic nitrifier and a heterotrophic nitrifier / aerobic denitrifier: a comparison with experimental data. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 102: 99-108.
- van NIEL (E.W.J.), P.A.M. ARTS, B.J. WESSELINK, L.A. ROBERTSON and J.G. KUENEN, 1993 (b). - Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 102: 109-118.
- van RIJN (J.) and G. RIVERA, 1990. - Aerobic and anaerobic biofiltration in an aquaculture unit - Nitrite accumulation as a result of nitrification and denitrification. *Aquacult. Eng.*, 9: 217-234.
- van RIJN (J.) and R. ARBIV, 1993. - Performance of a treatment system for inorganic nitrogen removal in intensive aquaculture systems. *EAS pub.*, 19: 486.
- van WAARDE (A.) and F. KESBEKE, 1981. - Nitrogen metabolism in goldfish, *Carassius auratus* L.. Influence of added substrates and enzyme inhibitors on ammonia production of isolated hepatocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 70: 499-507.
- van WAARDE (A.) and F. KESBEKE, 1982. - Nitrogen metabolism in goldfish, *Carassius auratus* L.. Activities of amidase and amide synthetases in goldfish tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 71 (4): 599-603.
- van WAARDE (A.), 1981. - Nitrogen metabolism in goldfish, *Carassius auratus* (L.). Activities of transamination reactions, purine nucleotide cycle and glutamate dehydrogenase in goldfish tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 68: 407-413.
- van WAARDE (A.), 1983. - Aerobic and anaerobic ammonia production by fish. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 74 (4): 675-684.
- van WAARDE (A.), 1988. - Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 91 (2): 207-228.
- VELLAS (F.) et A. SERFATY, 1967. - Sur l'excrétion uréique de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Sci. Physiol.*, 21: 185-192.
- VELLAS (F.) et A. SERFATY, 1974. - L'ammoniaque et l'urée chez un téléostéen d'eau douce: la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *J. Physiol.*, 68: 591-614.
- VELLAS (F.) et A. SERFATY, 1975. - Le métabolisme ammoniacal chez un téléostéen dulcicole: la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *Cah. Lab. Montereau*, 2: 5-14.
- VELLAS (F.) et Y. CREACH, 1972. - Importance du métabolisme des purines dans la biosynthèse de l'urée chez la carpe commune (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Sci. Physiol.*, 26: 207-218.
- VELLAS (F.), 1961. - Détermination quantitative de l'activité allantoïcasique chez la carpe miroir (*Cyprinus carpio* L.). *C. R. Ac. Sc. Paris*, 253: 2262-2264.
- VELLAS (F.), 1968. - Le rôle de la glutamine dans l'uréogénèse de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Sci. Physiol.*, 22: 391-397.
- VELLAS (F.), 1979. - Métabolisme des composés azotés. II. L'excrétion azotée. Actes du colloque CERNA, mai 1979, Paris, éd. CNRS: 149-161.

- VELLAS (F.), J.P. PARENT, I. BAHAMONDES et M. CHARPENTEAU, 1982. - Influence d'une augmentation de la température sur certains aspects du catabolisme azoté chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 22 (5): 851-864.
- VELLAS (F.), L. PEQUIN et A. SERFATY, 1969. - Sur l'arginase et l' $\delta$ -guanidinobutyrate uréohydrolase de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Sci. Physiol.*, 23: 401-405.
- VELLAS (F.), M. FLAVIN et Y. CREACH, 1970. - L'urée chez quelques téléostéens d'eau douce. *Arch. Sc. Physiol.*, 24: 307-313.
- VELLAS-CLOS (F.), 1973. - Recherches sur l'uréogénèse chez les téléostéens dulcicoles. thèse Univ. Toulouse, 165 pp.
- VERHAGEN (F.J.M.) and H. J. LAANBROEK, 1991. - Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 (11): 3255-3263.
- VICTOR (B.), 1990. - Behavioural and histological assessment of ammonia sensitivity in the freshwater fish *Lepidocephalichthys thermalis*. *Indian J. Anim. Sci.*, 60 (10): 1256-1262.
- VIOLA (S.), E. LAHAV and H. ANGEONI, 1992. - Reduction of feed protein levels and nitrogenous N-excretions by lysine supplementation in intensive carp culture. *Aquat. Living Resour.*, 5: 277-285.
- WAJSBROT (N.), A. GASITH, A. DIAMANT and D.M. POPPER, 1993 (a). - Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *J. Fish Biol.*, 42: 321-328.
- WAJSBROT (N.), A. GASITH, A. DIAMANT, M.D. KROM and D.M. POPPER, 1993 (b). - Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) and related histopathological effects under reduced oxygen levels. *EAS pub.*, 19: 489.
- WAJSBROT (N.), A. GASITH, M.D. KROM and D.M. POPPER, 1991. - Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. *Aquaculture*, 92: 277-288.
- WALSH (P.J.) and R.P. HENRY, 1991. - Carbon dioxide and ammonia metabolism and exchange. In *Biochemistry and molecular biology of fishes*, P.W. Hochachka and T.P. Mommsen eds, vol. 1 (8): 181-207.
- WALSH (P.J.), E. DANULAT and T.P. MOMMSEN, 1990. - Variation of urea excretion in the gulf toadfish *Opsanus beta*. *Mar. Biol.*, 106: 323-328.
- WALTON (M.J.) and C.B. COWEY, 1977. - Aspects of ammoniogenesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 57: 143-149.
- WALTON (M.J.) and C.B. COWEY, 1982. - Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 73 (1): 59-79.
- WALTON (M.J.), 1986. - Metabolic effects of feeding a high protein/low carbohydrate diet as compared to a low protein/high carbohydrate diet to rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Fish Physiol. Biochem.*, 1 (1): 7-15.
- WARRER-HANSEN (I.), 1982. - Methods of treatment of waste water from trout farming. *EIFAC technical paper*, FAO, Rome, 41 (11): 113-122.
- WATANABE (T.), T. TAKEUCHI and C. OGINO, 1979. - Studies on the sparing effect of lipids on dietary protein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Proc. world symp. on finfish nutrition and fishfeed technology*, Hamburg, Germany, June 20-23, 1978, vol. 1: 113-125.
- WATANABE (T.), T. TAKEUCHI, S. SATOH, K.W. WANG, T. IDA, M. YAGUCHI, M. NAKADA, T. AMONO, S. YOSHIJIMA and H. AOE, 1987 (b). - Development of practical carp diets for reduction of total nitrogen loading on water environment. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53 (12): 2217-2225.
- WATANABE (T.), T. TAKEUCHI, S. SATOH, T. IDA and M. YAGUCHI, 1987 (a). - Development of low protein-high energy diets for practical carp culture with special

- reference to reduction of total nitrogen excretion. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53 (8): 1413-1423.
- WATENPAUGH (D.E.), T.L. BEITINGER and D.W. HUEY, 1985. - Temperature tolerance of nitrite-exposed channel catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 114: 274-278.
- WATTS (R.L.) and D.C. WATTS, 1974. - Nitrogen metabolism in fishes. In *Chemical zoology*, M. Florkin and S. Scheer, M. Florkin and S. Scheer eds, Academic press, New York, chap. 10: 369-446.
- WEATHERLEY (L.R.), 1984. - Rate models for a marine biological filter. *Aquacult. Eng.*, 3: 15-29.
- WEDEMEYER (G.A.) and W.T. YASUTAKE, 1978. - Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 822-827.
- WESTIN (D.T.), 1974. - Nitrate and nitrite toxicity to salmonoid fishes. *Prog. Fish-Cult.*, 36 (2): 86-89.
- WHEATON (F.W.), 1991. - Partial recycling system design. In *Aquaculture systems engineering*, ASAE pub., 2: 47-57.
- WICKINS (J.F.), 1981. - Water quality requirements for intensive aquaculture: a review. *Proc. world symp. on aquaculture in heated effluents and recirculation systems*, Stavanger, Norway, May 28-30, 1980, vol. 1: 17-37.
- WIGGS (A.J.), E.B. HENDERSON, R.L. SAUNDERS and M.N. KUTTY, 1989. - Activity, respiration, and excretion of ammonia by atlantic salmon (*Salmo salar*) smolt and postsmolt. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46: 790-795.
- WIJFFELS (R.H.), E.J.T.M. LEENEN and J. TRAMPER, 1993. - Possibilities of nitrification with immobilized cells in waste-water treatment: model or practical system? *Wat. Sci. Tech.*, 27 (5-6): 233-240.
- WILKIE (M.P.), P.A. WRIGHT, G.K. IWAMA and C.M. WOOD, 1993. - The physiological responses of the Lahontan cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki henshawi*), a resident of highly alkaline pyramid lake (pH = 9.4), to challenge at pH 10. *J. Exp. Biol.*, 175: 173-194.
- WILLIAMS (E.M.), M.L. GLASS and N. HEISLER, 1993. - Effects of nitrite-induced methaemoglobinaemia on oxygen affinity of carp blood. *Environ. Biol. Fishes*, 37: 407-413.
- WILSON (R.P.) and P.L. FOWLKES, 1976. - Activity of glutamine synthetase in channel catfish tissues determined by an improved tissue assay method. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 54: 365-368.
- WILSON (R.P.), 1973. - Nitrogen metabolism in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. - II. Evidence for an apparent incomplete ornithine-urea cycle. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 46: 625-634.
- WILSON (R.P.), R.O. ANDERSON and R.A. BLOOMFIELD, 1969. - Ammonia toxicity in selected fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 28: 107-118.
- WINDELL (J.T.), J.D. HUBBARD and D.L. HORAK, 1972. - Rate of gastric evacuation in rainbow trout fed three pelleted diets. *Prog. Fish-Cult.*, 34 (3): 156-159.
- WINDELL (J.T.), J.F. KITCHELL, D.O. NORRIS, J.S. NORRIS and J.W. FOLTZ, 1976. - Temperature and rate of gastric evacuation by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 6: 712-717.
- WINDELL (J.T.), J.W. FOLTZ and J.A. SAROKON, 1978 (b). - Effect of fish size, temperature, and amount fed on nutrient digestibility of a pelleted diet by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 107 (4): 613-616.
- WINDELL J.T., J.W. FOLTZ and J.A. SAROKON, 1978 (a). - Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. *Prog. Fish-Cult.*, 41 (2): 51-55.

- WISE (D.J.), C.R. WEIRICH and J.R. TOMASSO, 1989. - Toxicity of ammonia to red drum *Sciaenops ocellatus* fingerlings with information on uptake and depuration. *J. World Aquaculture Soc.*, 20 (4): 188-192.
- WISE (D.J.), J.R. TOMASSO and T.M. BRANDT, 1988. - Ascorbic acid inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, 50: 77-80.
- WLASOW (T.) and H. DABROWSKA, 1989. - Cellular changes in the blood and haemopoietic tissues of common carp exposed to sublethal concentration of ammonia. *Aquat. Living Resour.*, 2: 169-174.
- WOKER (H.), 1949. - Beiträge zur Toxikologie der Fische. III. Die Temperaturabhängigkeit der Giftwirkung von Ammoniak auf Fische. *Int. Assoc. Theor. Appl. Limno. Proc.*, 10: 575-579.
- WONG-CHONG (G.M.) and R.C. LOEHR, 1975. - The kinetics of microbial nitrification. *Water Res.*, 9: 1099-1106.
- WOOD (J.D.), 1958. - Nitrogen excretion in some marine teleosts. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 36 (12): 1237-1242.
- WRIGHT (P.A.) and C.M. WOOD, 1985. - An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effects of environmental pH change and sodium uptake blockade. *J. Exp. Biol.*, 114: 329-353.
- WRIGHT (P.A.), D.J. RANDALL and S.F. PERRY, 1989. - Fish gill water boundary layer: a site of linkage between carbon dioxide and ammonia excretion. *J. Comp. Physiol. B*, 158: 627-635.
- WRIGHT (P.A.), G.K. IWAMA and C.M. WOOD, 1993. - Ammonia and urea excretion in Lahontan cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki henshawi*) adapted to the highly alkaline pyramid lake (pH = 9,4). *J. Exp. Biol.*, 175 : 153-172.
- WU (C.), 1963. - Glutamine synthetase - I. A comparative study of its distribution in animals and its inhibition by DL-allo- $\delta$ -hydroxylysine. *Comp. Biochem. Physiol.*, 8: 335-351.
- WUHRMANN (K.) und H. WOKER, 1948. - Beiträge zur Toxikologie des Fische. II. Experimentelle Untersuchungen über die Ammoniak- und Blausäurevergiftung. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 11: 210-244.
- WURTSBAUGH (W.A.) and G.E. DAVIS, 1977. - Effects of temperature and ration level on the growth and food conversion efficiency of *Salmo gairdneri*, Richardson. *J. Fish. Biol.*, 11: 87-98.
- YANG (L.) and J.E. ALLEMAN, 1992. - Investigation of batchwise nitrite build-up by an enriched nitrification culture. *Wat. Sci. Tech.*, 26 (5-6): 997-1005.
- YARZHOMBEK (A.A.) and N.V. MASLENNIKOVA, 1971. - Nitrogenous metabolites of the eggs and larvae of various fishes. *J. Ichthyology*, 11: 276-281.
- YONG-LIANG (Z.), 1990. - The development of closed rearing systems in China. *Aquacult. Eng.*, 9: 167-173.
- YONGXIN (Z.), Z. PUYING and Z. RENZHEN, 1986. - The acute and subacute toxicity to ammonia on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Acta Hydrobiol. Sinica*, 10: 32-39.



## PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Ces travaux ont fait l'objet des publications et des communications suivantes :

### 1 - Publications dans des revues internationales.

Fontaine P., R. Vlaponou, L. Tamazouzt, D. Terver et G. Masson. Essai d'élevage de perches sevrées en eau recyclée : résultats préliminaires. (acceptée le 27 juin 1994 pour publication dans les *Cahiers d'ethologie appliquée*).

Fontaine P., D. Terver and A. Georges. Application of aquariological techniques to an aquacultural intensive fish-rearing process using recycled, warmed water for the production of rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss*. (soumise pour publication à la revue *Aquacultural engineering*).

Tamazouzt L., P. Fontaine, B. Capdeville, and D. Terver. Effect of ground cow's liver on the adaptation of 0+ perch (*Perca fluviatilis* L.) to pelleted diets in a controlled environment. (soumise pour publication à la revue *Journal of applied Ichthyology*).

### 2 - Communications avec résumé lors de colloques internationaux.

Tamazouzt L., B. Capdeville, P. Fontaine, D. Terver and A. Georges, 1993. Growth of perch (*Perca fluviatilis* L.) fed on formulated diet reared in two culture systems : closed circuit and floating cage. *E.A.S. spe. pub.* 19 : 272.

Terver D. and P. Fontaine, 1994. Techniques aquariologiques et aquaculture continentale. *E.A.S. spe. pub.* 21 : 290-291.



**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE  
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE  
DE LORRAINE**

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

**Monsieur BILLARD Roland, Professeur, Muséum National d'Histoire  
Naturelle de Paris,**

**Monsieur BELAUD Alain, Professeur, ENSAT Toulouse.**

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

**Monsieur FONTAINE Pascal**

à soutenir devant l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,  
une thèse intitulée :

**"Application de techniques aquariologiques à la production d'alevins  
de truite arc-en-ciel, Oncorhynchus mykiss W., en circuit fermé :  
importance de facteurs alimentaires".**

en vue de l'obtention du titre de :

**DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE  
LORRAINE**

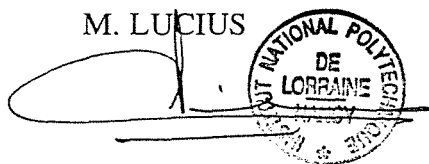
Spécialité : **"SCIENCES AGRONOMIQUES"**

**Service Commun de la Documentation  
INPL  
Nancy-Brabois**

Fait à Vandoeuvre le, **25 Novembre 1994**

Le Président de l'I.N.P.L.,

M. LUCIUS



The image shows a handwritten signature in black ink, which appears to be 'M. Lucius', written over a circular official stamp. The stamp contains the text 'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE' around the perimeter and '1994' at the bottom. The signature is written in a cursive style.



## RESUME

Des disponibilités limitées en eau, des pathologies ou un approvisionnement en eau trop froide impliquant de longs cycles de production, amènent souvent les pisciculteurs à opter pour les techniques de recyclage des effluents piscicoles. Dans ce contexte, les techniques aquarologiques utilisées à l'Aquarium Tropical de Nancy et appliquées à l'aquaculture sont testées dans le cadre d'une production d'alevins de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* W.) de 1 g en eau recyclée et échauffée (18-20°C).

L'adaptation de ces techniques aux exigences d'un élevage intensif et à la réalisation d'un prototype de bassin d'alevinage (volume total de 1,8 m<sup>3</sup>) s'est effectuée sans difficultés majeures.

A partir de larves d'un poids moyen initial de 0,12-0,19 g et d'une densité à l'empoissonnement de 12 000 à 15 000 individus par bassin, cet équipement, fonctionnant en circuit fermé total, permet la production en 28 jours et avec un taux de survie supérieur à 90% d'alevins de 1 g, d'un état sanitaire irréprochable.

Les performances zootechniques enregistrées sont satisfaisantes. Des taux moyens de croissance favorables (22,8 mg/j/ind. pour la phase alevin de 0,12-0,5 g) et des indices de conversion alimentaire compris entre 0,70 et 0,74, proches des valeurs standards (0,69) sont obtenus à l'aide d'un aliment pressé traditionnel. L'utilisation d'un aliment à plus haute valeur énergétique enrichi en lipides (4 %) et appauvri en protéines (6%) assure une amélioration de ces performances et réduit les rejets azotés inorganiques.

Cependant, les insuffisances au niveau de la filtration biologique entraînent une accumulation de substances azotées inorganiques toxiques, principal facteur limitant de la capacité de production de l'équipement proposé. Une brusque élévation des teneurs en nitrites fixe la charge piscicole maximale admissible à 15-16 kg/bassin et la capacité de production à 200 kg/an.

A court terme, l'intégration du bassin d'alevinage dans un cycle de production reste toutefois envisageable.