

N° d'ordre :  
N° de série :

## **T H E S E**

présentée devant

**L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE  
DE RENNES**

pour obtenir le titre de Docteur de l'ENSAR

par

Miguel Angel FRANCO NAVA

**Titre :**

### **Origine, devenir et contrôle de la matière particulière dans les élevages de poissons marins en système recyclé**

thèse préparée à la Station d'aquaculture marine de l'IFREMER à Palavas-les-Flots  
présentée le 20 octobre 2003 devant le jury composé de

M.	J.Y. Le GALL	Professeur à l'ENSAR	Président
M.	G. BOEUF	Professeur à l'Université Pierre & Marie Curie	Rapporteur
Mme.	D. ALDANA ARANDA	Professeur CINVESTAV-IPN au Mexique	Rapporteur
M.	J.P. BLANCHETON	Chargé de recherche IFREMER	Examineur
M.	J. HUSSENOT	Chargé de recherche IFREMER CREMA-L'Houmeau	Examineur
M.	P. RICHARD	Chargé de recherche CNRS CREMA- L'Houmeau	Examineur

## AVANT - PROPOS

Le travail ici présenté s'est déroulé dans le cadre du programme Franco-Mexicain de coopération scientifique et technologique SFERE-COSNET avec le soutien d'une bourse du ministère de l'éducation mexicain (SEP-México-COSNET-99271P). Une coopération étroite entre l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (ENSAR) et le Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée de l'IFREMER à Palavas ont rendu possible la réalisation de ce projet académique.

Je tiens à remercier les Ministères de l'éducation français et mexicain pour leur soutien bilatéral dans la réalisation de ce travail à travers les organismes suivants :

SEP, SEIT, COSNET, DGECyTM, ITMAR-Mazatlán et la SFERE pour leur soutien financier et administratif.

L'ENSAR et l'IFREMER pour leur accueil et leur contribution à la réalisation de ce projet.

Je remercie également les personnes impliquées tout au long de ce travail :

J.Y. Le GALL pour le suivi de mon travail ainsi que pour sa confiance et son soutien.

J.P. BLANCHETON pour la direction et la coordination de ma thèse, ainsi que pour ses encouragements et son amitié.

D. ALDANA ARANDA et G. BOEUF, pour avoir accepté d'évaluer cette thèse

P. RICHARD et J.HUSSENOT, pour les remarques apportées à ce travail ainsi que pour leurs conseils

A.DOSDAT et D. LACROIX pour leur accueil au sein de la station IFREMER de Palavas-les-flots

J.MALLARD et M.F.GAILLARD pour leur soutien administratif et leur accueil à l'ENSAR

S.ELIAS de la société E.P.M.-Europe, G.FOURNIER et L.SABARICH pour leur participation à l'étude sur la filtration diatomée.

R. METAILLER, toute l'équipe A.R.N. du centre IFREMER de Brest et Dominique CORLAY de la société « Le Gouessant » pour leur participation à l'étude sur l'aliment modifié.

A. CHARRIER, L. JOASSARD pour avoir fourni de précieux résultats

C. PRZYBYLA, G. DUTTO, E. GASSET pour leur contribution technique essentielle

D. COVES pour ses apports à mon travail et ses conseils

J.A. FARIAS, M. SPANOPOULOS et collègues de l'ITMAR de Mazatlán pour leur soutien et leurs encouragements pendant toutes ces années

A toute l'équipe Milieu-Santé, les chercheurs, les techniciens et le personnel administratif de la station IFREMER de Palavas pour leur accueil

Merci aussi à tous ceux qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail et très particulièrement à Ana Laura, Martha Gabriela, Jean-Paul, Aurélie, Tony, Laurent, Danielle, Eliane et à toute ma famille pour leur soutien et leur patience, sans vous rien ne serait fait.

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>5</b>
<b>CHAPITRE 1. EXPOSE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1. L'ELEVAGE DES POISSONS MARINS</b> .....	<b>7</b>
<b>1.2. L'AQUACULTURE EN SYSTEME CONTROLE</b> .....	<b>8</b>
1.2.1. <i>Le compartiment poisson</i> .....	11
1.2.2. <i>Le compartiment dissous</i> .....	11
1.2.3. <i>Le compartiment bactérien</i> .....	13
1.2.4. <i>Le compartiment particulaire</i> .....	14
<b>1.3. BIOCHIMIE ET GEOCHIMIE DE LA MATIERE PARTICULAIRE EN MILIEU MARIN</b> .....	<b>14</b>
1.3.1. <i>Le rapport C/N</i> .....	14
1.3.2. <i>Rappel sur les isotopes</i> .....	15
1.3.3. <i>Notation de fractionnement isotopique</i> .....	15
1.3.4. <i>Le traçage isotopique</i> .....	17
<b>1.4. CONTROLE DE LA MATIERE PARTICULAIRE DANS LES SYSTEMES DE RECIRCULATION</b> .....	<b>19</b>
1.4.1. <i>Décanteurs et hydrocyclones</i> .....	19
1.4.2. <i>Filtration</i> .....	21
1.4.3. <i>Alimentation et contrôle du nourrissage</i> .....	22
1.4.4. <i>Ozonation</i> .....	24
<b>CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>25</b>
<b>2.1. DESCRIPTION DU SYSTEME DE RECIRCULATION POUR L'ELEVAGE DU BAR (<i>Dicentrarchus labrax</i>)</b> .	<b>25</b>
2.1.1. <i>Le Système de Recirculation (SR)</i> .....	25
2.1.2. <i>Le Système ouvert (SO)</i> .....	26
<b>2.2. LES POISSONS ET LEUR ALIMENTATION</b> .....	<b>27</b>
<b>2.3. CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES</b> .....	<b>27</b>
<b>2.4. COLLECTE ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS</b> .....	<b>28</b>
<b>2.5. ANALYSE SUR LA MATIERE DISSOUE</b> .....	<b>28</b>
<b>2.6. ANALYSE DU CARBONE ET DE L'AZOTE ELEMENTAIRE ET ISOTOPIQUE SUR LA MATIERE PARTICULAIRE</b> .....	<b>29</b>
<b>2.7. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES</b> .....	<b>30</b>
<b>CHAPITRE 3. ETUDE DES PROCESSUS DE TRANSFORMATION DE LA MATIERE PARTICULAIRE EN UTILISANT LE TRAÇAGE ISOTOPIQUE NATUREL</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>31</b>
3.1.1. <i>Calculs et analyses statistiques</i> .....	34
<b>3.2. RESULTATS</b> .....	<b>35</b>
3.2.1. <i>Différences isotopiques</i> .....	35
3.2.2. <i>Sources de matière particulaire dans le système de recirculation</i> .....	39
3.2.3. <i>Contribution des sources identifiées à la matière particulaire</i> .....	40
<b>3.3. DISCUSSION ET CONCLUSION</b> .....	<b>41</b>
3.3.1. <i>Différences isotopiques</i> .....	43
3.3.2. <i>Sources de matière particulaire dans le système de recirculation</i> .....	44
3.3.3. <i>Contribution des sources identifiées à la matière particulaire</i> .....	46
<b>CHAPITRE 4. EFFETS DE LA TAILLE DES POISSONS ET DU DEBIT SUR LA DISTRIBUTION DE LA MATIERE PARTICULAIRE ET LE FONCTIONNEMENT DES DISPOSITIFS DE TRAITEMENT</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>51</b>
4.1.1. <i>Comparaison entre les deux tailles de poisson</i> .....	51
4.1.2. <i>Expériences aux régimes hydrauliques différents</i> .....	51
4.1.3. <i>Calculs et analyses statistiques</i> .....	52
<b>4.2. RESULTATS</b> .....	<b>54</b>
4.2.1. <i>Croissance, rétention et assimilation de l'aliment</i> .....	54
4.2.2. <i>Bassin d'élevage</i> .....	55
4.2.3. <i>Pièges à particules</i> .....	57
4.2.4. <i>Filtre HYDROTECH</i> .....	58
4.2.5. <i>Boucle de traitement</i> .....	59
<b>4.3. DISCUSSION ET CONCLUSION</b> .....	<b>63</b>
4.3.1. <i>Bassin d'élevage</i> .....	64

4.3.2. Evacuation des solides .....	67
4.3.3. Boucle de traitement et bilan de masse .....	68
<b>CHAPITRE 5. EFFETS DU CARBONE ORGANIQUE PARTICULAIRE SUR L'EFFICACITE DE LA FILTRATION BIOLOGIQUE .....</b>	<b>71</b>
<b>5.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>72</b>
<b>5.2. RESULTATS .....</b>	<b>74</b>
<b>5.3. DISCUSSION ET CONCLUSION .....</b>	<b>74</b>
<b>CHAPITRE 6. UTILISATION D'ADDITIFS DANS L'ALIMENT POUR AMELIORER L'ELIMINATION DE LA MATIERE PARTICULAIRE ET EFFET SUR LE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME.....</b>	<b>79</b>
<b>6.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>79</b>
6.1.1. Système expérimental .....	79
6.1.2. Les poissons et leur alimentation .....	80
<b>6.2. RESULTATS .....</b>	<b>82</b>
6.2.1. Conditions environnementales .....	82
6.2.2. Biométries .....	84
6.2.3. Matière dissoute .....	87
6.2.4. Matière particulaire .....	90
<b>6.3. DISCUSSION ET CONCLUSION.....</b>	<b>93</b>
6.3.1. Conditions environnementales .....	93
6.3.2. Biométries .....	93
6.3.3. Matière dissoute .....	93
6.3.4. Matière particulaire .....	94
<b>CHAPITRE 7. DESCRIPTION DU MODELE DE FONCTIONNEMENT DE LA MATIERE PARTICULAIRE DANS LES SYSTEMES DE RECIRCULATION POUR L'ELEVAGE DE POISSONS MARINS .....</b>	<b>95</b>
<b>7.1. DEFINITION DU PROBLEME .....</b>	<b>95</b>
7.1.1. Variables d'état.....	96
<b>7.2. CONSTRUCTION DU MODELE.....</b>	<b>97</b>
7.2.1. Sous-modèle poisson .....	97
7.2.2. Sous-modèle de production nette de solides (PNS) .....	101
7.2.3. Sous-modèle d'évacuation des solides (SE) .....	101
7.2.4. Sous-modèle de « consommation » par la boucle de traitement.....	102
<b>7.3. DISCUSSION ET CONCLUSIONS.....</b>	<b>102</b>
7.3.1. Conception du modèle.....	102
7.3.2. Evacuation de solides.....	103
7.3.3. Transformations dans la boucle de traitement.....	104
<b>CHAPITRE 8. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>107</b>
<b>8.1. ORIGINE DE LA MATIERE PARTICULAIRE DANS UN SYSTEME DE RECIRCULATION POUR LES POISSONS MARINS.....</b>	<b>107</b>
<b>8.2. DEVENIR ET CONTROLE DE LA MATIERE PARTICULAIRE DANS UN SYSTEME DE RECIRCULATION POUR LES POISSONS MARINS .....</b>	<b>107</b>
<b>8.3. PERSPECTIVES .....</b>	<b>108</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>111</b>
<b>GLOSSAIRE.....</b>	<b>123</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>125</b>

## INTRODUCTION

La matière particulaire, riche en substances organiques, joue un rôle essentiel dans le fonctionnement des systèmes aquacoles en recirculation (Chen *et al.*, 1994). Plusieurs auteurs ont rapporté les effets négatifs de sa présence et de son accumulation dans le circuit (Losordo *et al.*, 1998; Liltved et Cripps, 1999; Singh *et al.*, 1999 ; Cripps et Bergheim, 2000) et des recherches sont menées afin de trouver des moyens pour réduire son impact sur le fonctionnement des systèmes d'élevage. De nombreuses questions subsistent encore à propos de : 1) l'efficacité des éléments du système pour son contrôle, 2) l'effet des conditions d'élevage sur cette efficacité, 3) la participation des différentes sources de matière organique dans la composition des particules et 4) l'effet de nouvelles stratégies de contrôle des particules sur le fonctionnement du système, notamment sur la filtration biologique.

L'objectif de ce travail est d'apporter des éléments de réponse à ces questions, en proposant une méthodologie de caractérisation et de quantification de la matière organique dans un système de recirculation de l'eau pour l'élevage de poissons marins. L'application de cette méthodologie nous a conduit à la construction d'un modèle de distribution de la matière particulaire qui prend en compte l'efficacité des dispositifs de traitement inclus dans le système de recirculation. Ultérieurement, cet outil d'évaluation peut être utilisé, pour la gestion et l'implantation d'élevages aquacoles en système recyclé.

L'étude des transformations de la matière organique en milieu aquatique est un sujet complexe. Les particules en suspension rassemblent les conditions idéales pour la colonisation bactérienne et donc la minéralisation de la matière organique. La compréhension de cette étroite interaction entre les cycles bio-géochimiques du carbone et de l'azote dans les systèmes recirculés est déterminante pour définir et appliquer des mesures de contrôle efficaces et adaptées pour l'élevage.

Les isotopes stables du carbone ( $^{13}\text{C}$ ) et de l'azote ( $^{15}\text{N}$ ) sont naturellement présents dans l'environnement. Ils ont été utilisés comme traceurs pour déterminer le flux et les réactions bio-géochimiques du carbone et de l'azote en milieu marin (Mariotti *et al.*, 1984; Velinsky et Fogel, 1999; McGhie *et al.*, 2000), et leur utilisation est chaque jour plus fréquente dans les domaines de la physiologie et de l'écologie.

Dans cette étude, les analyses isotopiques ont constitué un outil essentiel pour identifier et quantifier les transformations de la matière particulaire dans les processus physiques et

biologiques qui ont lieu au sein d'un système de recirculation. Cette connaissance sur l'origine et les transformations de la matière particulaire nous a permis d'appliquer certains mécanismes de contrôle et de mieux évaluer leurs effets sur le fonctionnement du circuit.

Ce travail propose des réponses aux questions de recherche suivantes : “Quels sont les constituants de la matière particulaire dans les systèmes d'élevage de poissons marins?”, “Dans quelle proportion les processus de traitement du système modifient ses caractéristiques?” et “Quels sont les effets de la qualité de la matière particulaire sur le fonctionnement du système?”.

## CHAPITRE 1. EXPOSE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1.1. L'ÉLEVAGE DES POISSONS MARINS

La production de poissons marins (principalement *Sparus aurata* et *Dicentrarchus labrax*) et de larves de crevettes sont probablement les plus développées des activités aquacoles côtières à terre et sont concentrées dans les pays méditerranéens de l'Union Européenne ainsi qu'en Turquie, pays qui exportent une partie de leur production. Chypre, l'Israël et la Tunisie produisent suffisamment d'alevins pour alimenter leur aquaculture côtière à terre ou en cage (FAO, 1999).

En ce qui concerne la production de l'aquaculture marine et de l'élevage en eau saumâtre, les données indiquent un taux de croissance annuel moyen d'environ 12 pour cent de 1996 à 2000, contre 9 pour cent de 1994 à 1998. La production de 358 300 tonnes en 2000 est principalement due à une augmentation de la production des poissons de mer, qui représente plus de 48 pour cent de la production totale en mer et en eau saumâtre. Pour ce qui est du taux de croissance, la dorade royale (*Sparus aurata*) et le bar (*Dicentrarchus labrax*) continuent à jouer un rôle de premier plan, devancés uniquement par le mullet à grosse tête (*Mugil cephalus*) (FAO, 2002)

En ce qui concerne la part de l'aquaculture dans l'économie, il a été constaté qu'en 2000, quinze espèces seulement représentaient 93 pour cent de la valeur totale de l'aquaculture, soit 2 780 millions d'euros, les poissons de mer figurant au premier rang avec 1 180 millions d'euros. Toujours en 2000, la dorade et le bar représentaient plus de 25 pour cent de la valeur totale de l'aquaculture. La croissance moyenne de la valeur de ces deux espèces représentait presque la moitié du taux de croissance moyen de la production (FAO, 2002).

Le développement de l'aquaculture a aussi des effets spécifiques sur l'environnement. Les principaux rejets générés par la pisciculture marine intensive sont sous forme particulaire, riche en matière organique, et sous forme dissoute, riche en nutriments inorganiques (Páez-Osuna *et al.*, 1997; Barak et van Rijn, 2000). Rejetés dans le milieu naturel, ces effluents peuvent modifier l'équilibre du bassin récepteur, provoquer une diminution de la concentration en oxygène et une augmentation de pH, et contribuer à la mortalité de divers organismes aquatiques (Smith *et al.*, 1999). Ce phénomène appelé eutrophisation est le résultat de l'augmentation de la concentration en nutriments par rejet direct ou par

dégradation de matière organique particulaire (Wahab et Stirling, 1988 ; Acketors et Enell, 1994 ; Arzul *et al.*, 1996 ; McGhie *et al.*, 2000).

L'impact environnemental de l'activité aquacole est variable. Il est déterminé par les caractéristiques hydrologiques du bassin récepteur et par les conditions de gestion des fermes aquacoles. Par exemple, Enell et Loelf (1983) ont publié que les cages de salmonidés suédoises produisent de 17 à 26 g de sédiments par m<sup>2</sup> par jour. A une autre échelle, Seymour et Bergheim (1991) ont estimé que les fermes en Norvège rejettent 42000 tonnes de fèces en poids sec pour produire 150000 tonnes du saumon par an, c'est-à-dire, 1 kg de matière particulaire pour 3,6 kg de poisson produit.

## 1.2. L'AQUACULTURE EN SYSTÈME CONTRÔLÉ

Les systèmes de recirculation (SR) sont une application de la biotechnologie qui prennent en compte des relations complexes entre la qualité de l'eau, les caractéristiques techniques du système et les métabolismes des organismes aquatiques (Singh *et al.*, 1999). Les technologies modernes consistent en l'élimination des matières particulaires, la nitrification et le contrôle des pathogènes, du pH et du CO<sub>2</sub> (Boley, *et al.*, 2000). En général, elles sont basées sur le modèle présenté dans la figure 1.

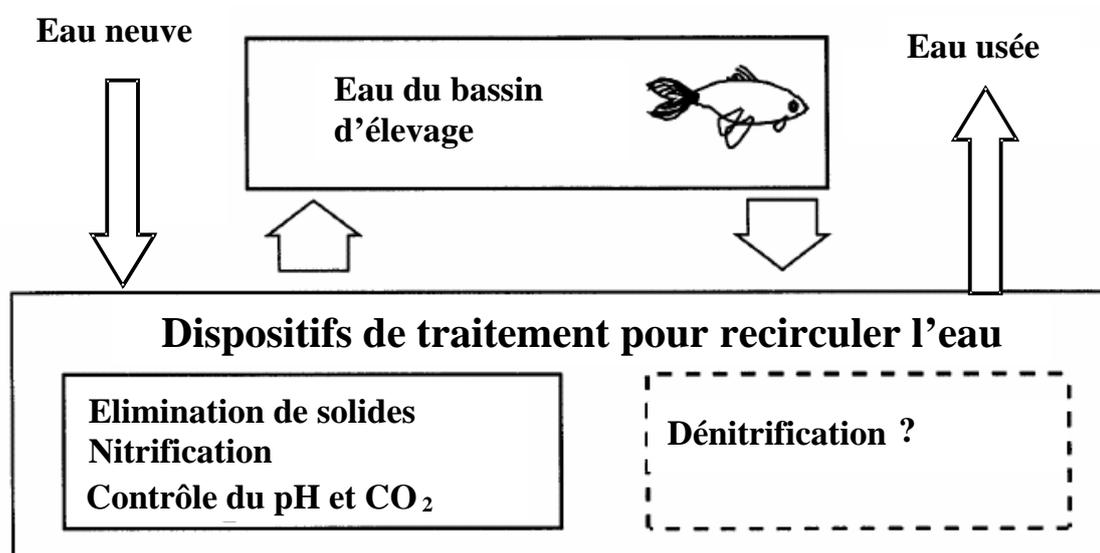


Figure 1. Modèle simplifié du système de recirculation aquacole

Ces technologies peuvent être classées en dispositifs de traitement physique, biologique et chimique. L'objectif des étapes d'épuration est de maintenir les conditions environnementales

adéquates pour l'espèce ou les espèces en élevage (Barak et van Rijn, 2000; Blancheton, 2000).

Les systèmes de recirculation contribuent à limiter les problèmes de pollution engendrés par les rejets des effluents de l'aquaculture intensive dans le milieu naturel (Pagand *et al.*, 2000). Ils limitent les apports en eau neuve, économisent l'espace, optimisent les transferts d'énergie pour la production de biomasse, permettent de contrôler les variables environnementales mais également avoir des co-produits, comme par exemple, des huîtres, des algues. Plusieurs niveaux trophiques peuvent être intégrés pour limiter au maximum les décharges (Shpigel *et al.*, 1992 ; Krom *et al.*, 1995 ; Quilleré *et al.*, 1995 ; Van Rijn, 1996 ; Neori *et al.*, 2002).

Blancheton et Coves (1993) ont fait une description des systèmes recirculés et de leurs perspectives de développement pour l'élevage des poissons marins. En Europe, ces types de systèmes d'élevage sont principalement utilisés pour le pré-grossissement de différentes espèces de poissons (bar, daurade, etc.). Cependant, leur utilisation pour le grossissement au niveau commercial (de plusieurs centaines à plusieurs milliers de tonnes) nécessite la résolution de plusieurs problèmes lors du changement d'échelle (Blancheton, 2000). Les réponses à ces problèmes techniques sont basées sur la compréhension et les possibilités de contrôle des compartiments du fonctionnement du système de recirculation.

Quatre modèles qui déterminent le fonctionnement des SR ont été identifiés pour l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*) en système recirculé (Blancheton, *comm. pers.*): a) le modèle concernant la croissance des poissons; b) le modèle de génération et transformation de métabolites dissous; c) le modèle de génération et de transformation de matière particulaire; d) le modèle des processus bactériens de transformation (fig.2).

« Le modèle poisson » intègre le contrôle des variables environnementales et d'alimentation des poissons et les exprime en biomasse. Ce modèle est basé sur la performance zootechnique des élevages en systèmes ouverts (Tanguy et Le Grel, 1989) et les produits métaboliques des poissons (Dosdat *et al.*, 1996 ; Sanni et Forsberg, 1996).

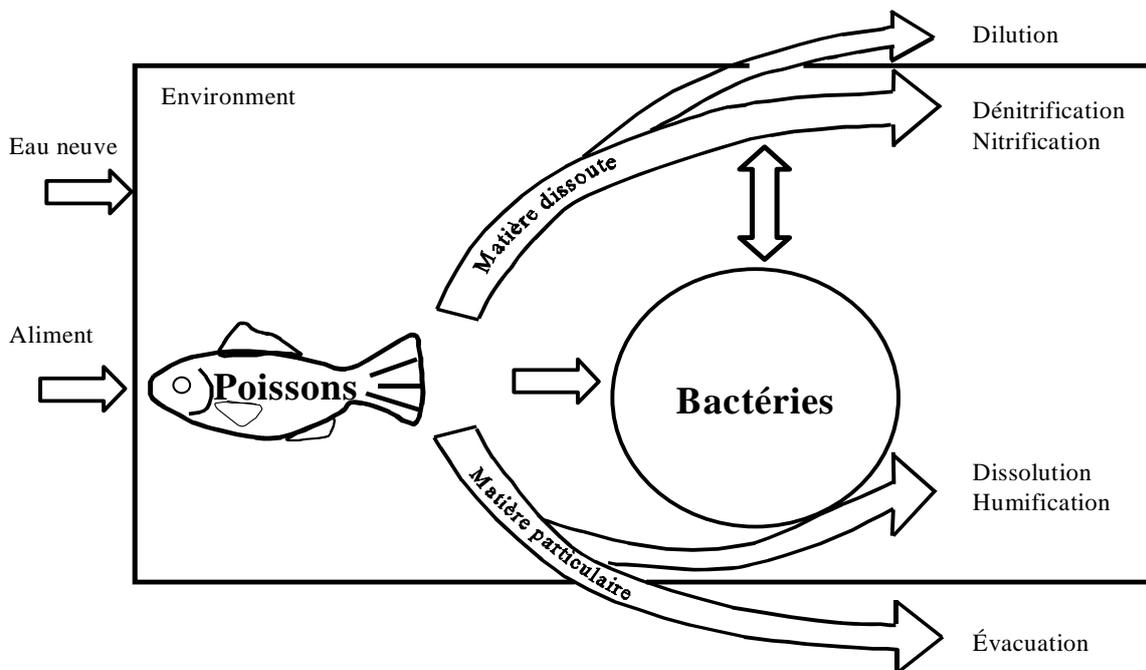


Figure 2. Modèle du fonctionnement du système de recirculation aquacole représentant les compartiments suivants : 1) Poissons, 2) Matière dissoute, 3) Matière particulaire, 4) Bactéries.

« Le modèle de matière dissoute » fonctionne à partir de produits métaboliques du poisson sous forme dissoute. Il est fortement affecté par l'efficacité de la filtration biologique et le taux de renouvellement d'eau dans le système de recirculation (Pagand *et al.*, 2000; Léonard *et al.*, 2002).

« Le modèle de matière particulaire » est aussi le résultat du métabolisme des poissons. Il est fortement affecté par le contrôle de la matière particulaire. Son fonctionnement affecte l'efficacité de la filtration biologique et incorpore la production en biomasse bactérienne.

« Le modèle bactérien » est divisé en deux modules. Un module autotrophe basé sur la cinétique de nitrification qui détermine l'efficacité de la filtration biologique (Losordo et Hobbs, 2000; Blancheton *et al.*, 2001), et un module hétérotrophe qui détermine la productivité en biomasse bactérienne par les systèmes de recirculation (Léonard, 2000).

### 1.2.1. Le compartiment poisson

Le modèle de croissance du bar dans des cages en mer (pour un pas de temps de 7 jours) est le suivant (Tanguy et Le Grel, 1989):

$$P_{(j+7)} = P_j (TCJ/100+1)^7$$

Où

$$TCJ = \alpha P_j^{-0,34} e^{0,12t}$$

P= poids du poisson en g, j= jour, T= température hebdomadaire en °C

$\alpha = 0,2$  pour  $10^\circ\text{C} < T < 14,5^\circ\text{C}$  et  $T > 26^\circ\text{C}$

ou

$\alpha = 0,3$  pour  $14,5^\circ\text{C} \leq T \leq 26^\circ\text{C}$

Une autre approche de la croissance pour des poissons élevés en bassins de terre, publiée récemment par Lefebvre *et al.* (2001), permet de déterminer la croissance des poissons à un taux horaire et d'évaluer les apports en azote au milieu naturel par l'activité aquacole.

Par ailleurs, chaque unité d'exploitation peut être représentée par un modèle empirique particulier pour les conditions de gestion locales. Les résultats de ces modèles permettent d'ajuster les prédictions faites par les modèles commerciaux. Il y a ainsi plusieurs applications informatisées qui permettent d'obtenir, pour les espèces les plus communes, une prédiction de croissance dans les conditions paramétrables pour ce genre de modèles (température, charge, type d'alimentation, etc.) (Bernard, 1983; Cuenco *et al.*, 1985a,b,c; Ernst *et al.*, 2000).

### 1.2.2. Le compartiment dissous

Les excréments dissoutes produites par les poissons (ou d'autres organismes en élevage) sont principalement des composés azotés (Dosdat *et al.*, 1996) et du carbone inorganique dissous sous forme de dioxyde de carbone (Sanni et Forsberg, 1996). Ces excréments peuvent être estimés par l'utilisation de modèles qui prennent en compte le métabolisme de l'espèce en élevage, ainsi que la composition de l'aliment consommé (Schuster et Stelz, 1998).

Une autre voie de production des substances dissoutes, celle-ci moins précise en termes de quantification, est la voie du lessivage du matériel fécal. Il n'y a pas beaucoup d'informations

sur ce sujet, mais nous pouvons citer Lanari et Franci (1998) qui ont estimé que la concentration en matière organique dissoute issue des féces et de l'aliment se situe entre 8,67 à 16,91 g/l à la sortie du bassin d'élevage dans un système de recirculation pour truite arc-en-ciel (eau douce).

Par ailleurs, Nijhof (1995) met l'accent sur la nécessité d'étudier les effets du taux de renouvellement du circuit fermé sur l'efficacité des filtres biologiques qui oxydent l'ammonium en nitrates.

L'excrétion dissoute peut être estimée à partir des données d'alimentation et de la connaissance du métabolisme de l'espèce en élevage. Ce type d'excrétion est aussi fonction de la digestibilité de l'aliment et conséquemment de leur qualité biochimique. L'approche bioénergétique, en combinaison avec les bilans de masse correspondants, est couramment utilisée par les modélisateurs afin d'obtenir les quantités de matière dissoute (sur la base de l'azote et du phosphore principalement) qui sont apportées par les poissons à son environnement (Jamu et Piedrahita, 2002). Comme résultat de ces relations, plusieurs modèles de production de la matière dissoute ont été publiés pour différentes conditions et espèces en élevage (Hargreaves, 1997 ; Pàez-Osuna *et al.*, 1997; Lupatsch et Kissil, 1998; Kaushik, 1998; Gross *et al.*, 2000; Losordo et Hobbs, 2000; Jimenez-Montealegre *et al.*, 2002; Li et Yakupitiyage, 2003).

L'utilisation des modèles simulant les évolutions de la croissance et de la ration alimentaire, permet de déduire l'évolution de la quantité d'azote consommé selon l'équation proposée par Pagand (1999) pour *D. labrax*.

$$NI = 134,10^{-6} \times PB \times n \times (W_o^{0,61} + 0,085 \times t)^{0,97}$$

Où NI = quantité d'azote ingérée par les poissons (g N.j<sup>-1</sup>), PB = concentration en protéines (%), n= nombre de poissons en élevage, W<sub>o</sub>= Poids moyen initial des poissons (g) et t = temps en jours d'élevage.

Ainsi, l'azote ingéré ne dépend que du "temps", du nombre de poissons en élevage, du poids moyen initial des poissons et du taux de protéines dans l'aliment (système recirculé régulé à taux de renouvellement constant et 22°C de température).

La production d'azote inorganique dissous dans l'effluent d'un élevage en circuit ouvert est essentiellement liée à l'excrétion ammoniacale des poissons par voie branchiale. Cette voie représente entre 80-90% du total de l'azoté excrétée par les poissons téléostéens. Dans le cas de *Dicentrarchus labrax*, selon les conditions d'élevage et le poids des poissons, le taux d'excrétion peut être estimé entre 150 et 450 mg-N par kg de biomasse en poids frais par jour (Ballestrazzi *et al.*, 1994 ; Dosdat *et al.*, 1996).

Le modèle proposé par Sanni et Forsberg (1996) permet d'estimer l'excrétion de CO<sub>2</sub> à partir de taux de consommation d'oxygène par les poissons et de leur quotient respiratoire (R.Q.= moles CO<sub>2</sub> excrétées / moles O<sub>2</sub> consommées).

Ainsi, la production de CO<sub>2</sub> peut être calculée utilisant :

$$M \text{ CO}_2 = 1,375 \times M \text{ O}_2 \times R.Q.$$

Où M CO<sub>2</sub> = Taux d'excrétion de CO<sub>2</sub> par les poissons (mg CO<sub>2</sub> kg<sub>poisson</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>), M O<sub>2</sub> = Taux de consommation de l'oxygène (mg O<sub>2</sub> kg<sub>poisson</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) et la constante 1,375 et le facteur de conversion pour MCO<sub>2</sub> et MO<sub>2</sub> de mol kg<sub>poisson</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> à mg kg<sub>poisson</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>.

La consommation d'oxygène peut être estimée, pour l'espèce en question (*Dicentrarchus labrax* par exemple), à partir de courbes de respiration obtenues expérimentalement, alors que le R.Q. peut être calculé utilisant :

$$R.Q. = \frac{0,7E_l + 0,9E_p + 1,0E_g}{E_l + E_p + E_g}$$

où E<sub>l</sub>, E<sub>p</sub> et E<sub>g</sub> sont l'énergie métabolique apportée par les lipides, les protéines et les glucides contenus dans l'aliment en MJ/kg.

### 1.2.3. Le compartiment bactérien

Blancheton et Canaguier (1995) ont trouvé une concentration de matière particulaire sèche d'environ 13 mg/l à la sortie de bassins d'élevage d'alevins de bar, sans trouver une relation significative entre la biomasse bactérienne et la concentration des matières particulaires. Il apparaît cependant que les populations bactériennes hétérotrophes sont fortement liées à la quantité de carbone organique constituant la matière particulaire (Degens *et al.*, 2000).

Pour les bases d'un modèle de fonctionnement bactérien, Leonard *et al.* (2000) recommandent d'utiliser le ratio : nourriture ingérée/renouvellement d'eau, pour caractériser le nombre de bactéries du SR, mis à part d'autres caractéristiques physiques du système d'élevage.

#### *1.2.4. Le compartiment particulaire*

Actuellement, on connaît mal l'origine des éléments qui composent la matière particulaire dans les circuits. On sait que la matière particulaire subit plusieurs modifications dans les systèmes de recirculation, cependant les techniques traditionnelles n'ont pas permis de connaître précisément la proportion de fèces et d'aliment non consommés qui restent sous forme particulaire. De plus, peu d'informations sont disponibles sur leur évolution dans le système.

Néanmoins, les ratios isotopiques du carbone et de l'azote de la matière particulaire peuvent être modifiés par les processus biologiques qui ont lieu en milieu aquatique (Cifuentes *et al.*, 1989 ; Keough *et al.*, 1998 ; Machàs et Santos, 1999). En conséquence, l'analyse isotopique de la matière particulaire permettrait d'une part d'identifier les zones de stockage et d'autre part, de choisir les modèles qui décriront son origine et ses transformations.

### **1.3. BIOCHIMIE ET GÉOCHIMIE DE LA MATIÈRE PARTICULAIRE EN MILIEU MARIN**

#### *1.3.1. Le rapport C/N*

En milieu marin, le cycle bio-géochimique du carbone est couplé aux cycles de l'azote et du phosphore par des processus biologiques de transformation. Le rapport C/N est associé à la photosynthèse, à la respiration, à la décomposition, etc. (Ver *et al.*, 1999 ; Voss *et al.*, 2000). Ce ratio est un excellent indicateur de perturbations dans le milieu naturel, car il est modifié par l'apport des déchets anthropogéniques (Kline, 1999).

Quand la matière organique est minéralisée, l'azote est utilisé plus rapidement que le carbone et comme résultat, le nouveau matériel ainsi formé est caractérisé par un rapport C/N élevé (Nixon et Pilson, 1983).

Le rapport C/N ne donne pas d'informations à propos de la source du carbone ou de l'azote qui génère le changement. En revanche, les formes isotopiques du carbone et de l'azote ont

été utilisées dans plusieurs études écologiques et physiologiques, pour décrire le flux de matières organiques dans les réseaux alimentaires (Owen *et al.*, 1999 ; Vander Zanden et Rasmussen, 2001), pour suivre le mouvement animal et les migrations, ainsi que pour montrer les stratégies d'alimentation (Fry, 1999).

### 1.3.2. Rappel sur les isotopes

Les isotopes sont des éléments chimiques possédant le même nombre d'électrons et de protons, mais un nombre différent de neutrons, ce qui détermine un nombre de masse particulier à chaque isotope. La plupart des éléments ont plusieurs isotopes stables (hydrogène :  $^1\text{H}$ , D ; carbone :  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  ; azote  $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$  ; Oxygène :  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$  ; soufre :  $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{36}\text{S}$ ). Un des isotopes est toujours nettement majoritaire par rapport aux autres (Tableau 1).

Tableau 1 : Abondances naturelles moyennes des principaux isotopes\*

Elément	Isotopes	
Azote	$^{14}\text{N}$ : 99,63 %	$^{15}\text{N}$ : 0,37 %
Carbone	$^{12}\text{C}$ : 98,89 %	$^{13}\text{C}$ : 1,11 %
Hydrogène	$^1\text{H}$ : 99,98 %	D : 0,01 %
Oxygène	$^{16}\text{O}$ : 99,76 %	$^{18}\text{O}$ : 0,20 %
Soufre	$^{32}\text{S}$ : 95,00 %	$^{34}\text{S}$ : 4,22 %

\*Modifié de Riera, (1995).

Les mesures de rapports isotopiques sont réalisées par rapport à un standard universel et données en unités  $\delta$ , qui expriment une différence relative entre les rapports isotopiques (par exemple pour le cas du carbone, le rapport  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ) dans l'échantillon et dans le standard. Les variations mesurées étant généralement très faibles, les valeurs sont multipliées par mille et on utilise alors la notation  $\delta \text{‰}$ . La matière organique étant très généralement appauvrie en  $^{13}\text{C}$  par rapport à ce standard, les valeurs sont le plus souvent négatives pour le carbone.

### 1.3.3. Notation de fractionnement isotopique

Les légères variations de masse entre les formes isotopiques d'un même élément entraînent des différences pour certaines propriétés physico-chimiques comme la densité, le volume

molaire, les temps de vaporisation et de condensation, les conditions de précipitation, la pression de vapeur, la viscosité, mais aussi la vitesse des réactions et les constantes d'équilibre. De même, la vitesse des réactions enzymatiques est affectée par la composition isotopique.

Ainsi, au cours des processus physiques, chimiques ou biologiques, des différences de composition isotopique se créent entre les réactifs et les produits formés. Cette différence représente le fractionnement isotopique (Mariotti, 1982) ce qui exprime une signature spécifique de la matière susceptible d'être utilisée comme marqueur naturel.

Les valeurs  $\delta$  des produits et des réactifs (assumant une consommation incomplète) dans un processus biologique, physique ou chimique, sont différents quand les isotopes en question (respectivement,  $^{13}\text{C}$  et  $^{12}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}$  et  $^{14}\text{N}$  pour  $\delta^{13}\text{C}$  ou  $\delta^{15}\text{N}$ ) réagissent à une vitesse différente. Ce phénomène, appelé effet isotopique est exprimé comme le ratio des constantes de vitesse de réaction ( $k$ ) des deux isotopes en question. Il est équivalent au rapport  $R_{\text{réactifs}}/R_{\text{produits}}$  où  $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ou  $R = ^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  respectivement pour  $\delta^{13}\text{C}$  ou  $\delta^{15}\text{N}$ . La vitesse de réaction de l'isotope léger est régulièrement plus importante que celle de l'isotope lourd, donc l'effet isotopique sur la vitesse de réaction est typiquement  $>1$  (Fry, 190).

Dans les processus biologiques, chaque étape intermédiaire d'une séquence complète de réactions a son propre effet isotopique sur la cinétique de réaction (Shearer et Kohl, 1986). Dans les études de terrain, le fractionnement global qui est observé ( $\beta_{\text{obs}}$ ) pour une réaction est plus intéressant que les effets intermédiaires. Dans un système ouvert où le substrat n'est pas limité,  $\beta_{\text{obs}}$  peut être calculé comme :

$$\beta_{\text{obs}} = R_{\text{réactifs}} / R_{\text{produits}}$$

où la valeur de  $\beta_{\text{obs}}$  est fonction de trois facteurs : 1) L'effet isotopique de chaque étape intermédiaire de la séquence de réactions. 2) Le taux relatif de chaque étape par rapport au processus global 3) Le mécanisme de la réaction spécifique (Shearer et Kohl, 1992). L'autre facteur de fractionnement couramment utilisé est le suivant :

$$\alpha = 1 + ((\delta_{\text{source}} - \delta_{\text{produit}}) / 1000)$$

Il est susceptible d'être affecté par les mêmes facteurs que  $\beta_{\text{obs}}$ . La plupart (sinon tous) des processus biologiques présentent des effets isotopiques, mais le fractionnement isotopique varie particulièrement en fonction du processus en question (Tableau 2).

Tableau 2. Fractionnement isotopique pour quelques processus biotiques et abiotiques dans le cycle de l'azote<sup>1</sup>.

Processus	$\alpha$			$\beta$		
	médiane	minimum	maximum	médiane	minimum	maximum
<b>Biotique</b>						
Ammonification				1,0025	1,0000	1,0050
Assimilation de $\text{NH}_4^+$	1,0158 <sup>a</sup>	1,0091 <sup>a</sup>	1,0200 <sup>a</sup>	1,0050	1,0050	1,0050
Assimilation de $\text{NO}_2^-$	1,0210 <sup>a</sup>	1,0000 <sup>a</sup>	1,0360 <sup>a</sup>			
Assimilation de $\text{NO}_3^-$	1,0142 <sup>a</sup>	1,0027 <sup>a</sup>	1,0300 <sup>a</sup>			
Dénitrification	1,0060 <sup>b</sup>	1,0025 <sup>b</sup>	1,0330 <sup>b</sup>	1,0185	1,0000	1,0200
Fixation de $\text{N}_2$	1,0020 <sup>a</sup>	0,9910 <sup>a</sup>	1,0090 <sup>a</sup>	1,0013	0,9963	1,0090
Pertes de $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ pendant la dénitrification	1,0305 <sup>a</sup>	1,0280 <sup>a</sup>	1,0330 <sup>a</sup>			
Pertes de $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ pendant la nitrification	1,0600 <sup>a</sup>	1,0350 <sup>a</sup>	1,0684			
Nitrification	1,0285 <sup>a,c</sup>	1,0150 <sup>a,c</sup>	1,0350 <sup>a,c</sup>	1,0250	1,0250	1,0250
<b>Abiotiques</b>						
Echange de $\text{NH}_4^+$				1,0014	1,0014	1,0014
Volatilisation de $\text{NH}_3$	1,0400 <sup>c</sup>	1,0400 <sup>c</sup>	1,0400 <sup>c</sup>	1,0245	1,0200	1,0268

<sup>1</sup> modifié de Bedard-Haughn *et al.* (2003)

a Calculé comme  $\alpha = 1 + ((\delta^{15}\text{N}_{\text{source}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{product}})/1000)$

b Calculé comme  $\alpha = 1 + (\epsilon/1000)$  à partir de facteur d'enrichissement  $\epsilon$  qui a été publié

c Calculé comme  $\alpha = 1 + (\delta^{15}\text{N}_{\text{product}}/\delta^{15}\text{N}_{\text{source}})$

#### 1.3.4. Le traçage isotopique

Un grand nombre de publications démontrent le potentiel d'analyse qu'offrent ces isotopes stables pour comprendre les flux de matière et d'énergie dans les domaines de la physiologie et de l'écologie (Gannes *et al.*, 1998, Peterson, 1999). Les isotopes  $^{13}\text{C}$  et  $^{15}\text{N}$  ont été respectivement utilisés pour connaître les sources d'alimentation et les niveaux trophiques dans des systèmes naturels (Horrigan *et al.*, 1990 ; Mc Clelland *et al.*, 1997 ; Mc Clelland et Valiela, 1998 ; Tucker *et al.*, 1999). Ils permettent le suivi des effets et de la dispersion des effluents (urbains, agricoles, aquicoles, industriels, naturels) dans la zone côtière (Desimone et Howes, 1996; McClelland et Valiela, 1998; Machàs et Santos, 1999 ; Mazzola et Sarà, 2001). Ils ont aussi servi pour tracer les réseaux trophiques et les réactions bio-géochimiques du carbone et de l'azote en milieu marin (Mariotti *et al.*, 1984; Peterson, 1999; Velinsky et Fogel, 1999; McGhie *et al.*, 2000), de sorte que leur utilisation est chaque jour plus répandue dans le domaine de l'écologie.

Gorokhova et Hansson (1999), ont étudié en laboratoire le fractionnement trophique des isotopes chez des mysidacés, en réponse à un changement dans la composition isotopique de leur régime alimentaire. Dans cette étude, les ratios isotopiques des fèces ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) ont augmenté (+1,4 et +3,4‰, respectivement) par rapport à l'aliment, à cause de la digestion.

Par ailleurs, la mesure du  $^{13}\text{C}$  permet d'identifier la source de carbone assimilée par les bactéries, en utilisant les bilans de masse dans leur culture expérimentale (Hullar *et al.*, 1996). Néanmoins, dans ce cas particulier, les acides nucléiques bactériens doivent être extraits afin de connaître les sources du carbone utilisées par les bactéries (Coffin *et al.*, 1990 ; Pelz *et al.*, 1998) car il a été démontré qu'ils présentent une signature isotopique semblable à l'ensemble de la cellule (Cherrier *et al.*, 1999). L'extraction est nécessaire en raison de la difficulté de disposer d'échantillons isolés de bactéries non contaminées par le matériel environnant (Kelly *et al.*, 1998; Cherrier *et al.*, 1999). Les rapports  $^{15}\text{N}$  de nitrates en rivières permettent de connaître les sources d'azote et les processus bactériens associés à l'eutrophisation dans des sédiments marins (Voss *et al.*, 2000). Analogiquement, le  $^{15}\text{N}$  est utilisé pour connaître les effets de la concentration d'oxygène sur les processus de dénitrification par bilan de masse (Barford *et al.*, 1999).

En aquaculture, un travail développé par Zhu *et al.* (1994) a permis d'identifier les préférences alimentaires de la carpe chinoise (*Ctenopharyngodon idella*) dans les bassins d'élevage, en utilisant les analyses isotopiques ( $^{13}\text{C}$ ). Dans les bassins d'une polyculture de la carpe dorée (*Hipophthalmichthys molitrix*) et de la carpe à grosse tête (*Aristichthys nobilis*), Binhe *et al.* (1996), ont déterminé les sources de carbone et les interactions trophiques ( $^{13}\text{C}$  et  $^{15}\text{N}$ ) qui suggèrent la complémentarité des aliments utilisés par les deux poissons.

Quelques auteurs ont utilisé les isotopes stables en aquaculture pour déterminer les proportions d'aliment naturel et d'aliment artificiel consommés par poissons et crevettes aussi bien dans un élevage mono-spécifique que dans un élevage pluri-spécifique (Schroeder, 1983; Anderson *et al.*, 1988; Parker *et al.*, 1989; Cam *et al.*, 1991; Lochmann et Phillips, 1996; Epp *et al.*, 2002). D'autre part, McGhie *et al.* (2000) et Yamada *et al.* (2003) ont respectivement utilisé les isotopes naturels pour étudier les transformations de la matière organique dans le sédiments sous les cages d'élevage de poissons en mer et dans les sédiments de bassins d'élevage en terre.

Fraser *et al.* (1998), ont utilisé les isotopes stables ( $^{15}\text{N}$ ) comme marqueur de protéines pour comparer la croissance spécifique et la synthèse des protéines. A l'aide de cet outil, ils ont déterminé la rentabilité de l'élevage de flétan de l'atlantique (*Hippoglossus hippoglossus*). Par ailleurs, selon les résultats obtenus par Campbell *et al.* (1997), la prise alimentaire peut être étudiée en utilisant une technique radiographique avec un marqueur neutre non assimilable en complément des analyses isotopiques, de même que le changement du rapport isotopique dans le muscle des poissons élevés a été démontré et expliqué à la suite d'un changement de diète (Tominaga *et al.*, 2003).

#### 1.4. CONTRÔLE DE LA MATIÈRE PARTICULAIRE DANS LES SYSTÈMES DE RECIRCULATION

A l'heure actuelle, le fonctionnement des systèmes de recirculation (SR) pour une production aquacole de type industriel (entre 100 et 1000 t/an) doit être optimisé (Blancheton, 2000). La matière particulaire présente dans les SR joue un rôle essentiel en limitant les capacités d'épuration, donc de développement dû aux fortes concentrations en substances organiques (Chen *et al.*, 1994). Ainsi, l'étude des effets de la matière particulaire sur la performance des systèmes de recirculation est déterminante pour envisager des applications futures.

##### 1.4.1. Décanteurs et hydrocyclones

La sédimentation est un processus où les solides en suspension, ayant une densité ou une gravitation spécifique supérieure à celle de l'eau, peuvent être séparés du flux principal (Cripps et Bergheim, 2000). La force de gravité provoque le dépôt des particules à une vitesse déterminée par la viscosité du fluide (l'eau) et le diamètre des particules. Si on considère que les particules sont sphériques, la vitesse de sédimentation peut être estimée à partir de la densité des particules qui obéit à la loi de Stokes (Patterson *et al.*, 2003).

$$v_s \propto (\rho_p - \rho_w) d_p^2$$

Où  $v_s$  = vitesse de sédimentation,  $\rho_p$  = densité des particules,  $\rho_w$  = densité de l'eau, et  $d_p$  = diamètre effectif des particules. Comme conséquence de cette relation, la différence entre la densité des particules et celle de l'eau détermine l'applicabilité du processus de séparation. Cependant, l'information dans la littérature sur la densité des particules produites par l'activité aquacole est rare.

Malgré le large champ d'application des bassins de sédimentation, ces derniers présentent plusieurs problèmes pratiques qui limitent leur utilisation dans les SR. Les hauts débits d'eau utilisés dans l'aquaculture génèrent des problèmes de dynamique de flux, de temps de séjour insuffisants, ainsi que le passage direct de particules de l'entrée à la sortie du bassin de sédimentation (Cripps et Bergheim 2000). En revanche, leur utilisation est recommandée pour la pré-concentration (dans le bassin d'élevage par exemple) ou le traitement secondaire des boues (Cripps et Kelly, 1996). La figure 3 montre un schéma du concentrateur de particules à l'intérieur du bassin d'élevage.

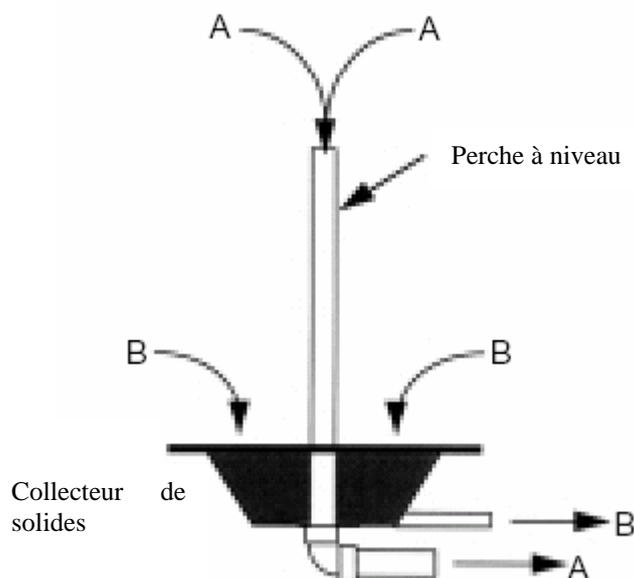


Figure 3. Double sortie centrale utilisée pour concentrer les solides du bassin d'élevage. A= effluent de solides en suspension, B= Sortie de solides sédimentables. (D'après Losordo *et al.*, 1999).

Eikebrokk et Ulgenes (1993), ont décrit un système qui combine un concentrateur de particules dans le bassin d'élevage avec un piège à particules (Hydrocyclone). Le concentrateur permet de canaliser 5-6% du débit total du bassin à travers le piège transportant environ 80% de particules générées par le bassin. Ce dispositif piège 70% des solides en suspension, 38% du phosphore particulaire, 14% de l'azote particulaire.

A l'heure actuelle, un piège à particules commercial (ECO-TRAP) capable de séparer les granulés non ingérés des fèces, afin d'avoir une meilleure évaluation d'aliment non consommé (Twarowska *et al.*, 1997), est commercialisé. Ce dispositif est capable de piéger 17,6% de matière organique (solides volatiles à 450°C) et 80% de solides totaux en suspension (Fig. 4).

Bergheim *et al.* (1998), ont rapporté que l'efficacité des dispositifs aquacoles de sédimentation augmente de 58% jusqu'à 90% lorsque le débit de solides en suspension (SS) passe de  $1 \text{ mg SS min}^{-1}$  à  $18 \text{ mg SS min}^{-1}$  à la même vitesse de passage de l'eau. Cette facilité de décantation peut être attribuée à la proximité des particules, augmentant la probabilité de contact donc d'agglomération.

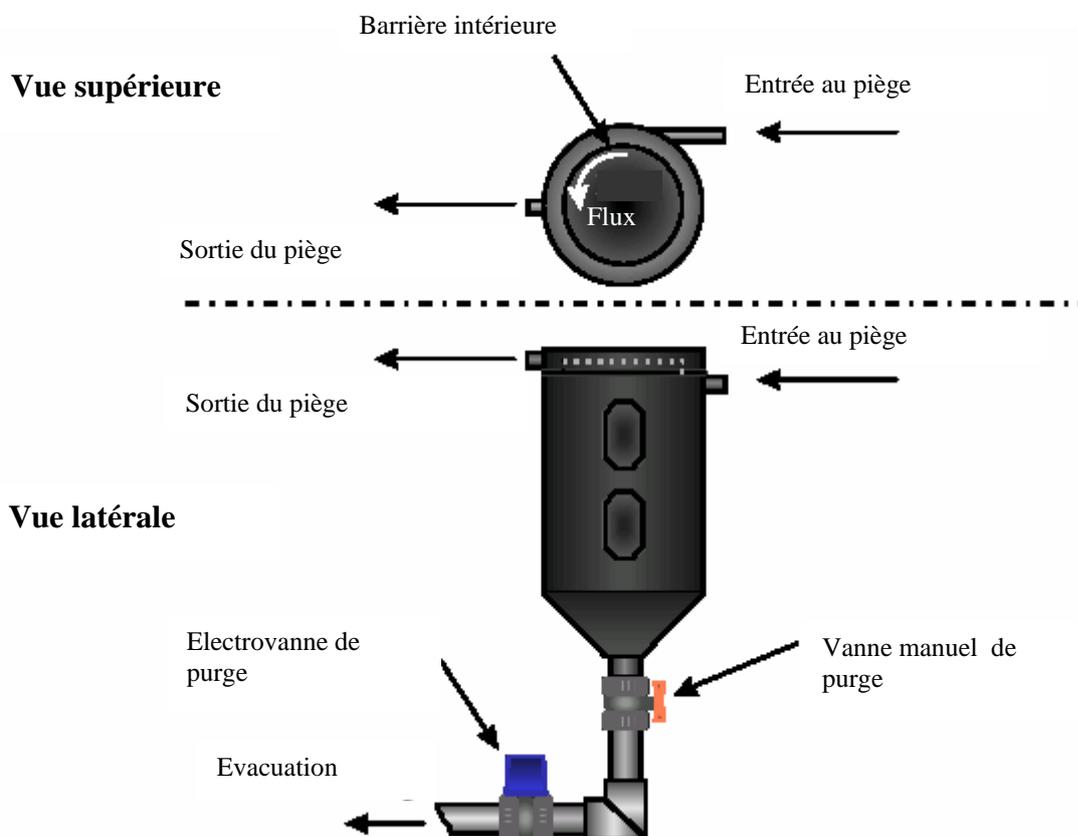


Figure 4. Piège à particules utilisée dans le système ECO-TRAP 300 (AquaOptima AS, Trondheim, Norway).

#### 1.4.2. Filtration

Les filtres à tambour rotatifs constituent une alternative efficace pour éliminer les particules en suspension qui ne sont pas piégées par les dispositifs précédemment décrits. Pour cette raison, leur installation est de plus en plus fréquente dans les fermes aquacoles disposant de systèmes de recirculation. Ce genre de filtre est constitué d'une maille en forme de tambour ou de disque à travers laquelle passe l'eau à filtrer (Fig. 5). La porosité de maille communément utilisée se situe être entre  $60$  et  $200 \mu\text{m}$  en fonction de la charge et des caractéristiques de la matière en suspension à filtrer, ainsi que du débit.

Les filtres à tambour évacuent les particules retenues grâce à un retro-lavage à l'aide d'un jet d'eau sous pression. Cette opération s'effectue en même temps que le tambour tourne, facilitant ainsi la collecte d'eau du retro-lavage et son évacuation. Le retro-lavage peut se déclencher automatiquement par l'utilisation d'un temporisateur ou bien quand le niveau d'eau à l'intérieur du tambour monte jusqu'à atteindre la hauteur d'une sonde de niveau, en raison du colmatage de la maille.

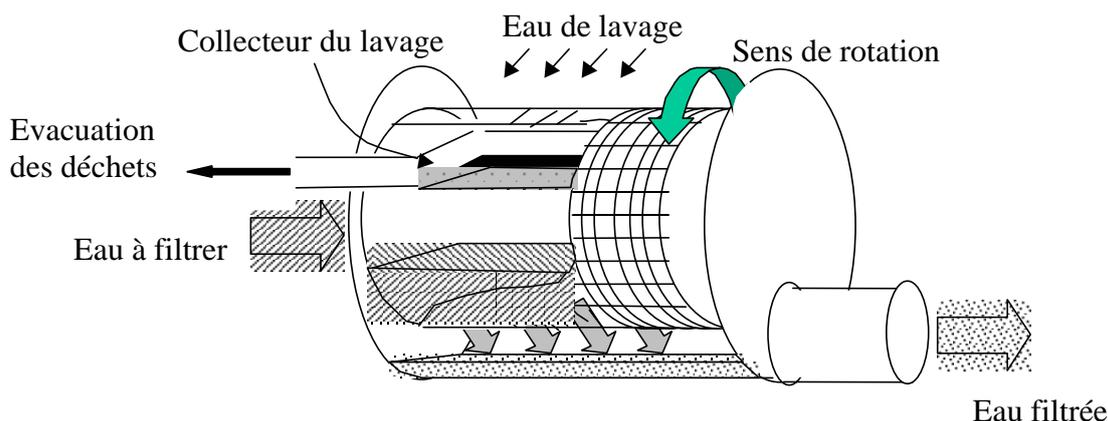


Figure 5. Fonctionnement d'un filtre à tambour rotatif

L'efficacité des dispositifs de filtration est améliorée quand la charge en solides dans l'effluent du bassin d'élevage augmente. Cripps (1995) a suggéré que les particules retenues sur la maille du filtre empêchent le passage des particules de taille inférieure au pore nominal du filtre. Comme résultat de ce colmatage partiel, la proportion de particules retenues augmente donc l'efficacité aussi.

#### 1.4.3. Alimentation et contrôle du nourrissage

La qualité des poissons élevés est fortement liée à la qualité des aliments, la production de déchets, mais aussi à la performance du système d'élevage employé (Cho *et al.*, 1991; Nijhof, 1994). Les produits métaboliques des poissons, dont la matière particulaire issue des fèces, sont les principaux éléments à contrôler. Le développement d'aliments « fortement énergétiques » (riches en matières grasses, faible teneur en glucides et protéines, et facilement digestibles), a permis de réduire la production de déchets dans les fermes de saumons. Les saumons nourris avec un aliment conventionnel excrètent sous forme de fèces (23% de matière sèche), 13% de protéines apportées par l'aliment, 8% de lipides, 40% de glucides

(fibres complètement non digestibles), 17% de matière organique et 50% de cendres (Åsgård et Hillestad, 1998).

Les derniers résultats de suivi de la matière particulaire dans les systèmes de recirculation pour des bars alimentés avec un aliment conventionnel (AC), ont montré que seulement 30% du carbone particulaire excrété par les poissons est collecté dans les dispositifs de décantation. Avec ce type d'aliment, seulement 60% de la matière particulaire fine est éliminée par filtration mécanique et par conséquent une série d'effets négatifs pourraient être observés en raison de son accumulation et de sa dégradation dans le circuit (Blancheton, 2000).

Plusieurs méthodes visant à augmenter l'élimination de la matière particulaire dans les systèmes de recirculation ont été testées, dont l'incorporation d'additifs dans l'aliment. Dans le cadre d'une coopération entre l'IFREMER et Le Gouessant (fabricant d'aliments pour l'aquaculture), des additifs ont été incorporés dans la formulation afin d'obtenir un aliment modifié. L'aliment ainsi obtenu a la propriété d'augmenter considérablement la cohésion des fèces du poisson et donc de faciliter leur élimination du circuit par voie de décantation. A noter que ce type d'aliment n'a pas encore été testé dans des conditions d'élevage pilote ou industriel.

D'autres solutions proposent d'augmenter la consistance des granulés et d'optimiser les systèmes et protocoles d'alimentation. Dans ces deux cas, l'objectif est d'arriver à une utilisation maximale de l'aliment distribué par les poissons et de faciliter l'évacuation des granulés non consommés tout en limitant le gaspillage.

Covès *et al.* (1998) ont proposé un système d'autoalimentation qui permet de réduire considérablement le gaspillage d'aliment. Ce système comporte une tige tactile qui opérée par les poissons, distribue une dose préfixée à l'intérieur du bassin d'élevage (fig. 6).

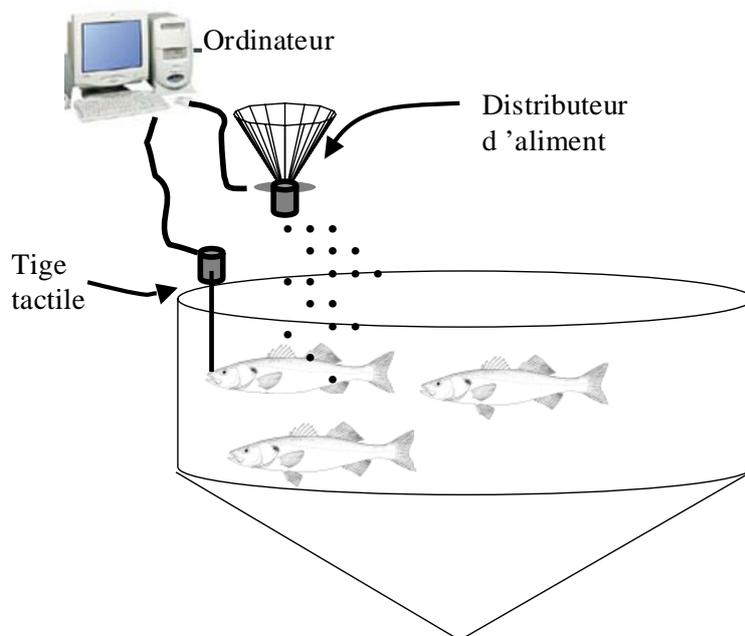


Figure 6. Système d'auto-alimentation opéré par les poissons (d'après Covès *et al.*, 1998)

#### 1.4.4. Ozonation

L'ozone est utilisé pour plusieurs objectifs dans les systèmes de recirculation. La désinfection, ainsi que l'élimination de la turbidité, des algues, de la couleur, de l'odeur, et du goût, sont quelques applications de l'ozonation. L'ozone a aussi été utilisée pour réduire le carbone organique dans les systèmes en recirculation (Krumins *et al.*, 2001). Edwards *et al.* (1993) estiment que l'ozone agit sur le carbone organique de deux façons différentes: en oxydant le carbone organique dissous ou bien en facilitant la coagulation de particules contenant de la matière organique. Ces mêmes auteurs ont trouvé que l'ozonation permet une élimination des particules à des doses inférieures à 0,7 mg d'ozone par mg de carbone organique total. Cependant, l'ozone augmente la demande biochimique en oxygène de l'eau dans les systèmes de recirculation, quand on l'utilise à une dose d'environ 0,1-0,2 mg d'ozone par mg de carbone organique total (Rosenthal, 1981). A cette dose, l'ozone ne suffit pas pour oxyder complètement la matière organique, il transforme seulement les molécules organiques longues en d'autres plus petites qui sont bio-dégradées plus facilement.

Par ailleurs, l'ozonation favorise la floculation et l'élimination de particules dans les systèmes de production aquacoles (Rueter et Johnson, 1995). Summerfelt *et al.* (1997) ont étudié l'effet de différentes doses d'ozone (0,25 g d'ozone, et 36-39 g d'ozone par kilo d'aliment) sur la qualité de l'eau dans un élevage de truites arc-en-ciel. Dans cette étude, l'ozonation a amélioré la filtration et donc diminué la charge de matière en suspension.

## CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES

Plusieurs lots de poisson ont été élevés durant deux années d'expérimentations dans les installations de l'IFREMER à Palavas dans le cadre du programme de recherche d'aquaculture en système contrôlé (ASC). Un suivi zootechnique et plusieurs expérimentations ont été mis en place sur ces élevages et ont fait l'objet de différentes études qui seront présentées dans les chapitres suivants. Les protocoles expérimentaux des études menées sont décrits dans chaque chapitre de cette dissertation.

Ce chapitre présente dans un premier temps les matériels expérimentaux et biologiques utilisés pour l'ensemble des études. Ensuite, sont décrites les méthodes de collecte, de conservation et d'analyse des échantillons. Une description générale du choix et d'utilisation des analyses statistiques utilisées pour l'interprétation des résultats est également inclus à la fin de ce chapitre.

### **2.1. DESCRIPTION DU SYSTÈME DE RECIRCULATION POUR L'ÉLEVAGE DU BAR (*Dicentrarchus labrax*)**

#### *2.1.1. Le Système de Recirculation (SR)*

La Figure 7 présente le système de recirculation expérimental typique (SR) qui a été utilisé pour cette étude. Ce système est composé de: deux bassins d'élevage ( $2\text{m}^3$ ) équipés de pièges à particules, un filtre mécanique à tambour (maille  $30\mu$ ) HYDROTECH, un bac tampon équipé de résistances chauffantes et une unité de contrôle de pH, une unité de désinfection UV, un filtre biologique nitrifiant ( $0,7\text{m}^3$ ), un bac de charge équipé d'une colonne de dégazage ventilée et une unité d'injection d'oxygène.

Les bassins d'élevage sont équipés de deux sorties, une sortie à faible débit où les solides se concentrent (sortie chargée en solides) et une sortie à haut débit où sortent principalement des solides en suspension (sortie faiblement chargée en solides). La sortie chargée en solides est connectée au piège à particules, alors que la sortie faiblement chargée en solides est connectée au filtre HYDROTECH. Toutes les sorties du bassin d'élevage se rejoignent dans le bac tampon où se mélangent les eaux de qualités différentes, qui partent dans la boucle de traitement d'un volume total de  $2\text{m}^3$ .

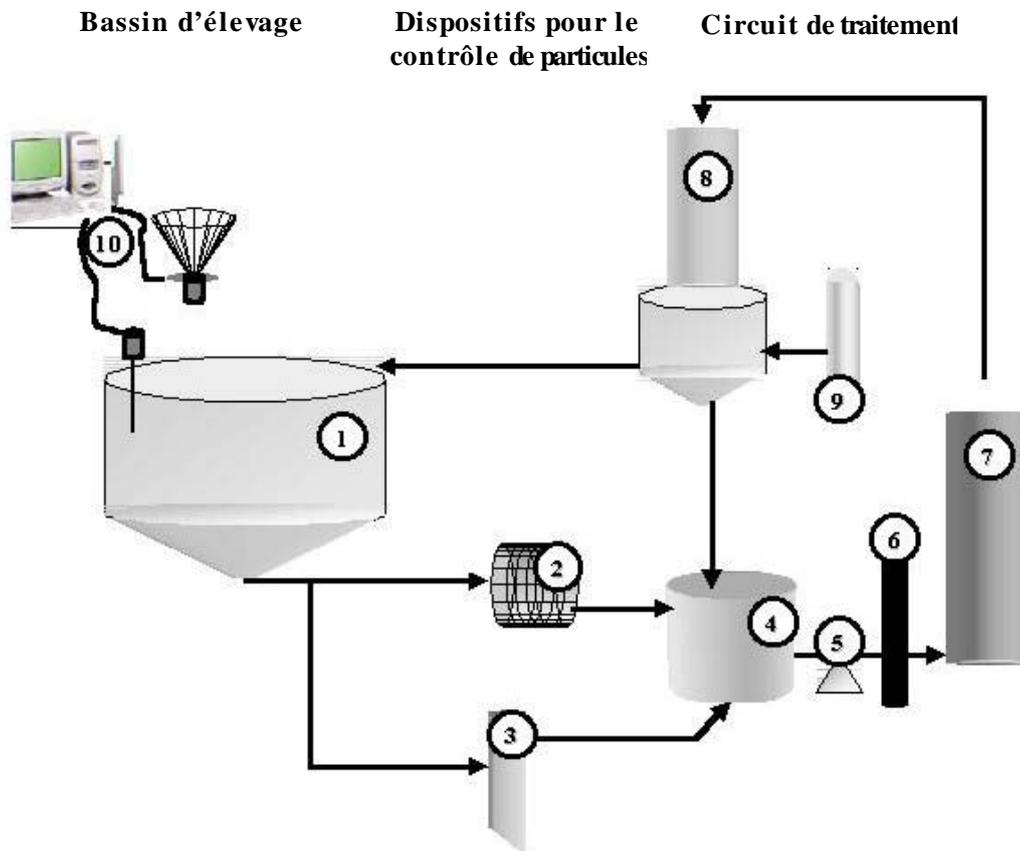


Figure 7. Système de recirculation expérimental: 1) Deux bassins d'élevage de 2m<sup>3</sup> (un seul figure sur ce schéma), 2) Filtre à tambour HYDROTECH (30µm), 3) Pièges à particules, 4) Bac tampon avec résistance chauffante et unité de contrôle de pH, 5) Pompe de recirculation, 6) Unité de désinfection-UV, 7) Filtre biologique nitrifiant (0,7m<sup>3</sup>), 8) Bac de charge équipé d'une colonne de dégazage, 9) Unité d'injection d'oxygène, 10) Système d'auto-alimentation.

### 2.1.2. Le Système ouvert (SO)

Un deuxième type du système d'élevage (Fig. 8) en configuration ouverte, c'est-à-dire sans recirculation de l'eau, a été utilisé comme témoin pour comparer les performances zootechniques des poissons soumis à l'expérimentation décrit au chapitre 6. Ce système est composé d'une série de dispositifs de pré-traitement d'eau précédant deux bassins d'élevage de 2m<sup>3</sup> identiques à ceux du système recirculé. Les bassins d'élevage sont dotés de pièges à particules, mais dans cette configuration, l'eau issue des bassins est rejetée. Les dispositifs de pré-traitement sont un filtre à sable, une unité de désinfection-UV, une unité de contrôle de température, un bac de charge équipé d'une colonne de dégazage et une unité d'injection d'oxygène

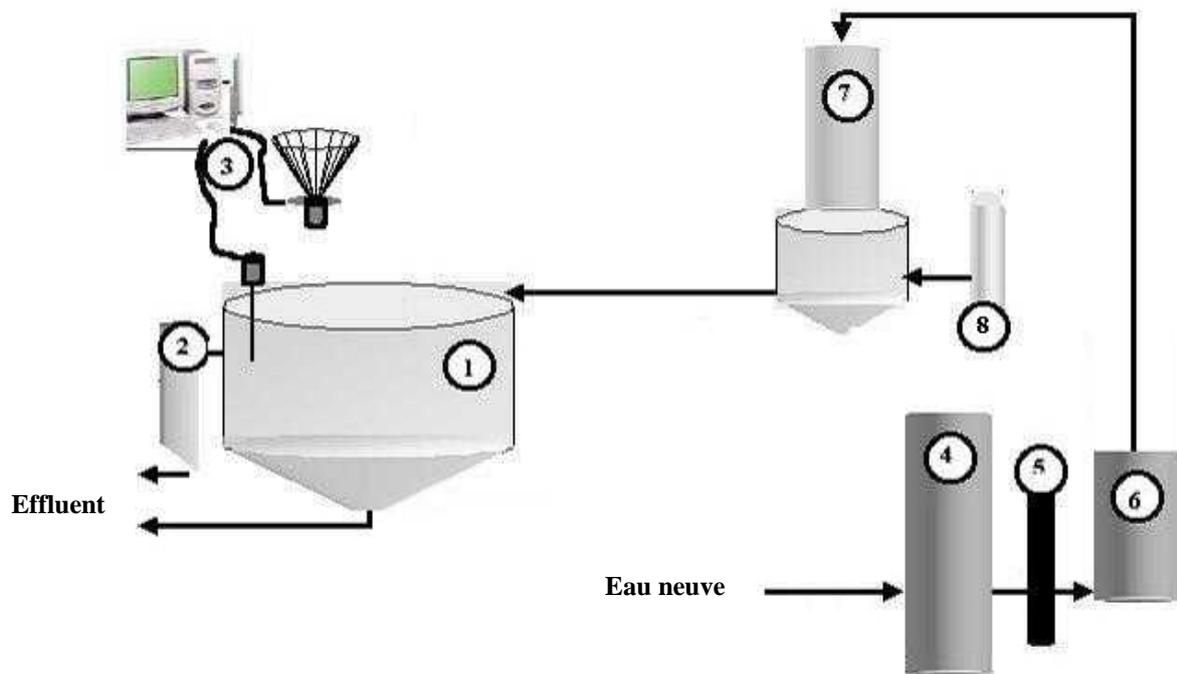


Figure 8. Système d'élevage avec pré-traitement d'eau (système ouvert). 1) Deux bassins d'élevage de 2m<sup>3</sup> (un seul est montré), 2) Pièges à particules, 3) Système d'auto alimentation, 4) Filtre à sable, 5) Unité de désinfection-UV, 6) Unité de contrôle de température, 7) Bac de charge équipé d'une colonne de dégazage, 8) Unité d'injection d'oxygène.

## 2.2. LES POISSONS ET LEUR ALIMENTATION

Nous avons utilisé des bar (*Dicentrarchus labrax*) provenant d'élevages larvaires réalisés dans la Société Méditerranée Pisciculture. Leur alimentation était un aliment commercial «Le Gouessant», (Extra-Natura, 44 % de protéines et 22 % de lipides), excepté lorsque les expériences requéraient un aliment expérimental (Chapitre 6). Dans tous les cas, la distribution d'aliment a été faite à l'aide d'un distributeur automatique activé par les poissons, ce système d'auto-alimentation permet de réduire au maximum le gaspillage (Covès *et al.*, 1998).

## 2.3. CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES

Les poissons ont été maintenus dans des conditions environnementales décrites dans les chapitres correspondants à chaque expérimentation. Les variables physico-chimiques ont été mesurées avec un oxymètre YSI modèle 51B pour l'oxygène et la température, et avec un réfractomètre Atago model S-10 pour la salinité. Le pH a été mesuré avec un pH-mètre Consor C733, puis contrôlé par addition de soude à l'aide d'une pompe péristaltique pour que les valeurs de pH se situent entre 7,0 et 7,8.

## 2.4. COLLECTE ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Les évacuations journalières des pièges à particule et du filtre mécanique ont été récupérées pour quantifier leur masse en poids sec, leur teneur en carbone et en azote et leur rapport isotopique. Pour les solides collectés dans les pièges à particules (SP), le matériel a été récupéré dans un seau (avec le minimum d'eau possible), puis centrifugé (3750 rpm, 10 min) et lyophilisé. Pour les évacuations du filtre HYDROTECH, elles ont été collectées dans un bac de 100 L, puis décantées pendant une heure. Le surnageant était éliminé et les solides concentrés homogénéisés pour prélever dans des béchers pré-pesés, quatre sous-échantillons de 250 ml. Après 30 minutes de sédimentation, le surnageant a été éliminé et les solides concentrés et séchés à l'étuve (60°C, 48h). Quelques grammes de biofilm du garnissage du filtre biologique ont été prélevés dans des coupelles en aluminium à l'aide d'une brosse à dents et d'une petite quantité d'eau Milli-Q, puis lyophilisés et conservés au congélateur (-20°C).

Des échantillons de 2 litres pour les analyses d'eau et de la matière en suspension (MES) et de 4 litres pour les analyses isotopiques ont été prélevés à l'entrée et à la sortie de chaque élément du système de recirculation. Les échantillons ont été filtrés sur filtres GF/C pré-calcinés (450°C, 4 h) et pré-pesés, puis ensuite séchés dans une étuve à 60°C pendant 48 h (Machás et Santos, 1999).

## 2.5. ANALYSE SUR LA MATIÈRE DISSOUE

L'urée (N-Urée), l'azote ammoniacal total (NAT) et les nitrites (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ont été mesurés par les méthodes spectrophotométriques standards avec un analyseur Alliance Instruments Ev-II. L'urée a été mesurée par la méthode colorimétrique. L'azote ammoniacal total (N-NH<sub>3</sub>+N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) a été mesuré par la méthode au bleu d'indophénol (Norme AFNOR NF T 90-015) décrite par Solorzano (1969). Les nitrites ont été mesurés par la méthode d'absorption moléculaire (Norme ISO 6777-1984(F)) dont le principe est décrit par Bendschneider et Robinson (1952). Les nitrates (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ont été mesurés selon la méthode précédente avec un analyseur Technicon II® après réduction préalable des nitrates en nitrites sur colonne Cadmium-Cuivre (Wood *et al.*, 1967). L'azote inorganique total dissous (NIT) a été calculé par addition de NAT + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg l<sup>-1</sup>).

## 2.6. ANALYSE DU CARBONE ET DE L'AZOTE ÉLÉMENTAIRE ET ISOTOPIQUE SUR LA MATIÈRE PARTICULAIRE

La matière en suspension collectée sur des filtres GF/C a été décalcifiée par des vapeurs de HCl concentré, puis les filtres ont été séchés dans une étuve à 60°C (Hedges et Stern, 1984; Van Iperen et Helder, 1985; Benner *et al.*, 1997). Chaque filtre a ensuite été mis dans une feuille d'étain de 20 mm x 20 mm pour être analysé par spectrométrie de masse dans un analyseur d'isotopes stables Europa Scientific ANCA-NT 20-20 doté d'un module pour préparations solides/liquides ANCA-NT.

Les valeurs isotopiques ( $\delta$ ) sont basées sur la comparaison entre le rapport isotopique de l'échantillon ( $R_e$ ) et le rapport du standard ( $R_{std}$ ). Donc les valeurs isotopiques sont exprimées comme le rapport normalisé de l'échantillon par rapport au standard, en parties par mille (‰) calculées à partir de:

$$\delta^nX = [(R_e/R_{std}) - 1] \times 1000$$

Où  $^nX$  est l'isotope d'intérêt ( $^{13}C$  ou  $^{15}N$ ).  $R_e$  est le rapport isotopique de l'échantillon pour l'isotope en question ( $^{13}C/^{12}C$  ou  $^{15}N/^{14}N$ ).  $R_{std}$  est le rapport isotopique du standard pour le même élément. La Pee Dee Belemnite (PDB) et l'azote atmosphérique sont respectivement utilisés comme standards pour les mesures du carbone et de l'azote (Peterson, 1999). Ainsi, les résultats de l'analyse sont exprimés en  $\delta^{13}C$  (‰) et  $\delta^{15}N$  (‰), respectivement pour le carbone et pour l'azote.

L'azote et le carbone organique particulaire ont été mesurés sur des échantillons préparés comme pour les analyses isotopiques dans un auto-analyseur Carlo Erba Instruments 1500 CNH (Verardo *et al.*, 1990). Les résultats de l'analyse sont exprimés en  $\mu g-C$  par litre d'eau filtrée et  $\mu g-N.l^{-1}$ , respectivement pour le carbone et l'azote.

Un sous-échantillon d'environ 100 mg de chaque matériel biologique (de muscle dorsal et foie de poisson), de chaque matière particulaire du circuit (sédimentée, retenue par le filtre mécanique, biofilm) et d'aliment ont été traités à l'acide chlorhydrique 0,5 N (1 ml, 1 h) pour éliminer le carbone inorganique dans des fioles à fond plat. Ensuite, les échantillons ont été séchés à l'étuve (60°C, une nuit), puis broyés et pesés dans des capsules d'étain (5 x 9 mm)

pour être analysés par spectrométrie de masse (Vouvé *et al.*, 2000). Les résultats de l'analyse sont exprimés en  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) et  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) respectivement pour le carbone et pour l'azote.

L'azote et le carbone organique particulaire ont été mesurés par un auto-analyseur Carlo Erba Instruments 1500 CNH (Verardo *et al.*, 1990) sur des échantillons traités de la même façon. Les résultats de l'analyse sont exprimés en  $\mu\text{g-C.mg-échantillon}^{-1}$  et  $\mu\text{g-N. mg-échantillon}^{-1}$  respectivement pour le carbone et l'azote. En conséquence, les rapports C/N sont exprimés en masse/masse.

## **2.7. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNÉES**

Avant toute analyse statistique, toutes les données sont passées par une analyse de normalité et un test d'homogénéité de variances, afin de déterminer la méthode de comparaison la plus adaptée aux résultats.

Les comparaisons statistiques entre deux groupes ont été effectuées par un test-t de Student (test paramétrique). Dans le cas où la normalité ou l'égalité de variances n'aurait pas été vérifié, un test de Mann-Whitney (test non paramétrique) a été effectué pour valider ou réfuter les possibles différences entre les groupes.

Les comparaisons entre plus de deux groupes d'échantillons issus de traitements différents ont été menées soit par l'analyse de variance (ANOVA) ou soit par l'analyse de variance sur les rangs (ANOVA sur les rangs, Test de Kruskal-Wallis). L'analyse de comparaisons multiples de Tukey ou l'analyse de comparaisons multiples de Dunn ont été effectuées respectivement afin d'identifier les catégories (facteurs) qui affectaient la variable en question. Les tests statistiques ont été exécutés avec le logiciel SigmaStat pour Windows version 2.0 (© Copyright 1992-1995 Jandel Corporation).

### CHAPITRE 3. ETUDE DES PROCESSUS DE TRANSFORMATION DE LA MATIERE PARTICULAIRE EN UTILISANT LE TRAÇAGE ISOTOPIQUE NATUREL

Les principaux processus de transformation de la matière particulaire qui ont lieu dans un système de recirculation aquacole sont : 1) L'utilisation métabolique de l'aliment par les poissons, 2) la séparation des différents types de solides par les dispositifs de contrôle de particules et 3) l'utilisation des particules comme substrat par les bactéries dans l'eau. La nature des particules qui interviennent dans ces processus détermine le choix des unités de contrôle, ainsi que leur disposition (Chen *et al.*, 1997; Cripps et Bergheim, 2000).

Les solides produits par le bassin d'élevage se composent principalement de fèces, d'une fraction d'aliment qui n'a pas été consommée et de bactéries qui colonisent ces particules (Piedrahita *et al.*, 1996). L'élimination de cette matière particulaire est un des principaux problèmes de la pisciculture marine en circuit recyclé car les fèces sont fragmentés avant d'être piégés, alors que l'aliment non consommé est partiellement dissous ou mis en suspension. Il est difficile de connaître sa contribution à la demande biochimique globale en oxygène pendant sa décomposition dans le circuit.

Les objectifs de cette étude étaient d'une part, d'établir la viabilité de l'utilisation des analyses isotopiques pour identifier les sources qui composent la matière particulaire du système de recirculation, et d'autre part, de calculer la contribution relative des sources possibles aux différents types de matière particulaire (récirculée et éliminée) du circuit. Pour atteindre cet objectif, les signatures isotopiques du carbone et de l'azote ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) des sources particulaires possibles, ainsi que les concentrations en particules en différents points du circuit ont été mesurées. Cette approche est basée sur l'hypothèse que les signatures isotopiques sont caractéristiques de chaque type de matière et que le mélange physique des sources possibles détermine leur signature isotopique, comme cela a été démontré dans le domaine de l'écologie (Fry et Arnold, 1982; Cifuentes *et al.*, 1988; Fry, 1999; Machás et Santos, 1999).

#### 3.1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Deux lots de bar (*Dicentrarchus labrax*) ont été élevés dans le système de recirculation décrit au chapitre 2. Un suivi zootechnique et plusieurs expérimentations ont été mis en place sur ces élevages, parmi lesquels trois évaluations des processus de transformation de la matière particulaire ont été menées en utilisant le traçage isotopique naturel. Les conditions d'élevage au moment des évaluations sont présentées dans le tableau 3. Les poissons ont été nourris,

tout au long de l'élevage, avec un aliment commercial à l'aide des systèmes d'auto-alimentation comme précédemment décrit au Chapitre 2.

Tableau 3. Conditions d'élevage au cours des trois évaluations des processus de transformation de la matière particulaire dans le système de recirculation en utilisant le traçage isotopique naturel.

Evaluation	Charge en poissons (kg m <sup>-3</sup> )		Poids moyen (g poisson <sup>-1</sup> )		Taux de nourrissage (% B Jour <sup>-1</sup> )	Index de Conversion	Taux de croissance (% B Jour <sup>-1</sup> )
	Initial	Final	Initial	Final			
1	14,50 (0,53)	16,41 (0,64)	510,86 (48,98)	578,33 (59,91)	0,64 (0,09)	0,65 (0,17)	0,45 (0,05)
2	18,26 (0,54)	25,50 (1,21)	66,88 (6,40)	95,99 (10,48)	1,65 (0,04)	0,69 (0,05)	1,1 (0,08)
3	39,84 (0,52)	45,19 (1,19)	156,00 (13,17)	181,29 (17,28)	0,85 (0,03)	0,44 (0,06)	0,3 (0,09)

B = Biomasse

Des échantillons de solides en suspension (SS) à l'entrée et à la sortie de chaque élément du circuit, des solides collectés dans les pièges à particules (SP), des solides évacués par le filtre mécanique HYDROTECH (SH) et de fèces de poisson, ont été collectés dans le système de recirculation deux fois par semaine pendant deux semaines pour chaque évaluation. D'autres échantillons de biofilm fixé sur le garnissage du filtre biologique ont été obtenus au moment des biométries mensuelles avant et après les évaluations. L'aliment a été prélevé afin de composer un échantillon mixte des sacs de nourriture utilisés au long de chaque évaluation. Six poissons ont été disséqués à la fin de chaque période d'évaluation pour obtenir un échantillon mixte de foie et un de muscle dorsal.

Les différents types d'échantillons ont été classés en fonction de leur nature comme le présente le Tableau 4. Cette classification répond aux caractéristiques physiques communes entre les types de matière collectée (densité, taille et origine des particules), ainsi que leur localisation dans le circuit. Les signatures isotopiques des groupes ainsi formés ont été comparées afin d'établir leur origine, niveau de décomposition et composition relative des sources possibles de matière particulaire.

Tableau 4. Classification des échantillons individuels et composés en fonction de leur nature et de leur point de collecte dans le système de recirculation pour les analyses isotopiques.

Nature de l'échantillon	Nomenclature <sup>1</sup>	Point de prélèvement <sup>2</sup>	Nombre de points de prélèvement dans le circuit	Jours de prélèvement par période d'évaluation	Type d'échantillon	Total d'échantillons pour analyses par période d'évaluation
Solides en suspension (>1,2µm)	SS-avant	S-Bassin	2	4	Individuel	16
		S-Piège à particules	2	4	Individuel	
	SS-après	S-Filtre à tambour	1	4	Individuel	20
		E-Filtre biologique	1	4	Individuel	
		S- Filtre biologique	1	4	Individuel	
		E-Bassin	2	4	Individuel	
Solides pièges	SP	Piège à particules	2	4	Individuel	8
Solides retenus par le filtre à tambour	SH	Purge de filtre à tambour	1 <sup>3</sup>	4	Composé	12
Fèces de poisson	Fèces	Piège à particules pré-lavé	2	4	Individuel	8
Biofilm	Biofilm	Garnissage de filtre biologique	1	2	Composé	5
Aliment de poisson	Aliment	Distributeur d'aliment	2	15	Composé	5
Tissu de poisson	Foie	Poissons disséqués	2 <sup>4</sup>	1	Composé	5
	Muscle	Poissons disséqués (muscle dorsal)	2 <sup>4</sup>	1	Composé	5

<sup>1</sup> avant = avant le filtre à tambour ; après = après le filtre à tambour

<sup>2</sup> E = Entrée ; S = Sortie

<sup>3</sup> Quatre sous-échantillons ont été collectés à la purge du filtre mécanique chaque jour de prélèvement

<sup>4</sup> Six poissons ont été disséqués afin d'obtenir une échantillon composé de chaque tissu.

### 3.1.1. Calculs et analyses statistiques

Les différences isotopiques ( $\Delta^{13}\text{C}$  et  $\Delta^{15}\text{N}$ ), résultat du métabolisme des poissons et de la filtration mécanique, ont été calculées avec les équations suivantes :

$$\Delta^{13}\text{C} = E \delta^{13}\text{C} - S \delta^{13}\text{C}$$

$$\Delta^{15}\text{N} = E \delta^{15}\text{N} - S \delta^{15}\text{N}$$

Où :

E = Signature isotopique de la matière entrant du processus en question

- a) Aliment pour le métabolisme des poissons
- b) Solides en suspension avant le filtre mécanique (SS-avant), pour la filtration mécanique.

S=Signature isotopique de la matière sortant du processus en question

- a) Pour le métabolisme des poissons :
  - i. Muscle de poisson
  - ii. Fèces de poisson
- b) Pour la filtration mécanique
  - i. Solides en suspension après le filtre mécanique (SS-après)
  - ii. Solides évacués par le filtre mécanique HYDROTECH (SH)

Les différences  $\Delta^{13}\text{C}$  et  $\Delta^{15}\text{N}$  ont été validées par la comparaison statistique de Aliment vs. Muscle, Aliment vs. Fèces, SS-avant vs. SS-après et SS-avant vs. SH pour chaque évaluation séparément. Ces comparaisons ont été effectuées après une vérification des hypothèses de normalité et d'égalité de variances par un test-t de Student (test paramétrique). Les comparaisons entre les groupes d'échantillons prélevés et entre les trois évaluations effectuées ont été menées séparément pour  $\delta^{13}\text{C}$  et pour  $\delta^{15}\text{N}$  par une ANOVA ou un test de Kruskal-Wallis.

Les contributions relatives de chaque source de matière organique ( $f_i$ ) ont été estimées selon le modèle de bilans de masse à trois sources présenté ci-après (Saito *et al*, 2001; Harvey *et al*, 2002), où “i” représente le biofilm, les fèces ou l'aliment. Un module d'optimisation (le module Solver de Microsoft Excel) a été employé pour estimer  $f_i$  à partir des signatures isotopiques des échantillons (Matière particulaire).

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{ Matière particulaire}} = f_{\text{ BIOFILM}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{ BIOFILM}}) + f_{\text{ FECES}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{ FECES}}) + f_{\text{ ALIMENT}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{ ALIMENT}})$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{ Matière particulaire}} = f_{\text{ BIOFILM}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{ BIOFILM}}) + f_{\text{ FECES}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{ FECES}}) + f_{\text{ ALIMENT}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{ ALIMENT}})$$

$$f_{\text{ BIOFILM}} + f_{\text{ FECES}} + f_{\text{ ALIMENT}} = 1$$

Le modèle de mélange de deux sources présenté ci-après a été utilisé pour estimer les contributions des sources principales quand le modèle à trois sources n'était pas adapté. Ce modèle est basé sur les résultats qui montrent seulement une différence dans une des deux signatures isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  ou  $\delta^{15}\text{N}$ ).

$$C = M_1/M_T = (\delta_T - \delta_2)/(\delta_1 - \delta_2)$$

Où C = Contribution en masse de la source 1 ( $M_1$ ) sur la masse totale ( $M_T$ ),  $\delta_T$  = signature isotopique du mélange,  $\delta_1$  = signature isotopique de la source 1, et  $\delta_2$  = signature isotopique de la source 2.

Compte tenu de la variabilité importante des résultats de l'ensemble des évaluations, les valeurs médianes des signatures isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) de tous les types de matière particulaire ont été utilisées dans le calcul des contributions de chaque source de matière organique. Alors que la variabilité des résultats de chacune des évaluations a permis d'utiliser les valeurs moyennes pour le même calcul.

## 3.2. RÉSULTATS

### 3.2.1. Différences isotopiques

Les différences entre les signatures isotopiques des matériels entrant et sortant dans les deux principaux processus de transformation de la matière particulaire sont présentées dans la Figure 9. Le muscle du poisson a été enrichi en moyenne dans les trois évaluations de 3,5‰ en  $\delta^{13}\text{C}$  et de 4,5‰ en  $\delta^{15}\text{N}$  par rapport à l'aliment, alors que les fèces ont été diminués en moyenne dans les trois évaluations de 1,0‰ en  $\delta^{13}\text{C}$  et de 5,8‰ en  $\delta^{15}\text{N}$ .

La filtration mécanique a modifié significativement les  $\delta^{13}\text{C}$  des SS pendant la première évaluation, passant de -23,6‰ avant le filtre à -24,9‰ après le filtre. Cependant, quand les résultats des trois évaluations sont rassemblés, il n'y a pas différence entre les  $\delta^{13}\text{C}$  de SS-avant et de SS-après le filtre mécanique (Test Mann-Whitney,  $p > 0,7$ ) avec une valeur

moyenne de  $-23,2 \pm 1,1\%$ . Paradoxalement, la matière évacuée par l'HYDROTECH a été légèrement enrichie en  $^{13}\text{C}$  par rapport aux SS-avant (test Mann-Whitney,  $p < 0,001$ ), reflétant une valeur moyenne de  $-22,0 \pm 0,5\%$  (fig. 10). D'autre part, les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  des deux types de SS (avant et après le filtre HYDROTECH) ont été différentes en  $^{15}\text{N}$ , montrant une diminution moyenne de  $3,3 \pm 0,7\%$  dans les SS-après par rapport aux SS-avant le filtre tambour

Par ailleurs, les SH n'ont pas été significativement enrichis en  $\delta^{15}\text{N}$  par rapport aux SS-avant l'HYDROTECH, sauf pendant la première période d'évaluation, reflétant une  $\delta^{15}\text{N}$  moyenne de  $10,3 \pm 2,0\%$  (Tableau 5).

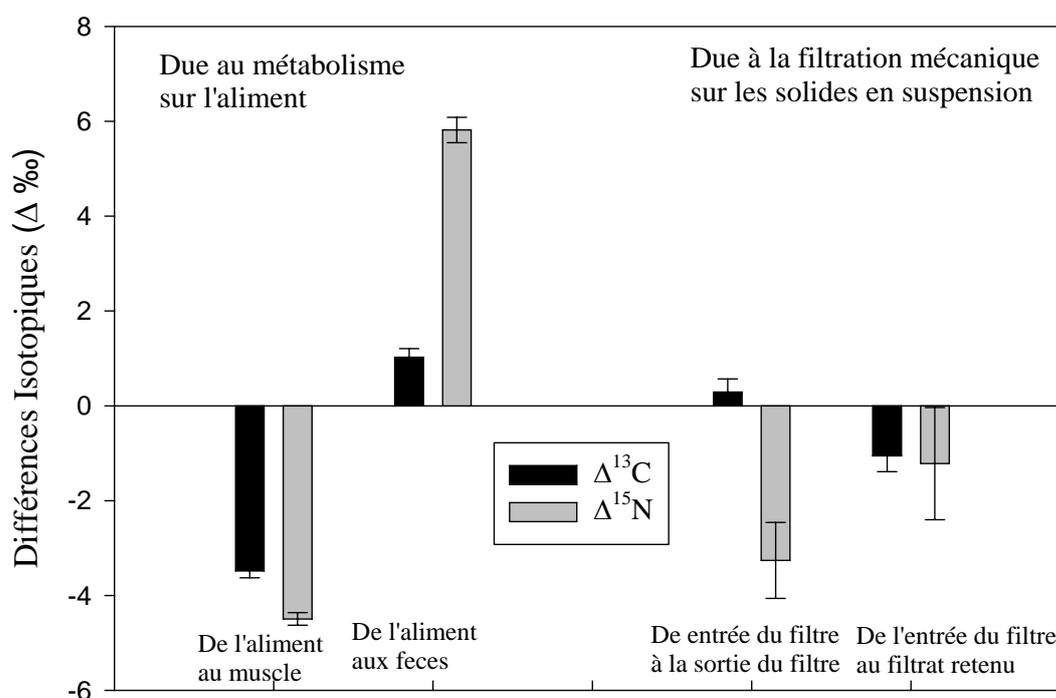


Figure 9. Différences des signatures isotopiques ( $\Delta^{13}\text{C}$  et  $\Delta^{15}\text{N}$ ) sur la matière particulaire entrant et sortant dans les deux principaux processus de transformation où elle participe dans le système de recirculation. Les barres représentent les différences isotopiques obtenues pour l'ensemble des données des trois évaluations. Les barres d'erreur correspondent aux erreurs-type de la différence entre les deux moyennes en question.

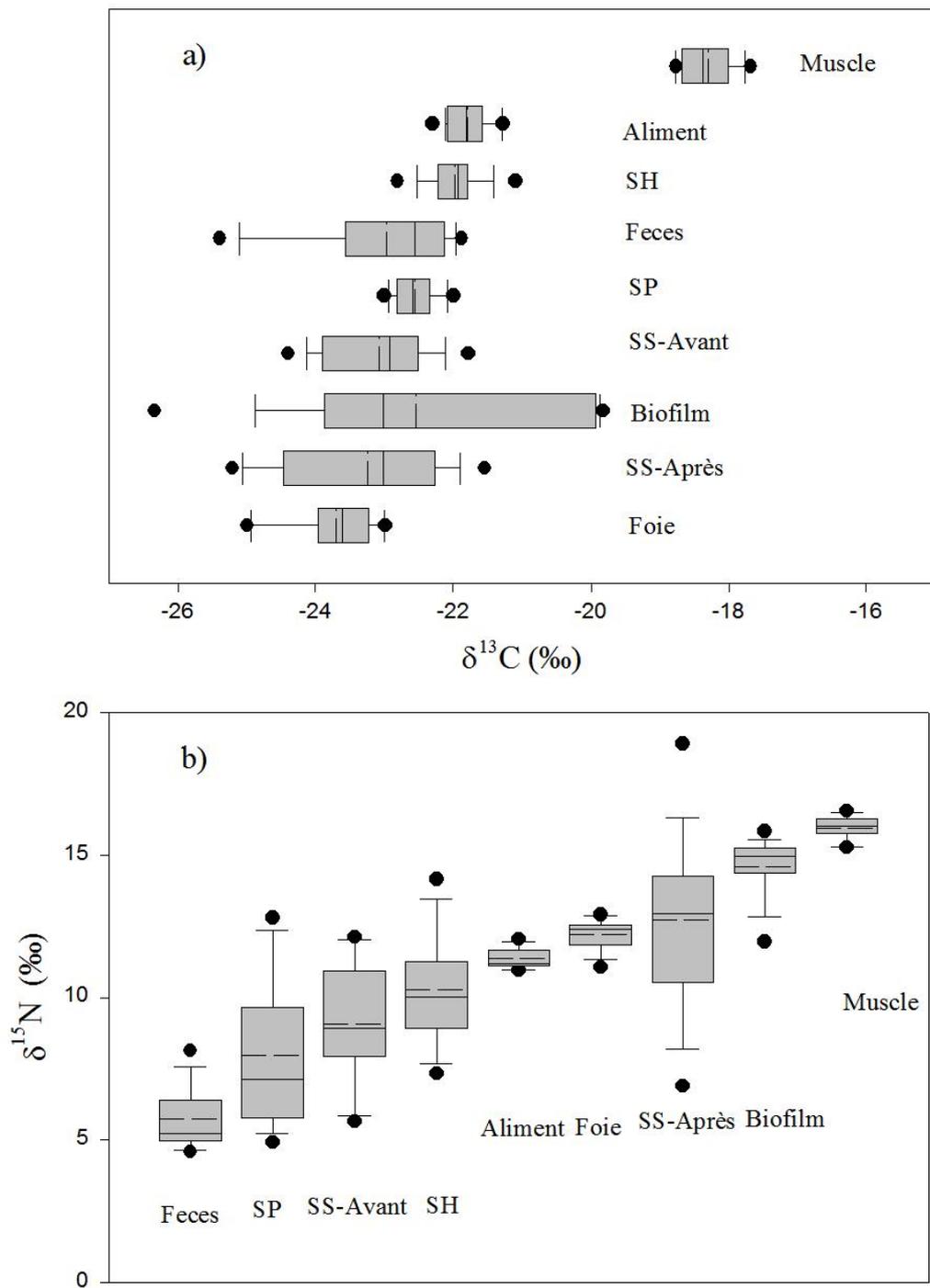


Figure 10. Diagramme à boîtes pour le  $\delta^{13}\text{C}$  (a) et le  $\delta^{15}\text{N}$  (b) des échantillons de solides en suspension (SS), de solides collectés au pièges à particules (SP), de solides évacués par l'hydrotech (SH), de biofilm, de tissu de poisson (Foie et Muscle), des Fèces de poisson et d'aliment. La médiane (ligne continue) et la moyenne (ligne pointillée) sont représentées pour l'ensemble des données des trois évaluations. Les boîtes indiquent du 25<sup>ième</sup> percentile au 75<sup>ième</sup> percentile, et les barres d'erreur du 10<sup>ième</sup> percentile au 90<sup>ième</sup> percentile.

Tableau 5. Différences des signatures isotopiques ( $\Delta^{13}\text{C}$  et  $\Delta^{15}\text{N}$ ) des particules entrant (E) et sortant (S) du métabolisme des poissons et de la filtration mécanique au cours des trois évaluations des processus de transformation de la matière particulaire dans le système de recirculation

Processus	Voie	Evaluation	$\Delta^{13}\text{C}$	$S_{(E-S)}$	Test	p	$\Delta^{15}\text{N}$	$S_{(E-S)}$	Test	p
Métabolisme										
	De l'aliment au muscle	1	-3,5	0,2	M.W.	<0,05	-3,6	0,2	Student	<0,001
		2	-2,9	0,2	Student	<0,001	-4,6	0,1	Student	<0,001
		3	-4,0	0,1	Student	<0,001	-5,3	0,1	M.W.	<0,01
	De l'aliment aux fèces	1	2,0	0,3	M.W.	<0,01	5,4	0,3	M.W.	<0,01
		2	0,6	0,1	Student	<0,001	5,7	0,4	M.W.	<0,01
		3	0,5	0,1	Student	<0,01	6,4	0,1	Student	<0,001
Filtration mécanique										
	De l'entrée à la sortie	1	1,2	0,3	Student	<0,001	-0,6	0,7	Student	>0,4
		2	0,1	0,3	Student	>0,7	-5,9	0,9	M.W.	<0,001
		3	-0,4	0,3	Student	>0,1	-3,3	0,7	Student	<0,001
	De l'entrée à la purge	1	-1,6	0,3	M.W.	<0,05	-2,6	0,9	Student	<0,05
		2	-0,4	0,3	M.W.	>0,05	-1,5	0,9	Student	>0,2
		3	-1,1	0,4	Student	<0,05	0,4	1,7	Student	>0,7

$$\Delta^{13}\text{C} = E \delta^{13}\text{C} - S \delta^{13}\text{C}$$

$$\Delta^{15}\text{N} = E \delta^{15}\text{N} - S \delta^{15}\text{N}$$

$$S_{(E-S)} = \sqrt{\frac{s_E^2}{n_E} + \frac{s_S^2}{n_S}}$$

### 3.2.2. Sources de matière particulaire dans le système de recirculation

Les signatures isotopiques des échantillons collectés dans le circuit sont présentés dans le tableau 6. Les SS-avant la filtration mécanique ont été en moyenne légèrement diminués ( $-1,4 \pm 0,1\%$ ) en  $\delta^{13}\text{C}$  par rapport à l'aliment. Cette légère diminution confirme la conservation de la signature isotopique de l'aliment (source principale de matière organique) par la digestion de poisson. De même, il n'y a pas de différence entre le  $\delta^{13}\text{C}$  des SS (les deux types) et ceux des fèces (test Kruskal-Wallis +test Dunn,  $p > 0,05$ ). Le résumé des résultats des comparaisons multiples est montré dans le tableau 6.

Tableau 6. Signature isotopique des échantillons prélevés dans différents points du système de recirculation, pendant les trois évaluations des processus de transformation de la matière particulaire.

Echantillon	n	$\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{15}\text{N}$		
		Moyenne	Ecart type	Médiane <sup>1</sup>	Moyenne	Ecart type	Médiane <sup>1</sup>
Muscle	15	-18,3	0,4	-18,4 <sup>d</sup>	16,0	0,4	16,0 <sup>e</sup>
Aliment	15	-21,8	0,3	-21,8 <sup>cd</sup>	11,4	0,4	11,2 <sup>bcd</sup>
SH	36	-22,0	0,3	-21,9 <sup>cd</sup>	10,2	1,5	10,0 <sup>bc</sup>
Biofilm	15	-22,2	1,9	-23,0 <sup>abc</sup>	14,8	0,8	15,0 <sup>de</sup>
SP	24	-22,6	0,3	-22,6 <sup>bc</sup>	7,0	1,5	7,1 <sup>ab</sup>
Fèces	24	-23,0	1,1	-22,6 <sup>abc</sup>	5,6	1,0	5,2 <sup>a</sup>
SS-avant	48	-23,2	0,8	-22,9 <sup>ab</sup>	8,6	1,9	8,9 <sup>bc</sup>
SS-après	60	-23,3	1,3	-23,0 <sup>ab</sup>	12,0	2,9	13,0 <sup>cde</sup>
Foie	15	-23,7	0,6	-23,6 <sup>a</sup>	12,2	0,6	12,4 <sup>cde</sup>

<sup>1</sup> Les résultats des comparaisons multiples ont été obtenus par la comparaison des rangs où  $a < b < c < d < e$  (test Dunn,  $p < 0,05$ ), après une analyse ANOVA des rangs (Kruskal-Wallis)

Après le test Kruskal-Wallis et les comparaisons multiples (test Dunn) sur les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ , on peut observer deux groupes de particules dessus et au-dessous du  $\delta^{15}\text{N}$  de l'aliment (Tableau 6). Le premier groupe comprenant les SP, les SH et les SS-avant est plutôt caractérisé par un niveau de décomposition. En revanche, le groupe comprenant les SS-après et le biofilm reflètent une activité biologique (inverse de la décomposition) associée à ces types d'échantillons.

D'autre part, le muscle dorsal a été enrichi en moyenne de  $+4,6 \pm 0,1\%$  en  $\delta^{15}\text{N}$  par rapport à l'aliment (test t,  $p < 0,001$ ), alors que les fèces ont été diminués de  $-5,8 \pm 0,2\%$  en  $\delta^{15}\text{N}$  par rapport à l'aliment (test Mann-Whitney,  $p < 0,001$ ).

### 3.2.3. Contribution des sources identifiées à la matière particulaire

Les signatures isotopiques de l'aliment, du biofilm, des fèces, des tissus de poisson et des SS, SP et SH, sont présentées dans la figure 11. Dans ce graphique il est possible de distinguer trois sources possibles pour constituer les solides en suspension, les solides collectés dans les pièges à particules et les solides évacués par le filtre mécanique HYDROTECH. Les sources possibles pour constituer la matière particulaire du système de recirculation sont donc l'aliment, les fèces et le biofilm.

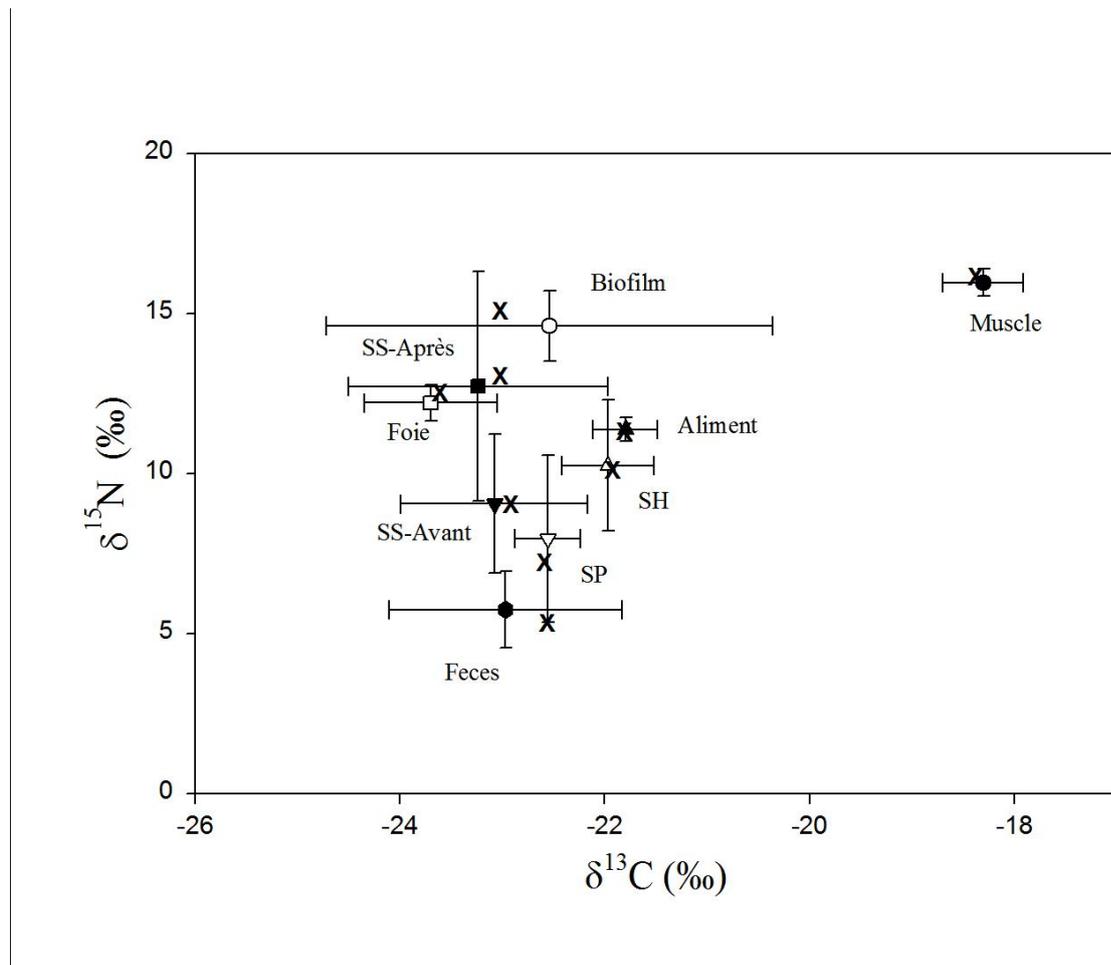


Figure 11. Signatures isotopiques des solides en suspension avant (SS-avant) et après le filtre mécanique (SS-après), des particules dans les pièges (SP), des solides évacués par le filtre mécanique Hydrotech (SH), du biofilm, des tissus de poisson (Foie et Muscle), des fèces de poisson et de l'aliment (Moyenne  $\pm$  écart type et Médiane=X)

Dans le même graphique (fig. 11), il est possible de distinguer aussi deux types de solides en suspension, en fonction de leur position par rapport au filtre HYDROTECH. Les SS-avant le filtre HYDROTECH sont riches en fèces (62,6%), alors que les SS-après l'HYDROTECH sont riches en biofilm (79,2%) (des traces d'aliment n'ont pas été détectées par cette méthode d'analyse de données). Cependant, les résultats par évaluation (tableau 7), montrent que les SS-avant la filtration mécanique peuvent être composés jusqu'à 19,9% d'aliment. On a pu aussi confirmer que les SS-après le filtre mécanique (particules dans la boucle de traitement) n'ont plus de traces d'aliment. Concernant les solides collectés dans les pièges à particules, ils sont composés de 5,8% d'aliment (ou de résidus d'aliment non-digéré) mélangés avec 78,3% de fèces et 15,9% de biofilm.

### 3.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude montre l'applicabilité de l'utilisation des signatures isotopiques naturelles pour tracer l'origine et le devenir de la matière particulaire dans les installations aquacoles. Les signatures isotopiques de  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  ont permis d'identifier les sources et niveaux de décomposition de la matière particulaire recirculée et évacuée du SR. Cette approche était basée sur l'hypothèse que les signatures isotopiques des matériels évalués sont caractéristiques de chaque type de matière et que le mélange physique des sources possibles détermine leur signature isotopique, comme cela a été démontré dans le domaine de l'écologie (Fry et Arnold, 1982; Cifuentes *et al.*, 1988; Fry, 1999; Machás et Santos, 1999).

Dans cette étude, la taille de la matière en suspension était comprise entre 1,2  $\mu\text{m}$  et quelques millimètres, en fonction du point de prélèvement dans le circuit. Ces particules n'avaient ni la même composition chimique, ni la même signature isotopique. De cette façon, l'analyse isotopique des particules de tailles différentes ou des particules de densités différentes (solides en suspension, piégés et retenus) permet d'identifier les composants organiques de la matière particulaire, comme Middelburg et Nieuwenhuize (1998) l'ont proposé.

Tableau 7. Résultats des contributions relatives de chaque source de matière organique ( $f_i$ ) composant la matière particulaire dans le système de recirculation pendant les trois évaluations des processus de transformation de particules au cours de l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*).  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  en moyenne  $\pm$  écart type (n).

Echantillon	Première évaluation					Deuxième évaluation					Troisième évaluation				
	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$f_{\text{BIOFILM}}$ (%)	$f_{\text{FECES}}$ (%)	$f_{\text{ALIMENT}}$ (%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$f_{\text{BIOFILM}}$ (%)	$f_{\text{FECES}}$ (%)	$f_{\text{ALIMENT}}$ (%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$f_{\text{BIOFILM}}$ (%)	$f_{\text{FECES}}$ (%)	$f_{\text{ALIMENT}}$ (%)
SS-avant	-23,8 $\pm 0,7$ (16)	7,9 $\pm 1,9$ (16)	7,3	72,8	19,9	<sup>1</sup> -22,3 $\pm 0,7$ (16)	8,7 $\pm 2,4$ (16)	22,3	61,8	15,8	<sup>1</sup> -23,2 $\pm 0,6$ (16)	8,9 $\pm 3,1$ (16)	39,6	60,4	0,0 <sup>2</sup>
SS-après	-24,8 $\pm 0,6$ (20)	8,3 $\pm 1,9$ (20)	32,5	67,5	0,0	<sup>1</sup> -22,4 $\pm 0,4$ (20)	15,5 $\pm 3,3$ (20)	100,0	0,0	0,0	<sup>2</sup> -22,6 $\pm 0,8$ (20)	13,5 $\pm 2,4$ (20)	83,0	17,0	0,0 <sup>2</sup>
SP	-22,7 $\pm 0,3$ (8)	7,8 $\pm 1,2$ (8)	0,0	71,2	28,8	<sup>1</sup> -22,5 $\pm 0,2$ (8)	7,5 $\pm 3,2$ (8)	0,0	68,4	31,6	<sup>1</sup> -22,5 $\pm 0,3$ (8)	6,5 $\pm 1,9$ (8)	0,0	100,0	0,0 <sup>3</sup>
Sources de matière particulaire															
BIOFILM	-25,1 $\pm 1,6$ (5)	12,5 $\pm 0,7$ (5)	100,0	0,0	0,0	-23,7 $\pm 0,4$ (5)	15,1 $\pm 0,7$ (5)	100,0	0,0	0,0	-19,9 $\pm 0,1$ (5)	15,3 $\pm 0,2$ (5)	100,0	0,0	0,0
FECES	-24,0 $\pm 1,0$ (8)	6,4 $\pm 1,1$ (8)	0,0	100,0	0,0	-22,0 $\pm 0,2$ (8)	5,7 $\pm 1,2$ (8)	0,0	100,0	0,0	-22,5 $\pm 0,3$ (8)	4,7 $\pm 0,2$ (8)	0,0	100,0	0,0
ALIMENT	-22,0 $\pm 0,3$ (5)	11,8 $\pm 0,2$ (5)	0,0	0,0	100,0	-21,5 $\pm 0,2$ (5)	11,4 $\pm 0,3$ (5)	0,0	0,0	100,0	-21,9 $\pm 0,2$ (5)	11,1 $\pm 0,1$ (5)	0,0	0,0	100,0

SS-avant = Solides en suspension avant la filtration mécanique

SS-après = Solides en suspension après la filtration mécanique

SP = Solides piégés au pièges à particules

<sup>1</sup> Contributions calculées avec le modèle de mélange à trois sources

<sup>2</sup> Contributions calculées avec le modèle de mélange à deux sources

<sup>3</sup> Présence exclusive de fèces

### 3.3.1. Différences isotopiques

Certains ingrédients de l'aliment destiné à l'aquaculture sont issus de la pêche, ce qui pourrait entraîner une variabilité importante du point de vue de la signature isotopique des aliments élaborés. Cette variabilité serait principalement due aux différentes zones de pêche et aux différentes espèces de poissons qui sont capturées pour fabriquer l'aliment. Comme on ne dispose pas de données sur la signature isotopique de l'aliment tout au long de l'élevage, cette variabilité peut être à l'origine des différences observées sur les  $\Delta^{13}\text{C}$  entre l'aliment et le muscle de poissons, qui est considéré comme un tissu intégrateur à long terme du rapport isotopique de l'aliment des organismes (Fry *et al.*, 1999; Moeri *et al.*, 2003). Cependant, l'aliment utilisé au moment des évaluations présentait des signatures isotopiques similaires (<1‰ de différence en  $\delta^{13}\text{C}$  et en  $\delta^{15}\text{N}$ ), en plus l'enrichissement observé dans les trois évaluations, pour les trois lots d'aliment est toujours du même ordre de grandeur. Cette observation permet d'établir la possibilité d'une accumulation du  $^{13}\text{C}$  comme résultat du métabolisme sur les ingrédients de l'aliment (caractéristique de l'espèce en élevage) ou comme résultat des différents niveaux trophiques entre les animaux constituant l'aliment et le bar en élevage.

Par contre, les  $\Delta^{13}\text{C}$  entre l'aliment et le foie (intégrateur de l'aliment à court terme) n'ont pas été supérieurs à 2‰. Cette légère différence reflète la signature isotopique d'un aliment récemment ingéré par les poissons, comme l'ont démontré Fry *et al.*, (1999). Même si cette expérimentation n'avait pas pour objectif de faire une reconstruction de l'aliment des poissons, les signatures isotopiques observées dans les tissus des poissons reflètent l'effet de l'aliment commercial sur la signature isotopique des poissons élevés.

Les  $\Delta^{13}\text{C}$  et  $\Delta^{15}\text{N}$  entre l'aliment et les fèces, peuvent être attribués à la digestion des poissons. Dans notre étude, le  $\Delta^{15}\text{N}$  (-5,8‰) était deux fois plus grand que celui rapporté pour les salmonidés élevés dans des cages par McGhie *et al.* (2000). Cette divergence peut être expliquée par l'espèce du poisson ou par les conditions d'élevage et de collecte d'échantillons, qui ont été différentes entre notre étude et celles rapportées par McGhie *et al.* (2000).

Le gain en  $^{15}\text{N}$  dans le muscle est expliqué par l'élimination privilégiée de  $^{14}\text{N}$ , due au métabolisme des protéines. Pendant le métabolisme des protéines, l'isotope léger est concentré dans les produits de l'excrétion, alors que l'isotope lourd est discriminé et retenu

dans le muscle (Peterson, 1999). En conséquence, le tissu d'un consommateur est enrichi de 3-4‰ en  $^{15}\text{N}$  par rapport à sa nourriture (Michener et Schell 1994; Saito *et al.*, 2001; Thoman, *et al.*, 2001). Dans cette étude, le muscle a été enrichi de 4,6‰ en  $^{15}\text{N}$  par rapport à l'aliment, alors que les fèces ont été diminuées de 5,8‰ en  $^{15}\text{N}$  par rapport à l'aliment. Ces résultats sont en accord avec ceux qui ont été rapportés par plusieurs auteurs (Kling *et al.*, 1992; Yoshioka *et al.*, 1994; Persson et Hansson, 1999; Peterson, 1999).

La séparation mécanique de deux types de particules a été démontrée par  $\Delta^{13}\text{C}$  entre les SS-avant l'HYDROTECH et les SH. Guy (2001) a rapporté la présence de particules de 0,8 à 2,0 mm et de polymères de taille supérieure à 20 $\mu\text{m}$  dans les matières primaires pour la fabrication d'aliments extrudés. Donc certains polymères non-digestibles, qui étaient dans l'aliment, pourraient être la cause d'un  $\Delta^{13}\text{C}$  significatif et un  $\Delta^{15}\text{N}$  non significatif. Il a été également démontré que certains polymères inclus dans les matières primaires grossissent d'environ 10 $\mu\text{m}$  au cours de l'extrusion pour former ainsi des particules de 20-40 $\mu\text{m}$  (Guy, 2001). Il est possible que, durant la filtration mécanique, les particules résiduelles d'aliment (>30 $\mu\text{m}$ ) aient été retenues par la maille du filtre HYDROTECH pour être ensuite évacuées du SR. Par ailleurs, le  $\delta^{15}\text{N}$  dans les SH était vraisemblablement enrichi par les agglomérats bactériens retenus par la maille de l'HYDROTECH.

### 3.3.2. Sources de matière particulaire dans le système de recirculation

Dans les études sur les flux de matière organique en milieu naturel, une différence de  $\pm 2,0\%$  en  $\delta^{13}\text{C}$  est en général utilisée pour conclure à une préservation de la signature isotopique de la source de matière organique à travers plusieurs niveaux trophiques (Peterson et Fry 1987; Saito *et al.*, 2001). Pendant les trois évaluations, le  $\delta^{13}\text{C}$  de l'aliment (principale source de matière organique) paraît être préservé par le métabolisme des poissons et les dispositifs d'évacuation de particules. Cette hypothèse a été confirmée par la légère diminution (<2‰) en  $\delta^{13}\text{C}$  dans les trois types de matière particulaire (SS, SP, et SH) par rapport à l'aliment. Dans ce cas, l'aliment était la seule source de carbone pour le circuit.

Les bactéries hétérotrophes, et d'autres éléments de la flore microbienne, recyclent la matière organique à l'intérieur du système de recirculation. Elles consomment les excréments dissoutes et colonisent les particules en les dégradant partiellement. En plus, Leonard *et al.* (2002) ont trouvé que la quantité de carbone dissous disponible dans ce même système de recirculation n'est pas un facteur limitant pour le développement bactérien hétérotrophe. Donc le

catabolisme de la matière organique dans le circuit est directement limité par la disponibilité en matière particulaire.

Par ailleurs, la composition biochimique des bactéries est généralement semblable à celle du milieu qui les entoure (Harvey et Macko, 1997) et dans certains cas, ce postulat peut être applicable à leur composition isotopique. Blair *et al.* (1985) ont démontré que les bactéries croissant sur une seule source de carbone reflètent le  $\delta^{13}\text{C}$  de cette source. Comme il y a un léger changement du  $\delta^{13}\text{C}$  de la source du carbone à la biomasse bactérienne et au  $\text{CO}_2$  respiré (Hullar *et al.*, 1996), nous pouvons considérer que le carbone recyclé par les populations bactériennes ne produit pas un changement dans le  $\delta^{13}\text{C}$  du biofilm. Cette hypothèse a été confirmée par les résultats ne montrant pas de différences significatives entre le  $\delta^{13}\text{C}$  des fèces et celui du biofilm (Tableau 6). Cependant, la grande variabilité des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  du biofilm, entre les trois évaluations pourrait être le résultat d'un vieillissement de la couche supérieure du biofilm, à l'endroit où ont été prélevés les échantillons (Tableau 7).

Dans cette étude, le  $\delta^{15}\text{N}$  était considéré comme indicateur des transformations biochimiques de la matière particulaire au sein du système de recirculation. Guo *et al.*, (2003) ont rapporté que le  $\delta^{15}\text{N}$  diminue avec la taille des particules qui sont dégradées tout au long de la colonne d'eau en milieu marin. Quelques auteurs suggèrent que les différentes fractions de matière organique naturelle en milieu aquatique (particulaire, colloïdal ou dissoute) peuvent passer par différentes voies de transformation biochimique au cours de leur fragmentation. Ces auteurs ont trouvé que les différentes fractions correspondaient aux différents âges apparents, mesurés au  $^{14}\text{C}$ . Dans notre cas les fèces, SP et SS-avant la filtration mécanique ont présenté le même niveau de dégradation par rapport à l'aliment. Analogiquement, le biofilm et les SS-après la filtration mécanique avaient le même niveau que l'aliment. Dans le premier cas, la digestion des poissons a déterminé la signature isotopique des fèces par rapport à l'aliment, qui est le principal constituant des SP et SS-avant. En revanche, les SS-après sont fortement affectés par la biomasse produite par la filtration biologique dans la boucle de traitement. Par ailleurs, les SH ne paraissent pas être trop affectés par la digestion des poissons, comme le montrent les rapports isotopiques en  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  très similaires à celui de l'aliment. Deux hypothèses peuvent expliquer cette similitude : soit il s'agit d'aliment distribué et non ingéré par les poissons, soit il s'agit de la fraction non digestible de l'aliment, enrichie en  $^{15}\text{N}$  par les agglomérations bactériennes qui pourraient avoir été filtrées par l'HYDROTECH.

### 3.3.3. Contribution des sources identifiées à la matière particulaire

La proportion des trois sources hypothétiques qui ont été utilisées dans les modèles de bilans de masse a été calculée en utilisant les valeurs des médianes de chaque groupe d'échantillons. Cependant, la médiane des solides en suspension (les deux types) sortait du rang de calcul des proportions positives du modèle à trois sources. Pour cette raison, on a utilisé le modèle de mélange à deux sources pour le calcul des contributions des fèces et du biofilm aux solides en suspension. La même situation s'est présentée pour le calcul des sources dans les SH. Dans ces deux cas, les calculs ont été basés sur les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$ .

On considère que la plupart des particules produites par le filtre biologique sont très labiles et par conséquent, elles se décomposent avant d'être évacuées par les dispositifs d'évacuation de particules (filtre HYDROTECH et pièges à particules). La matière qui pourrait sédimenter dans le bac tampon pourrait donc contenir un mélange de fèces, de biofilm et de matériel hautement réfractaire.

En conclusion, on peut établir que l'aliment, les fèces et le biofilm sont les principales sources de la matière particulaire dans le système de recirculation. Le muscle des poissons reflète la composition isotopique de leur alimentation intégrée dans le temps, alors que le foie reflète la composition isotopique de l'aliment récemment ingéré. Les solides en suspension, piégés et retenus par l'HYDROTECH, ont des signatures isotopiques caractéristiques qui permettent l'utilisation de modèles de bilan de masse pour calculer leur composition par rapport aux différentes sources de matière particulaire.

Les signatures isotopiques des types de matière étudiés confirment l'hypothèse que le traçage isotopique naturel est applicable dans les installations aquacoles pour mieux comprendre les principales transformations qui ont lieu au sein du système de recirculation. La matière particulaire est constituée d'un mélange complexe de matière détritique et vivante qui provient de l'aliment, des fèces, et des transformations *in situ* au cours des boucles d'élevage et de traitement.

Les changements isotopiques indiquent que la contribution des trois sources (aliment, fèces et biofilm) dépend de trois facteurs. 1) Le métabolisme des poissons, 2) les dispositifs de traitement de l'eau qui composent le système de recirculation et 3) l'activité bactérienne dans le filtre biologique et sur les particules en suspension. La mesure des isotopes stables peut aider à mieux comprendre les flux et transformations de la matière particulaire dans les

installations aquacoles. De plus, cette connaissance peut être un outil pour la modélisation des transformations de la matière particulaire dans les systèmes recirculés et pour définir de nouveaux dispositifs de contrôle.



## **CHAPITRE 4. EFFETS DE LA TAILLE DES POISSONS ET DU DEBIT SUR LA DISTRIBUTION DE LA MATIERE PARTICULAIRE ET LE FONCTIONNEMENT DES DISPOSITIFS DE TRAITEMENT**

La connaissance des capacités d'évacuation de la matière particulaire par les dispositifs de traitement, est un facteur déterminant pour le développement des systèmes de recirculation en l'aquaculture (SR). Un contrôle efficace de la matière particulaire des SR consiste en une élimination rapide des matières sédimentables et en suspension. Cependant, au fur et à mesure que la taille des particules diminue, l'efficacité des dispositifs pour leur élimination diminue et le développement bactérien augmente (Chen *et al.*, 1994; Blancheton et Canaguier, 1995 ; Sastry *et al.*, 1999). Le contrôle des effets négatifs de l'accumulation de matière particulaire et le perfectionnement des dispositifs d'élimination ou de contrôle, sont donc les principaux défis des ingénieurs aquacoles.

Les relations entre les taux d'élimination et de génération de la matière particulaire dans le système de recirculation sont très complexes. Ces relations ont été partiellement étudiées par quelques auteurs (Avnimelech *et al.*, 1995; Leonard *et al.*, 2002). Ces auteurs soulignent la nécessité de mieux connaître la nature de la matière organique, afin d'appliquer des stratégies adéquates pour leur contrôle. En conséquence, les solutions technologiques doivent être adaptées à la connaissance que l'on a des déchets (ex : densité spécifique, distribution dans le SR, solubilité, etc.) et aux processus bio-géochimiques auxquels ils participent.

La taille des poissons et le régime hydraulique paraissent être deux facteurs clés qui déterminent les caractéristiques des déchets solides du poisson et leurs distribution à travers le système de recirculation. Les petits poissons produisent de plus petites particules que les gros poissons. De plus, ils requièrent une alimentation plus importante par rapport à leur biomasse pour satisfaire des besoins énergétiques nécessaires à une croissance plus rapide que celle de poissons plus gros. La quantité et la qualité des particules produites par les deux tailles de poissons pourraient déterminer indirectement l'efficacité des dispositifs d'élimination et le risque potentiel de leur accumulation dans le circuit.

Le poids est un facteur influençant sensiblement l'excrétion azotée tant endogène que post-alimentaire. Les études de Gerking (1955) et Savitz (1969) sur *Lepomis macrochirus* ont démontré que l'augmentation du poids des poissons entraîne une augmentation de la masse totale d'azote endogène excrété. Cette excrétion par rapport à l'unité de biomasse, montre qu'elle décroît lorsque la taille des poissons augmente chez plusieurs espèces de téléostéens (Jobling, 1981 ; From et Rasmussen, 1984 ; Cui et Wootton, 1988 ; Carter et Brafield, 1992 ;

Leung *et al.*, 1999). Bien que Guerin-Ancey (1976b) n'a observé aucune implication de la taille de *Dicentrarchus labrax* sur l'excrétion endogène pour des poissons de 5 à 235 g (72 mg-N par kg de biomasse par jour), le poids a un effet significatif sur l'excrétion post-alimentaire du bar (Guerin-Ancey, 1976a ; Lemarié *et al.*, 1998).

Par ailleurs, Ballestrazzi *et al.* (1994, 1998) trouvent une excrétion azotée plus forte chez le bar de 70 g que chez le bar de 120 g (respectivement 387-395 mg-N par kg de biomasse par jour et 228-333 mg-N.kg-Biomasse<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> selon le type d'aliment utilisé). Ce même effet du poids est constaté chez la truite arc-en-ciel (From et Rasmussen, 1984 ; Kaushik *et al.*, 1995) et Dosdat *et al.* (1996) montrent chez cinq espèces différentes, que l'excrétion azotée est significativement plus faible pour des poissons de 100 g que pour des poissons de 10 g, avec des taux respectifs de 74-152 mg.kg-Biomasse<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> et 244-454 mg.kg-Biomasse<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>. Leung *et al.* (1999) affirment que dans le cas où les poissons sont alimentés, l'effet du poids n'est pas significatif par rapport à celui de la ration alimentaire. Il faut cependant préciser que ces auteurs nourrissent leurs poissons *ad libitum* et que cette stratégie d'alimentation est fortement influencée par le poids des poissons (Elliot, 1975 ; Fauré, 1980; Koskela, 1992; Pagand, 1999).

La décantation et la filtration biologique sont fortement affectées par le régime hydraulique (Bergheim *et al.*, 1998 ; Zhu et Chen, 2001). D'une part, la vitesse de passage de l'eau doit permettre le transport des particules, mais en même temps permettre leur décantation dans les pièges (Tawarowska *et al.*, 1997). D'autre part, la diffusion de substances dissoutes entre l'eau et le biofilm fixé au garnissage du filtre biologique est un facteur limitant l'efficacité de la filtration biologique (Tanaka et Dunn, 1982). Ainsi, la vitesse de passage et le temps de séjour dans le filtre biologique sont les principaux facteurs à gérer pour maintenir l'activité du biofilm (Zhu et Chen, 2001). Néanmoins, à l'heure actuelle, il n'existe pas d'information des effets combinés de la gestion du régime hydraulique, de la quantité et de la qualité de la matière particulaire sur un système en recirculation pour le grossissement de poissons marins.

L'objectif de cette étude était de démontrer les éventuels effets de la taille des poissons et du régime hydraulique sur la distribution de la matière particulaire dans le système de recirculation. Pour atteindre cet objectif, une caractérisation de la matière particulaire a été faite sur la base de sa composition en carbone et en azote, aux différents points du système de recirculation.

## 4.1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Une partie du programme de recherche d'aquaculture en système contrôlé (ASC) à l'IFREMER-Palavas, nécessitait d'élever deux lots de bar (*Dicentrarchus labrax*) dans un système de recirculation décrit au chapitre 2. Un suivi zootechnique et plusieurs expérimentations ont été mis en place sur cet élevage, parmi lesquelles les deux expériences visant à l'étude des effets de la taille de poisson et du régime hydraulique sur la distribution de la matière particulaire dans le système de recirculation qui sont le sujet de ce chapitre.

### 4.1.1. Comparaison entre les deux tailles de poisson.

La production de matière particulaire et sa distribution dans le circuit ont été évaluées pour deux tailles de poissons. L'évaluation pour les petits poissons a démarré quand le poids individuel moyen était de  $66,9 \pm 6,4$  g poisson<sup>-1</sup>, à une charge de  $18,3$  kg m<sup>-3</sup>. L'évaluation pour les gros poissons a démarré quand le poids individuel était de  $510,9 \pm 48,9$  g poisson<sup>-1</sup> à une charge de  $14,5$  kg m<sup>-3</sup>. Dans les deux cas, tout au long de la période d'élevage, ils ont été nourris avec un aliment commercial comme décrit dans le chapitre 2. Cependant, la veille des prélèvements, la ration journalière était respectivement limitée à 1,65 et 0,83% de la biomasse dans les bassins, pour les petits poissons et gros. L'objectif de ce rationnement était d'éviter, le jour du prélèvement, tout gaspillage qui pourrait fausser les résultats.

### 4.1.2. Expériences aux régimes hydrauliques différents.

Quatre régimes hydrauliques (Tableau 8) ont été testés dans le système d'élevage sans apports d'eau neuve (système totalement fermé pendant les expériences). Les régimes hydrauliques ont été obtenus grâce à la modification du débit à l'entrée des bassins (débit de bassin) et à l'entrée de la filtration biologique (débit de recirculation). En dehors des expériences, et pendant la période inter biométries, le débit dans le bassin d'élevage était de  $2,5$  m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> et de  $8,5$  m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> dans la boucle de traitement, avec un taux de fermeture du système de  $4$  m<sup>3</sup> d'eau neuve par kg d'aliment distribué.

Tableau 8. Régimes hydrauliques expérimentaux dans les composants du système de recirculation. Le débit d'eau est présenté en  $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$  par élément du système de recirculation.

Expérience	Composant du SR	Débit d'eau ( $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ )	Temps de séjour (heures)	Temps de stabilisation (heures)
1	Bassin d'élevage	1,00	2,0	72
	Piège à particules	0,56		
	Filtre HYDROTECH	0,87		
	Boucle de traitement	2,00		
2	Bassin d'élevage	1,75	1,1	72
	Piège à particules	0,56		
	Filtre HYDROTECH	2,36		
	Boucle de traitement	3,50		
3	Bassin d'élevage	2,50	0,8	36
	Piège à particules	0,56		
	Filtre HYDROTECH	3,86		
	Boucle de traitement <sup>1</sup>	6,50		
4	Bassin d'élevage	2,75	0,7	36
	Piège à particules	0,69		
	Filtre HYDROTECH	4,13		
	Boucle de traitement <sup>1</sup>	8,50		

Les circuits sont passés par une période minimale de stabilisation (Tableau 8) au régime hydraulique fixé, avant de commencer les prélèvements. Pendant la période d'échantillonnage (6h, 10h, 14h et 18h de la même journée), on a prélevé aux entrées et sorties de chaque étape de traitement pour effectuer une caractérisation de la matière particulaire (matière sèche, teneur en carbone et teneur en azote) et de la matière dissoute (N-Urée, NAT,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) comme cela a été décrit au Chapitre 2.

#### 4.1.3. Calculs et analyses statistiques

On a utilisé le modèle proposé par Tanguy et Le Grel (1989) pour calculer la croissance théorique de poisson. La consommation d'oxygène par la biomasse en élevage a été calculée à partir du modèle proposé par Lemarié *et al.*, (1992). Les consommations d'oxygène ainsi calculées ont été utilisées pour déduire la production de C-CO<sub>2</sub>, en utilisant la biomasse de poisson et la composition de l'aliment comme décrit par Sanni et Forsberg (1996).

La production nette de solides par le bassin (PNS) et les efficacités des pièges à particules (EPP) et du filtre mécanique HYDROTECH (EFH) ont été calculés à l'aide des équations ci-après, à partir des débits établis et des concentrations mesurées pour chaque taille de poisson.

$$PNS(g \cdot Kg_{aliment}^{-1}) = SP + SS_{SB} - SS_{EB}$$

Toutes les variables sont exprimées en g de matière (sèche, C ou N) par kg d'aliment ingéré par les poissons. SP = Solides piégés aux pièges, SS<sub>SB</sub> = flux de solides en suspension à la sortie du bassin d'élevage et SS<sub>EB</sub> = flux de solides en suspension à l'entrée du bassin d'élevage.

$$EPP(\%) = \frac{SP}{PNS} \times 100$$

EPP est l'efficacité des pièges à particules et elle a été calculée pour la matière sèche, le carbone et l'azote particulaires.

$$EFH(\%) = \frac{SS_{EHT} - SS_{SHT}}{SS_{EHT}} \times 100$$

SS<sub>EHT</sub> est le flux de solides en suspension à l'entrée du filtre HYDROTECH et SS<sub>SHT</sub> = le flux de solides en suspension à la sortie du filtre HYDROTECH. Ces deux variables sont exprimées en g de matière (sèche, C ou N) par kg d'aliment ingéré par les poissons. EFH est donc l'efficacité du filtre HYDROTECH et elle a été calculée pour la matière sèche, le carbone et l'azote particulaires.

L'efficacité de la filtration biologique (taux de conversion de l'azote ammoniacal total ; ΔNAT) exprimée en grammes de NAT oxydés par mètre cube de garnissage, a été calculée avec l'équation suivante :

$$\Delta NAT(g \cdot m^{-3} Jour^{-1}) = \frac{([NAT]_0 - [NAT]_1) \cdot Q}{V}$$

Où

[NAT]<sub>0</sub> = Concentration en azote ammoniacal total à l'entrée du filtre biologique (N-NH<sub>4</sub> g m<sup>-3</sup>)

[NAT]<sub>1</sub> = Concentration en azote ammoniacal total à la sortie du filtre biologique (N-NH<sub>4</sub> g m<sup>-3</sup>)

Q = Débit d'eau (m<sup>3</sup> jour<sup>-1</sup>)

V = Volume du garnissage dans le filtre biologique (m<sup>3</sup>)

Les comparaisons entre les deux tailles de poisson ont été effectuées soit par un test-t de Student (test paramétrique), soit un test de Mann-Whitney (test non paramétrique). Les comparaisons entre les régimes hydrauliques ont été faites soit par l'analyse de variance d'un facteur (ANOVA), soit par l'analyse de variance sur les rangs (Kruskal-Wallis).

## 4.2. RÉSULTATS

### 4.2.1. Croissance, rétention et assimilation de l'aliment

Les conditions d'élevage pendant les périodes d'expérimentation sont présentées dans le tableau 9. L'évolution de la charge, les poids individuels, l'alimentation et l'assimilation par les poissons sont présentés dans le tableau 10. Le taux de croissance spécifique a été différent pour les deux tailles de poissons (t-student,  $p < 0,001$ ), soit de  $1,05 \pm 0,11\%$  pour les petits poissons et de  $0,41 \pm 0,04\%$  pour les gros poissons. Ces valeurs ne sont pas différentes (t-test,  $p > 0,8$ ) des valeurs de croissance théorique ( $0,91 \pm 0,09\%$  pour les petits poissons et de  $0,46 \pm 0,04\%$  pour les gros poissons), qui ont été calculées par le Modèle Tanguy et Le Grel (1989).

Tableau 9. Conditions du milieu d'élevage pendant les expériences visant à évaluer la distribution de la matière particulaire dans le système de recirculation par rapport à la taille des poissons élevés (*Dicentrarchus labrax*) et le régime hydraulique. Les valeurs présentées correspondent aux moyennes (Ecart type).

Taille du groupe	Température (°C)	Salinité (‰)	O <sub>2</sub> (mg/l)	pH
PETITS (64-93 g poisson <sup>-1</sup> )	24,69 <sup>b</sup> (1,19)	34 <sup>a</sup> (3)	7,99 <sup>a</sup> (1,42)	7,27 <sup>a</sup> (0,61)
GROS (512-591 g poisson <sup>-1</sup> )	21,76 <sup>a</sup> (0,26)	31 <sup>a</sup> (3)	8,63 <sup>a</sup> (2,46)	7,11 <sup>a</sup> (0,56)

Dans la même colonne les moyennes qui ne présentent pas la même lettre en exposant, sont statistiquement différentes ( $a < b$  ; test t-Student ;  $p < 0,001$ )

La concentration en carbone dans l'aliment consommé par les poissons des deux tailles était de  $457,49 \pm 31,30 \mu\text{g mg}^{-1}$  (Test Mann-Whitney,  $p > 0,9$ ), alors que la concentration en azote était de  $72,13 \pm 5,62 \mu\text{g mg}^{-1}$ . Le carbone inorganique dissous produit par le bassin d'élevage, en termes de C-CO<sub>2</sub>, était de  $123,01 \pm 1,24 \text{ g-C kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les petits poissons et de  $199,67 \pm 2,01 \text{ g-C kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les gros poissons.

La composition moyenne dans le muscle dorsal des poissons était de  $447,40 \pm 48,46 \mu\text{g mg}^{-1}$  en carbone et de  $114,05 \pm 13,76 \mu\text{g mg}^{-1}$  en azote pour les deux tailles de poisson (t-student,

$p > 0,3$ ), alors que la composition dans le poisson entier était de  $558,73 \pm 3,02 \mu\text{g mg}^{-1}$  en carbone et de  $68,24 \pm 5,43 \mu\text{g mg}^{-1}$  en azote.

Tableau 10. Croissance et conversion alimentaire de deux tailles de bar (PETITS et GROS), Moyennes  $\pm$  Ecart type.

	Groupe de Taille	
	PETITS	GROS
Ration d'alimentation <sup>1</sup> (% Biomasse)	$1,65 \pm 0,04^b$	$0,64 \pm 0,09^a$
Poids moyen initial (g)	$66,88 \pm 6,40$	$510,86 \pm 48,98$
Poids moyen final (g)	$95,99 \pm 10,48$	$578,33 \pm 59,91$
Charge initial (kg de poisson m <sup>-3</sup> )	$18,26 \pm 0,54$	$14,50 \pm 0,53$
Charge finale (kg de poisson m <sup>-3</sup> )	$25,50 \pm 1,21$	$16,41 \pm 0,64$
TCS <sup>2</sup>	$1,05 \pm 0,11^b$	$0,41 \pm 0,04^a$
IC <sup>3</sup>	$0,69 \pm 0,05^a$	$0,65 \pm 0,17^a$
IC-C <sup>4</sup> (%)	$31,39 \pm 2,25^a$	$28,25 \pm 2,65^a$
IC-N <sup>5</sup> (%)	$24,56 \pm 2,21^a$	$22,61 \pm 2,06^a$

<sup>1</sup>Ratio d'alimentation:  $\text{g aliment distribué} \times (100 \text{g biomasse en poids frais})^{-1}$

<sup>2</sup>Taux de Croissance spécifique:  $\text{TCS} = [\ln \text{ poids final (g)} - \ln \text{ poids initial (g)}] \times 100 \times \text{jour}^{-1}$

<sup>3</sup>Indice de conversion:  $\text{IC} = (\text{Gain de poids par les poissons, g}) \times (\text{Aliment consommé, g})^{-1}$

<sup>4</sup>Indice de conversion du carbone:  $\text{IC-C} = (\text{Gain en carbone par les poissons, g}) \times 100 \times (\text{Carbone consommé, g})^{-1}$

<sup>5</sup>Indice de conversion de l'azote:  $\text{IC-N} = (\text{Gain en azote par les poissons, g}) \times 100 \times (\text{azote consommé, g})^{-1}$

Dans la même ligne, les moyennes qui ne présentent pas la même lettre en exposant, sont statistiquement différentes ( $a < b$  ; test t-Student ;  $p < 0,001$ )

#### 4.2.2. Bassin d'élevage

##### 4.2.2.1. Substances dissoutes

Dans les expériences aux débits de  $1,75$  ;  $2,50$  et  $2,75 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ , la production de N-Urée par le bassin d'élevage était de  $3,11 \pm 0,03 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les petits poissons (ANOVA+test Tukey,  $p > 0,05$ ) et de  $4,90 \pm 0,11 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les gros poissons (ANOVA+test Tukey,  $p > 0,05$ ). Par contre, au débit le plus faible ( $1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ), la production d'urée était de  $2,18 \pm 0,13$  pour les petits poissons et de  $2,03 \pm 0,11 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les gros poissons (Fig.12a).

De même, la production de NAT dans les expériences au débit le plus faible a été significativement inférieure à celle des autres débits (ANOVA+test Tukey,  $p < 0,05$ ). Les productions à  $1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  étaient de  $19,03 \pm 2,10 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les petits poissons et de  $15,38 \pm 3,38 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les gros poissons (Fig.12b), tandis que la production moyenne de l'NAT aux débits de  $1,75$ ;  $2,50$  et  $2,75 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  était de  $26,66 \pm 7,10 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les petits poissons et de  $29,08 \pm 10,32 \text{ g-N kg}_{\text{aliment}}^{-1}$  pour les gros (ANOVA+test Tukey,  $p > 0,05$  dans les deux cas).

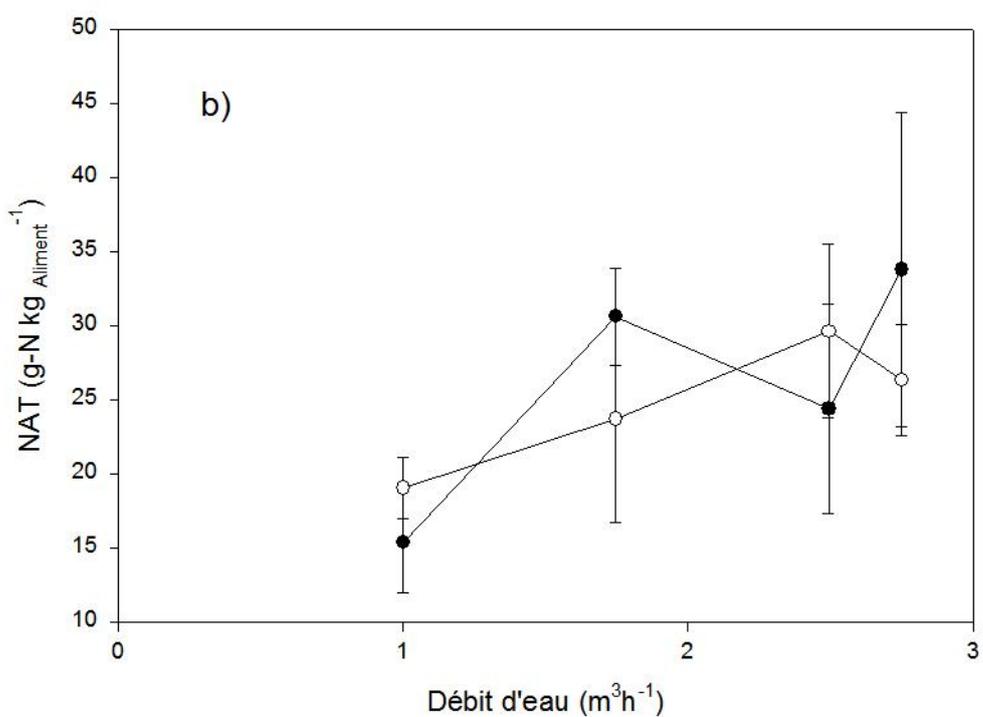
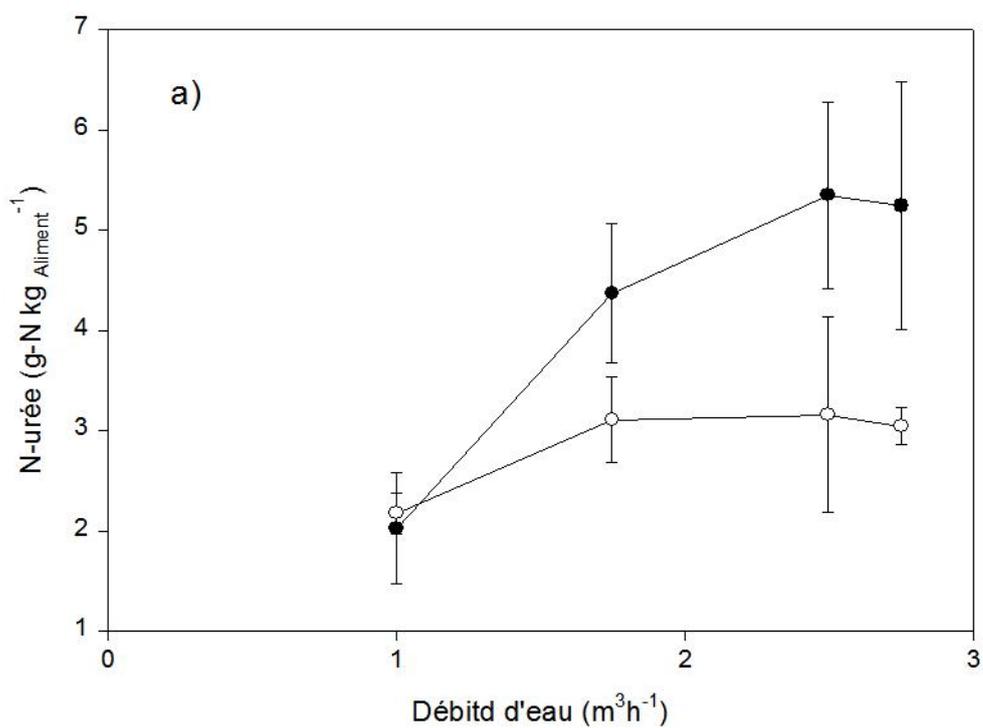


Figure 12. Production d'urée (a) et NAT (N-NH<sub>3</sub>+N-NH<sub>4</sub>) par le bassin d'élevage du système de recirculation (b) en fonction du régime hydraulique, durant les expériences avec deux tailles de bar (64-93g-○ et 512-591g-●). Valeurs moyennes et écart-type.

#### 4.2.2.2. Déchets particulaires

La production nette de carbone particulaire (PNS) par le bassin d'élevage est comparable pour les expériences aux débits de 1,75 ; 2,50 et 2,75 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> (fig 13). Les valeurs moyennes de PNS étaient de 40,79±3,32 g-C.kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup> pour les petits poissons et de 56,04±6,48 g-C kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup> pour les gros. Par ailleurs, pendant les expériences au débit le plus faible, la PNS la plus faible a été observée avec une production moyenne de 37,84±1,27 g-C kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup> pour les petits poissons (ANOVA, p>0,05) et de 38,79±7,96 pour les gros (ANOVA+ Tukey test, p<0,01).

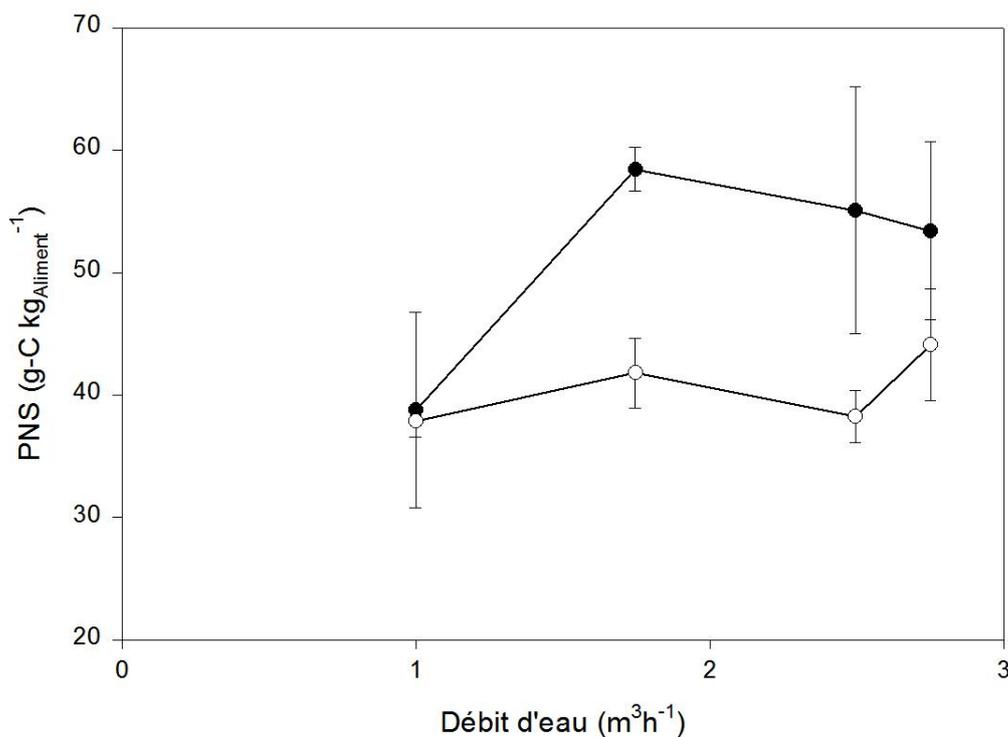


Figure 13. Production nette de carbone particulaire (PNS) par le bassin d'élevage en fonction du régime hydraulique, durant les expériences avec deux tailles de bar (64-93g-○ et 512-591g-●). Valeurs moyennes et écart-type.

#### 4.2.3. Pièges à particules

L'efficacité des pièges à particules (EPP) pour l'élimination du carbone particulaire du système de recirculation a montré une tendance contraire à la production de solides par le bassin d'élevage. Le EPP pendant les expériences au débit le plus faible présentait l'efficacité la plus grande, alors que les autres débits testés n'ont pas été significativement différents (p>0,05). Le EPP pendant le débit le plus faible était de 72,82±2,35% pour les petits poissons

et de  $61,95 \pm 6,74\%$  pour les gros. La EPP moyenne pendant les expériences aux autres débits était de  $59,11 \pm 6,07\%$  pour les petits poissons et de  $42,17 \pm 9,76\%$  pour les gros (fig. 14).

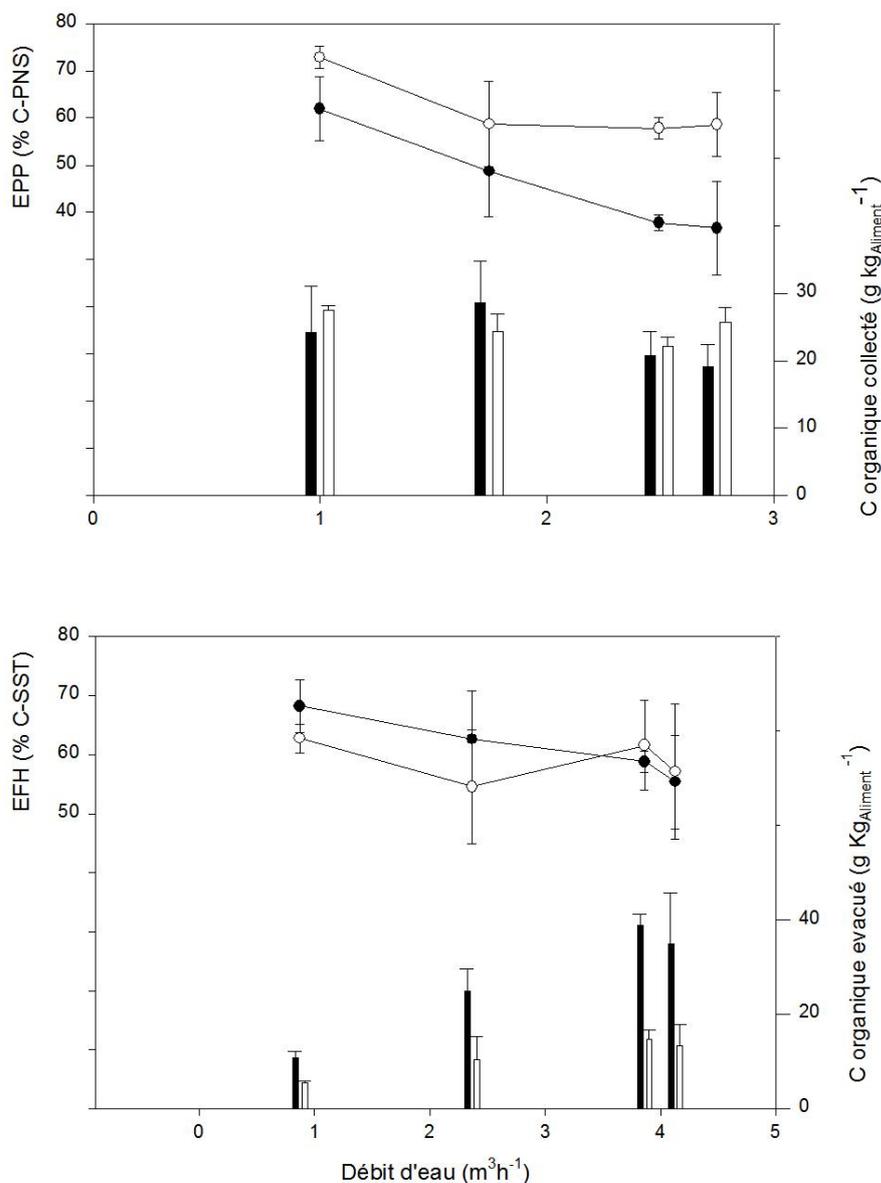


Figure 14. Efficacité des pièges à particules (EPP) et du filtre mécanique (EFH) en fonction du régime hydraulique, durant les expériences avec deux tailles de bar (64-93g-? et 512-591g-?). Les histogrammes représentent la quantité de carbone organique évacué ou collecté respectivement par les pièges à particules et le filtre mécanique.

#### 4.2.4. Filtre HYDROTECH

L'efficacité de la filtration mécanique (EFH) pour éliminer le carbone particulaire du circuit était relativement constante (ANOVA,  $p > 0,3$ ). L'efficacité moyenne était de  $59,54 \pm 8,17\%$  pour les particules générées par les petits poissons. Concernant les gros poissons, l'EFH

différait (ANOVA+Tukey test,  $p < 0,05$ ) entre l'expérience au débit le plus faible ( $68,21 \pm 4,43$  %) et celle au débit le plus fort ( $55,39 \pm 7,91$  %). Les deux débits intermédiaires ont présenté une efficacité moyenne de  $62,45 \pm 7,34$  % (fig.14).

La distribution de la matière particulaire produite par le bassin d'élevage est présentée dans le tableau 11. L'efficacité des dispositifs de contrôle de solides dans le système de recirculation pendant les expériences est présentée dans le tableau 12. Dans ces tableaux les données de débits  $1,75$  ;  $2,5$  ;  $2,75 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  ont été groupées afin de les comparer aux données obtenues avec le débit le plus faible ( $1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ).

#### 4.2.5. Boucle de traitement

Le bilan de masse au niveau du bassin d'élevage pour les solides totaux, le carbone particulaire et l'azote produits pendant les expériences sont présentés dans le tableau 13. Le carbone particulaire généré dans le bassin d'élevage et arrivant à la boucle de traitement ( $R_{\text{PNS}}$ ) représentait de 30-50% du carbone particulaire total qu'y arrive ( $R_{\text{PNS}} + \text{Recirculé dans le bassin d'élevage}$ ). Un bilan en carbone a montré qu'il y a une «consommation» du carbone particulaire entrant dans la boucle de traitement. Cette «consommation» dépend du régime hydraulique et elle paraît diminuer à l'efficacité de la filtration biologique. Cependant, cette tendance n'a pas été statistiquement démontrée (fig 15). Malgré cela, la boucle de traitement consommait plus de carbone particulaire (ANOVA+test tukey,  $p < 0,05$ ) dans le deux débits faibles ( $2$  et  $3,5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ) que dans les débits forts ( $6,5$  et  $8,5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ). La consommation moyenne des deux débits faibles était de  $39,24 \pm 7,39$ % du carbone entrant dans la boucle pour les petits poissons. Pour les gros, en moyenne  $25,61 \pm 6,46$ % du carbone entrant était consommé. D'autre part, lorsque les expériences à fort débit ont été menées, des consommations moyennes de  $13,56 \pm 7,70$ % et de  $5,05 \pm 8,29$ % ont été respectivement observées pour les petits et les gros poissons.

La valeur moyenne observée en NAT était de  $0,42 \pm 0,1 \text{ mg N-NAT. l}^{-1}$  pour les trois hauts débits et pour les deux tailles de poissons (test t,  $p > 0,1$ ), alors que la valeur médiane de carbone particulaire était de  $272,12 \pm 43,15 \text{ } \mu\text{g-C.l}^{-1}$  pour les petits poissons et de  $165,40 \pm 18,21 \text{ } \mu\text{g-C.l}^{-1}$  pour les gros (Mann-Whitney ranks test,  $p < 0,001$ ).

Tableau 11. Distribution de solides évacués et retenus par le système de recirculation durant l'élevage de bars à deux tailles différentes (PETITS=60-100g; GROS=550-600g) et à des régimes hydrauliques différents dans le bassin d'élevage (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> et B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Moyenne ± Ecart type en g kg<sub>Aliment</sub><sup>-1</sup>

		Gamme de taille											
		PETITS						GROS					
		Débit d'eau						Débit d'eau					
		A			B			A			B		
		Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n
Production nette de solides (PNS)													
	total	148,1	9,8	6	192,5	30,2	18	200,4	34,2	6	290,1	35,3	16
	C	37,8	1,3	6	40,8	3,3	18	38,8	8,0	6	56,0	6,5	16
	N	5,6	0,3	6	6,0	0,9	18	4,8	0,9	6	6,3	1,2	16
	C/N	6,8			6,8			8,2			8,9		
Sédimentables													
	total	105,39	3,53	2	91,19	8,89	6	135,16	23,77	2	136,21	25,95	6
	C	27,54	0,60	6	24,05	2,53	8	24,26	6,76	6	23,65	6,31	8
	N	3,88	0,10	6	3,38	0,36	8	2,61	0,81	6	2,56	0,74	8
	C/N	7,10			7,11			9,30			9,24		
En suspension													
	Filtrés total	11,91	3,06	4	49,86	26,34	12	21,78	6,89	4	73,87	38,87	12
	C	2,82	0,38	4	7,13	2,43	4	4,34	0,98	4	13,80	3,88	4
	N	1,58	0,18	4	1,75	0,57	4	2,20	0,36	4	4,76	1,40	4
	C/N	1,79			4,07			1,98			2,90		
	Restant												
	R <sub>PNS</sub> total	30,82	8,28	6	51,40	16,28	18	43,48	15,13	6	86,34	25,25	16
	C	7,48	0,82	6	9,62	2,46	18	10,19	1,80	6	18,60	3,41	16
	N	1,30	0,19	6	1,48	0,44	18	1,56	0,38	6	2,45	0,77	16
	C/N	5,76			6,49			6,55			7,59		

Tableau 12. Efficacité des dispositifs de contrôle des solides dans un système de recirculation pendant l'élevage de bars à deux tailles différentes (PETITS=60-100g; GROS=550-600g) et à des régimes hydrauliques différents dans le bassin d'élevage (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> et B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Moyenne et Ecart type (e.t.) en % de solides totaux (MES) et % de carbone particulaire (C)

		Gamme de taille											
		PETITS						GROS					
		Débit d'eau						Débit d'eau					
		A			B			A			B		
		Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n	Moyenne	Ecart	n
<b>EPP (%)</b>	MES	71,41	4,65	6	48,58	9,84	18	67,71	7,47	6	45,00	13,06	16
	C	72,82	2,35	6	59,11	6,07	18	61,95	6,74	6	42,17	9,76	16
<b>EFH (%)</b>	MES	71,21	3,29	6	74,19	10,78	18	63,65	9,48	6	71,01	9,56	16
	C	62,76	2,48	6	57,05	14,15	18	68,21	4,43	6	58,17	9,02	16

EPP (%)=SP/PNSx100, où SP = Solides piégés aux pièges (g kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>) et PNS = production nette de solides par le bassin (g kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>).

EFH(%)=(SS<sub>EHT</sub>-SS<sub>SHT</sub>)/SS<sub>EHT</sub>x100, où SS<sub>EHT</sub> = flux de solides en suspension à l'entrée du filtre HYDROTECH (g kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>); SS<sub>SHT</sub> = flux de solides en suspension à la sortie du filtre HYDROTECH (g kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>).

Tableau 13, Bilan de masse au niveau du bassin d'élevage pour les solides totaux en matière sèche (MS), le carbone particulaire (C) et l'azote (N) produits pendant l'élevage de bars à deux tailles différents (PETITS=60-100g; GROS=550-600g) et à des régimes hydrauliques différentes dans le bassin d'élevage (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> et B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Moyenne ± Ecart type en g kg<sub>Aliment</sub><sup>-1</sup>

		Gamme de taille											
		PETITS						GROS					
		Débit d'eau			Débit d'eau			Débit d'eau			Débit d'eau		
		A		n	B		n	A		n	B		n
Moyenne	Ecart	Moyenne	Ecart		Moyenne	Ecart		Moyenne	Ecart				
Aliment consommé (g)	total	1000,0			1000,0			1000,0			1000,0		
	MS	900,0	72,0	10	900,0	72,0	10	900,0	81,0	10	900,0	81,0	10
	C	452,9	25,9	5	452,9	25,9	5	463,2	26,5	5	463,2	26,5	5
	N	72,1	5,6	5	72,1	5,6	5	72,1	5,6	5	72,1	5,6	5
	C/N	6,3			6,3			6,4			6,4		
Croissance	MS	659,0	63,0	26	659,0	63,0	26	648,0	62,0	54	648,0	62,0	54
	C	136,2	0,7	5	136,2	0,7	5	134,0	0,7	5	134,0	0,7	5
	N	16,6	13,2	5	16,6	13,2	5	16,3	13,0	5	16,3	13,0	5
	C/N	8,2			8,2			8,2			8,2		
Déchets solides (PNS)	MS	148,1	9,8	6	192,5	30,2	18	200,4	34,2	6	290,1	35,3	16
	C	37,8	1,3	6	40,8	3,3	18	38,8	8,0	6	56,0	6,5	16
	N	5,6	0,3	6	6,0	0,9	18	4,8	0,9	6	6,3	1,2	16
	C/N	6,8			6,8			8,2			8,9		
Déchets dissous	C-CO <sub>2</sub>	123,9	11,9	2	123,9	11,9	2	201,1	19,2	2	201,1	19,2	2
	NAT	19,0	2,1	8	26,5	2,9	24	15,4	3,4	8	29,7	6,5	20
	N-Urea	2,2	0,2	8	3,1	0,3	24	2,0	0,6	8	4,9	1,4	20
Déficit	C	155,0			152,0			62,3			72,1		
	N	28,7			19,9			33,6			14,9		

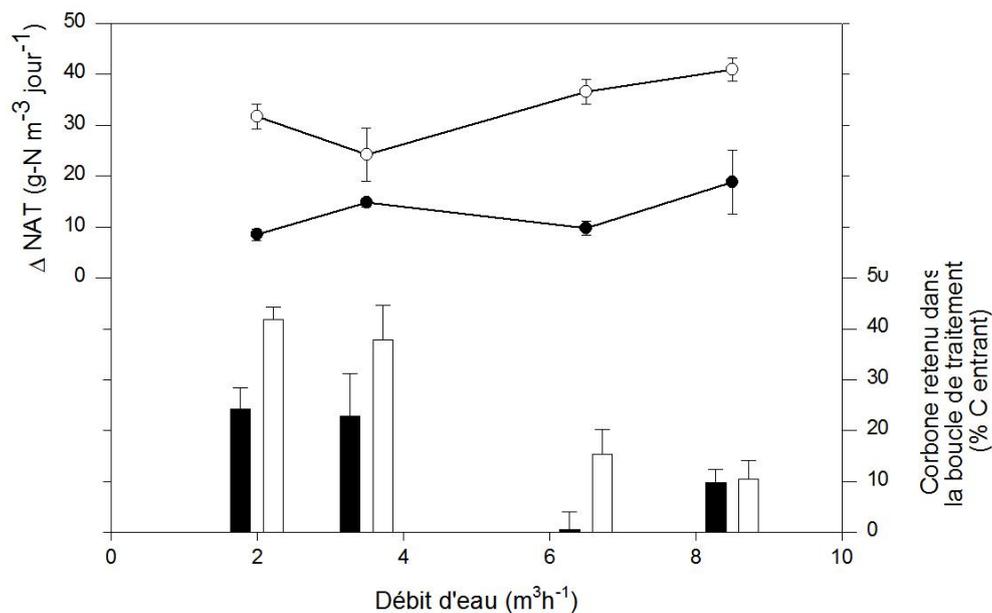


Figure 15. Performance de la filtration biologique ( $\Delta$  NAT) et carbone particulaire retenu dans la boucle de traitement (% C entrant) en fonction du régime hydraulique, durant les expériences avec deux tailles de bar (64-93g-○ et 512-591g-●).

### 4.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

La croissance des poissons pendant les deux évaluations est considérée comme adéquate pour leur taille respective. Ces croissances n'ont été affectées ni par la stratégie de nourrissage ni par les variations dans le régime hydraulique du système de recirculation. Les taux de croissance spécifique dans les deux cas correspondent avec l'Indice de conversion du carbone (IC-C) dû au métabolisme des poissons (Tableau 10). La rétention de l'azote ingéré par les poissons observée dans cette étude (IC-N=22-24%) est proche de celles rapportées pour des juvéniles de bar entre 13 et 50g (25-34%) élevés dans un système recirculé (Peres et Oliva-Teles, 2003) et pour des bars de 110-200g (25-27%) nourris avec un aliment à 52% de protéines, en système ouvert (Ballestrazzi et Lanari, 1996). Lefebvre *et al.* (2001) ont rapporté de leur côté une rétention comparable (23%) pour des bars élevés en cage pendant l'été. Nous pouvons donc conclure, que le système d'auto-alimentation avec rations journalières fixes peut être utilisé pour estimer la production de solides en fonction de la taille des poissons.

La composition du bar entier, telle que publiée dans la littérature, varie en fonction du type d'aliment, de la taille des poissons et des protocoles expérimentaux. Certaines valeurs sont exprimées en termes de protéines et après conversion en azote ( $N = \text{Protéines} \times 6,25^{-1}$ ), elles

fluctuent entre 7,1 et 9,9 % d'N (Ballestrazzi *et al.*, 1998; Dias *et al.*, 1998; Lanari *et al.*, 1999; Lupatsch *et al.*, 2003; Peres et Oliva-Teles, 2003). Dans cette étude, on a fait l'analyse élémentaire de l'azote au CHN pour mesurer directement l'azote dans un échantillon de poisson entier ( $6,82 \pm 0,54$  %). Cette différence analytique peut être la cause des discordances observées entre cette mesure et les données publiées.

#### 4.3.1. Bassin d'élevage

##### 4.3.1.1. Substances dissoutes

Dosdat *et al.* (1996) ont rapporté une production moyenne en N-Urée de 5,6 % de l'azote ingéré pour le bar. Dans notre expérience, les résultats obtenus chez les gros poissons étaient légèrement supérieurs (6,8%). A contrario, les petits poissons excrétaient légèrement moins d'azote ingéré sous forme de N-Urée (4,3%). Cependant cette valeur reste dans la fourchette (de 4 à 6%) établie pour quatre espèces de téléostéens entre 10-100g (Dosdat *et al.* 1996). L'écart observé pour les gros poissons (par rapport à cette référence) peut être dû aux différences de métabolisme entre les deux tailles de poissons (Dosdat *et al.*, 1996).

La production de NAT était relativement stable pour les deux tailles de poisson (37% de l'azote ingéré pour les petit poissons et 41% pour les gros). Cette observation correspond aux excréctions en NAT publiées pour *Dicentrarchus labrax* (Ballestrazzi *et al.*, 1994; Dosdat *et al.*, 1996; Pagand *et al.*, 2000).

Plusieurs facteurs pourraient avoir affecté la production de l'azote dissous du bassin d'élevage pendant les évaluations au débit le plus faible. La production en azote particulaire au faible débit ( $5,57 \pm 0,29$  g-N kg-aliment<sup>-1</sup> pour les petits poissons et  $5,25 \pm 0,59$  g-N kg-aliment<sup>-1</sup> pour les gros) était équivalente à la production particulaire aux autres débits pour chaque taille de poissons (test-t,  $p > 0,1$ ). La fraction d'azote digestible dans l'aliment était la même dans toutes les expériences (différents débits et pour deux tailles de poissons). Cependant, les excréctions en azote dissous (NAT+N-urée) ont diminué jusqu'à 25% pour les petits poissons et jusqu'à 50% pour les gros. En conséquence, la proportion des excréctions azotées totales (NAT+N-urée+N-particulaire) était plus faible, ce qui pourrait être expliqué par une meilleure rétention d'azote par les poissons pendant les évaluations au plus faible régime hydraulique. Cependant, les conditions expérimentales n'ont pas été maintenues suffisamment longtemps pour permettre aux poissons d'exprimer ce phénomène à travers leur croissance. D'autre part, l'intensité et la durée de l'activité natatoire peut avoir un effet très variable sur les excréctions azotées (Todgham *et al.*, 2001). Lauff et Wood (1996), ont démontré que les excréctions

azotées dissoutes augmentent quand l'activité natatoire des poissons augmente. Pendant cette étude, l'activité des poissons a diminué lors des évaluations au débit le plus faible. Cette observation n'a pas été mesurée, mais l'activité des poissons pourrait avoir eu un effet sur les excréments azotés dissoutes (NAT et N-urée) dans ces conditions.

Lors de l'évaluation au débit le plus faible, la rétention de matière particulaire dans le bassin d'élevage était de 23%, par rapport aux autres débits pour les petits poissons et de 31% pour les gros. Les particules retenues sont formées de matériel organique détritique et d'organismes qui colonisent et consomment la matière dissoute et particulaire (Danovaro *et al.*, 2000). De plus, la charge nette négative de la surface des particules organiques leur donne un pouvoir d'adsorption des ions positifs comme l'ammoniac (Wik, 1999). Par conséquent, la haute disponibilité en nutriments dissous et en particules servant de substrat ont rendu possible une augmentation considérable de l'activité hétérotrophique, qui a réduit principalement la production de N-organique (N-urée) dans l'eau. Les résultats de production des composants azotés par le bassin d'élevage en SR doivent donc être pris avec réserve quand ils ont été obtenus à faible taux de renouvellement dans le bassin ( $< 35 \text{ l h}^{-1} \text{ kg}_{\text{poisson}}^{-1}$ ).

Les différences entre les productions de substances dissoutes au débit le plus faible et celles aux autres débits, peuvent être expliquées par deux phénomènes : 1) une diminution de l'activité natatoire des poissons et 2) une augmentation de l'activité bactérienne associée à la matière particulaire accumulée dans le bassin.

#### 4.3.1.2. Déchets particulaires

Plusieurs auteurs ont rapporté une large fourchette de concentrations en solides dans l'effluent des bassins d'élevage aquacoles. Les valeurs trouvées pendant cette étude varient de 0,75 à 7,4 mg l<sup>-1</sup> de matière sèche et elles sont cohérentes avec les valeurs rapportés dans la littérature qui sont de 1 à 50 mg l<sup>-1</sup> (Hennessy *et al.*, 1991 ; Bergheim *et al.*, 1993 ; Cripps, 1995). Cependant les données en terme de carbone organique dans la matière particulaire du système de recirculation rapportées dans cette étude sont les premières, ce qui rend difficile une comparaison stricte avec les données publiées.

Une des rares publications sur la composition en carbone et en azote dans les fèces de poisson, rapporte que les fèces de saumon atlantique contiennent de 26,9 à 27,4% de carbone et de 2,8 à 3,3% d'azote (Chen *et al.*, 2003). Ces résultats sont légèrement supérieurs aux 17-26% en carbone et 1,2-2,4% en azote qui ont été obtenus dans cette étude. Les différences peuvent être expliquées d'une part, par le fait que les espèces de poissons sont différentes et

d'autre part, que Chen *et al.*, (*op cit.*) prélevaient les fèces par dissection des poissons (alors que cette étude utilise les fèces retenus par les pièges à particules). Il est important de remarquer que les fèces de saumon perdent par lessivage jusqu'à 22% en carbone et 26% en azote dans les 10 premières minutes au contact avec l'eau. La matière fécale analysée dans cette étude est donc considérée comme partiellement lessivée, ce qui explique également les plus faibles teneurs en carbone et en azote.

Par contre, la production en azote particulaire par les bassin d'élevage de truite arc-en-ciel nourris avec 73,1-73,7 g-N kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup> est de 4,1 à 10 g-N kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup> (Green *et al.*, 2002). Ces valeurs sont en accord avec les résultats obtenus dans cette étude (4,8-6,3 g-N kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>).

En ce qui concerne la production totale de matière particulaire, Cho et Bureau (2001) suggèrent l'utilisation de l'équation suivante pour estimer les déchets solides totaux (DST) produits par les installations aquacoles :

$$DST=[AD \times (1 - CDA)] + AG$$

Toutes les variables sont exprimées en matière sèche, AD=Aliment distribué, CDA=Coefficient de digestibilité apparente et AG=Aliment gaspillé apparent. En utilisant un CDA de 82% (Kaushik *et al.*, en cours de publication) et un AGA de 2% (Chapitre 3) obtenus pour les mêmes poissons et type d'aliment, on obtient par calcul un DST de 180 g-MS kg<sub>aliment</sub><sup>-1</sup>. Ce modèle ne prend pas en compte l'âge des poissons ni le régime hydraulique. On peut donc constater que les DST calculés sont seulement comparables avec la PNS des petits poissons dans les trois conditions de débits forts (1,75-2,5 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>) et à la PNS des gros poissons au débit faible (1 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>).

Une surestimation du coefficient de digestibilité et/ou une sous estimation de l'aliment gaspillé peuvent être à l'origine des différences observées entre la quantité de déchets solides totaux et la production nette de solides de cette étude. Normalement le coefficient de digestibilité apparente des aliments commerciaux est déterminé en utilisant des petits poissons, limitant l'application de cette constante à une gamme de poids réduite. Dans notre cas, les gros poissons sont en dehors de la gamme de poids, donc le CDA utilisé peut être inadapté pour le calcul de la production de déchets solides totaux. Tout ceci renforce l'utilité de la méthodologie proposée précédemment dans cette étude pour l'estimation des déchets particuliers produits par les systèmes d'élevage aquacoles.

Considérant l'effet du régime hydraulique sur la production nette de solides, les résultats obtenus confirment que le dimensionnement de l'unité expérimentale utilisée était correct pour évacuer une quantité maximale de matières particulaires, quelque soit le débit à partir de  $1,5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ . En même temps, seul le débit le plus faible affecte significativement l'accumulation de solides particulaires et un minimum de  $35 \text{ l h}^{-1} \text{ kg}_{\text{fish}}^{-1}$  était nécessaire pour évacuer le maximum de déchets du système de recirculation.

#### 4.3.2. Evacuation des solides

L'efficacité des pièges à particules (décanteurs), en termes de matière sèche totale, était inférieure de 17% aux estimations (en moyenne de 64% d'efficacité) publiées par plusieurs auteurs (Ulgenes et Eikebrokk, 1994; Lekang *et al.*, 2000; Wong et Piedrahita, 2000). Cette différence peut être due aux conditions de fonctionnement des pièges à particules dans cette étude. Les estimations publiées considèrent que 6-10% du débit total des bassins d'élevage passe à travers les pièges et contiennent 80% des solides produits. Pendant cette étude, une moyenne de 28% du débit de bassin d'élevage passait par les pièges avec seulement 61% de la production nette de solides. Par contre, l'évacuation des bassins aux pièges à particules contenait jusqu'à 70% de la PNS (matière sèche totale) pendant les expériences au débit le plus faible, se traduisant par une augmentation de 70% d'efficacité de la rétention en solides totaux. Une remarque importante doit être prise en compte pour l'interprétation de ces résultats : la réduction du débit dans le bassin d'élevage n'a pas affecté la vitesse de passage de l'eau à travers les pièges (moyenne  $36,94 \pm 3,19 \text{ cm min}^{-1}$ ) aux faibles et aux forts débits (test t,  $p > 0,2$ ).

Par ailleurs, Losordo et Hobbs (2000) suggèrent d'utiliser une valeur de 50% pour l'efficacité des pièges à particules, dans leur modèle pour le dimensionnement des filtres biologiques des systèmes de recirculation. Cette recommandation est basée sur les résultats obtenues par Twarowska *et al.*, (1997) dans un élevage de tilapia, qui avait montré une efficacité très proche de celle observée dans cette étude aux trois régimes hydrauliques forts pour les deux tailles de poisson (47% en moyenne pour les solides totaux).

Le régime hydraulique n'affecte pas fortement l'efficacité du filtre mécanique HYDROTECH et on a pu observer une variabilité importante dans sa mesure, variabilité qui peut être le résultat d'un colmatage partiel de la maille comme rapporté par Langer *et al.* (1996). La EFH qui a été observée (basée sur la mesure de carbone), est en accord avec les efficacités (sur la base des solides en suspension) rapportées par plusieurs auteurs (Bergheim *et al.*, 1998; Kang

*et al.*, 1998; Palacios et Timmons, 2001). Cependant, il est important de prendre en compte qu'une moins bonne efficacité peut être obtenue à cause d'une cohésion moins importante des particules produites par le bassin d'élevage. A ce sujet, Langer *et al.* (1996), ont rapporté des efficacités de seulement 9,6-18,4% dans un élevage d'anguilles. Nous avons mesuré une efficacité de 65-74% en solides en suspension filtrés, par rapport aux efficacités d'environ 60% en carbone particulaire. Cette différence souligne l'importance de la mesure du carbone organique comme meilleur indicateur de la « nocivité » potentielle de la matière organique dégradée arrivant dans la boucle de traitement des systèmes de recirculation. La connaissance de la quantité de carbone organique arrivant à la boucle de traitement permet de calculer la quantité d'oxygène nécessaire pour sa dégradation et prévoir ses effets sur les équilibres physicochimiques dans l'eau.

#### 4.3.3. Boucle de traitement et bilan de masse

Plusieurs études montrent que les excréments solides de poissons ont un ratio  $DBO/N_{Kjeldhal} = 4,3$  qui est plus haut que les excréments sous forme dissoute où le ratio  $DBO/N_{Kjeldhal}$  est d'environ 3 (Golz, *et al.*, 1999). Dans cette étude le rapport C/N des solides produits par le bassin d'élevage était entre 7 et 9, alors que le C/N des métabolites dissous était de 4 à 6. Ces différences peuvent être dues aux méthodes analytiques et au calcul du rapport  $DBO/N_{Kjeldhal}$  et du rapport C/N qui ont été utilisés. Dans cette étude le carbone et l'azote élémentaires ont été utilisés pour calculer le rapport C/N (en masse) de la matière particulaire, alors que le calcul de C-CO<sub>2</sub>, de C-Urée et les concentrations en N-NAT+ N-Urée ont été utilisées dans le cas de la matière dissoute.

Les pièges à particules éliminent la plupart des fèces et des aliments non consommés. La matière particulaire supérieure à 30  $\mu$  est filtrée par le filtre à tambour. Les particules de taille inférieure restent dans le circuit et participent au développement quantitatif et qualitatif des bactéries dans le système de recirculation. Cette biomasse bactérienne constitue une nouvelle forme de matière particulaire qui reste partiellement dans le circuit.

Le bilan de masse au niveau du bassin d'élevage sur la base du carbone organique particulaire, a reflété un déficit de 151 g-C  $kg_{aliment}^{-1}$  pour les petits poissons et de 72 g-C  $kg_{aliment}^{-1}$  pour les gros, (Tableau 13). Une partie de ce carbone aurait pu passer en solution par lessivage des fèces. Une partie peut être restée dans les zones de vitesse de passage réduite, qui en conditions de fonctionnement normal sont purgées périodiquement pour éviter l'accumulation. Enfin, le carbone contenu dans les grosses particules peut ne pas avoir été pris

en compte dans le bilan de masse. En effet, ces particules peu nombreuses (McMillan *et al.*, 2003) ont pu échapper au prélèvement.

Si l'on considère la totalité des solides en suspension entrant dans la boucle de traitement, une fraction de 34 à 67% est issue des solides «frais» (récemment produits par le bassin d'élevage). Si l'on considère la totalité du carbone entrant dans la boucle de traitement, une fraction de 48% est issue de carbone « frais » (récemment produit par le bassin d'élevage) produit par les petits poissons, alors qu'une fraction de 38% est issue de carbone « frais » (récemment produit par le bassin d'élevage) produit par les gros poissons. Ces estimations basées sur le carbone sont significativement différentes entre les petits et les gros poissons (t-test,  $p < 0,01$ ).

Il semblerait que lorsque la proportion de matière « fraîche » qui entre dans la boucle de traitement augmente, la fraction du carbone entrant (qui est « consommé » par la boucle de traitement) augmente aussi. Le carbone organique pourrait ainsi s'accumuler dans l'eau sous forme de substances humiques dissoutes jusqu'à constituer environ 50% du carbone organique dissous, comme Leonard (2000) l'a démontré dans un système recirculé sans renouvellement d'eau. Cette observation est très importante pour la gestion du carbone particulaire avant la boucle de traitement et pour le contrôle de ses effets négatifs sur la filtration biologique, la consommation d'oxygène et l'accumulation de solides dans la boucle de traitement.

La rétention de particules, décrite précédemment, suggère une combinaison de sédimentation dans le bac tampon et un léger colmatage du filtre biologique comme principales causes de stockage des matières en suspension. Cette rétention est fonction du régime hydraulique et de la fraction de solides frais entrant dans la boucle de traitement. Une vitesse de passage minimale de  $14,22 \pm 0,45 \text{ m h}^{-1}$  (avec un temps de séjour de  $6,46 \pm 0,21 \text{ min}$ ) et un temps de séjour maximal de 18,5 min dans la boucle de traitement (Volume de la boucle =  $2 \text{ m}^3$ ) ont été nécessaires pour avoir une nitrification adéquate et une consommation minimale de carbone particulaire. Par ailleurs, la proportion de matière fraîche entrant dans la boucle de traitement est fonction de la digestibilité de l'aliment et particulièrement de la taille des poissons.

Le taux de fermeture du système de recirculation ( $\text{m}^3$  d'eau neuve par kg d'aliment distribué) est le principal facteur qui détermine l'accumulation de la matière dissoute et particulaire en suspension dans le circuit (Leonard *et al.*, 2002). Pendant cette étude on n'a pas évalué l'effet cumulatif à long terme des conditions décrites sur l'évolution de la matière particulaire dans

le SR. Cependant, l'information acquise est susceptible d'être couplée aux modèles de dilution et production bactérienne déjà existants (Pagand, 1999; Leonard 2000).

## CHAPITRE 5. EFFETS DU CARBONE ORGANIQUE PARTICULAIRE SUR L'EFFICACITE DE LA FILTRATION BIOLOGIQUE

La filtration biologique dans les systèmes de recirculation (SR) sert à éviter l'accumulation des substances azotées toxiques pour les poissons ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_2^-$ ). Dans le processus de nitrification l'ammoniaque est transformé en nitrite puis en nitrate par les bactéries nitrifiantes (*Nitrosomonas* et *Nitrobacter*). Les filtres biologiques des SR utilisent généralement des biofilms fixés à un support, ce qui permet de retenir la biomasse générée à l'intérieur du réacteur afin d'obtenir un temps de rétention bactérien élevé. Cette méthode améliore la stabilité et l'efficacité du processus, produisant une quantité faible de déchets solides.

Comme les réactions de nitrification ont lieu dans le biofilm et non dans la phase liquide, le taux d'utilisation des substrats dépend de leur concentration locale dans le biofilm. En profondeur dans le biofilm, les populations de bactéries nitrifiantes peuvent être limitées en oxygène, alors que celles de la surface peuvent être limitées en substrat (Horn, 1994 ; Zhu et Chen, 2002). La cinétique de nitrification dans le biofilm est donc affectée par les mécanismes de transport de masse et conséquemment par les barrières à franchir et les particules associées (détritiques ou vivantes).

La nitrification dans les filtres biologiques est inhibée par l'existence de matière organique particulaire dans l'eau. La matière organique facilement dégradable produite par les organismes en élevage, maintient le développement de bactéries hétérotrophes. Les hétérotrophes entrent en compétition avec les nitrifiantes (autotrophes) pour l'oxygène, les nutriments et l'espace (Sharma et Ahlert, 1977). De plus, leur taux de croissance est cinq à vingt fois plus importante que celle des autotrophes. Ainsi, une filtration biologique normale consiste en un processus de métabolisme bactérien multi-spécifique où les hétérotrophes peuvent inhiber la nitrification quand l'oxygène et l'espace sont limités (Cheng et Chen, 1994 ; Ohashi *et al.*, 1995 ; Zhu et Chen, 2001).

Dans les SR, les filtres biologiques fonctionnent à des concentrations faibles d'azote ammoniacal total (NAT), pour éviter une exposition des poissons à des concentrations toxiques. En même temps, les concentrations de matière organique fécale sont relativement élevées par rapport aux concentrations en NAT. Ainsi, la concentration élevée en carbone organique est le principal facteur qui affecte la performance de la filtration biologique (Wheaton *et al.*, 1994 ; Zhu et Chen, 2001).

Suite à l'importance de la matière organique sur la filtration biologique, plus particulièrement du rapport C/N sur les métabolismes autotrophe et hétérotrophe, nous avons réalisé trois expériences visant à évaluer l'effet du contrôle des rapports  $C_{\text{particulaire}}/N_{\text{dissous}}$  et  $C_{\text{dissous}}/N_{\text{dissous}}$  sur la performance de la filtration biologique. La filtration sur diatomées était le moyen de contrôler la concentration des particules de moins de 30  $\mu\text{m}$ , qui restent dans la boucle de traitement d'un SR standard, alors que l'addition du carbone organique dissous dans le circuit sans poissons permettait d'apporter du carbone sans augmenter la quantité de particules colonisables.

### 5.1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

La boucle de recyclage d'un élevage de bars (*Dicentrarchus labrax*) a été équipée d'un filtre à diatomées FOURNIER (fig. 16) qui filtrait 100 % du débit de recirculation ( $10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ) dans une boucle parallèle à la boucle de traitement principal: ce filtre fonctionnait en boucle sur le bac tampon. Le seuil de coupure utilisée était de 1,2  $\mu\text{m}$ , obtenu par le passage de l'eau à travers une fine couche de terre de diatomées CELATOM FW-60-S (EAGLE PICHER MINERALS) sur une toile cylindrique (élément filtrant) à l'intérieur du filtre FOURNIER. La vitesse de passage utilisée était de  $3 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  par  $\text{m}^2$  de surface filtrante.

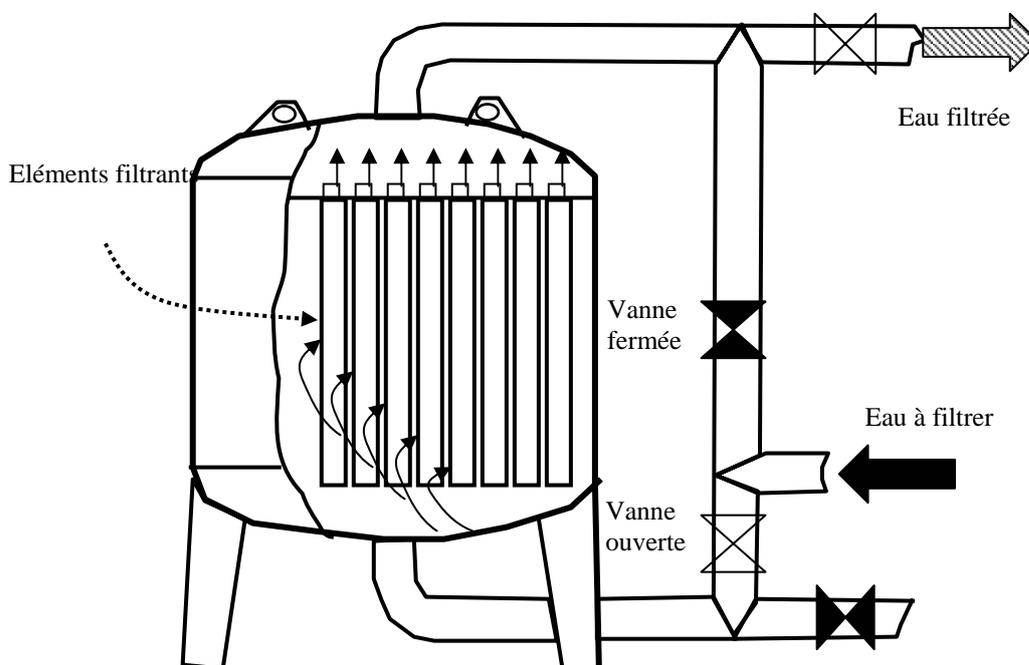


Figure 16. Schéma de fonctionnement du filtre FOURNIER au cours de la filtration.

Une deuxième expérience utilisant le même système de recirculation sans poissons avait pour but d'évaluer les effets du contrôle de rapport C/N (dissous) sur l'efficacité de la filtration biologique et la productivité en matière particulaire. Dans cette expérience, les sources de C et de N étaient respectivement du saccharose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) et du chlorure d'ammonium ( $NH_4Cl$ ), au lieu des produits métaboliques des poissons (selon la méthode suggérée par Zhu et Chen, 2001).

Tout au long de cette expérience le rapport C/N dans le système de recirculation a été contrôlé par addition de 75 g-saccharose.jour<sup>-1</sup> et de 150 g-chlorure d'ammonium.jour<sup>-1</sup> faisant un rapport C/N=0,8 dans le bac tampon du circuit (un rapport C/N=1,0 signifie que pour chaque gramme de carbone de saccharose il y avait un gramme d'azote fourni par le chlorure d'ammonium dans la solution). Le C/N=0,8 et la quantité de  $NH_4Cl$  ont été fixés en fonction des mesures préalables des concentrations en carbone particulaire et en  $\Delta NAT$  mesurées au cours d'expériences précédentes.

La troisième expérience consistait simplement à suivre la performance de la filtration biologique et à évaluer la matière particulaire dans le système de recirculation pendant un mois d'élevage. L'objet de cette expérimentation était de servir de base aux comparaisons suivantes : 1) SR avec élimination de particules (SR+FD), 2) SR avec sources de carbone et d'azote dissous (SR+Dissous) et 3) SR sans élimination de particules (Témoin).

Le filtre biologique faisait systématiquement l'objet d'un retro-lavage préalablement aux évaluations sur les matières particulaire et dissoute dans ce circuit, pour les trois conditions décrites précédemment (SR+FD, SR+dissous et Témoin). Ceci avait pour objectif de démarrer les expériences dans les trois conditions avec un biofilm initial comparable.

Le débit d'eau traité était de 204m<sup>3</sup> par jour à une vitesse de passage de 18,6 m.h<sup>-1</sup> et un temps de résidence hydraulique de 5 minutes dans le filtre biologique. Le taux de fermeture du système d'élevage, pendant les deux périodes d'évaluation avec poissons, était fixé à 0,7 m<sup>3</sup> d'eau neuve par kg d'aliment consommé par les poissons, afin d'éliminer l'effet de l'évolution de la biomasse en poissons sur la concentration en matières particulaire et dissoute. Dans les trois expériences, la température du circuit était de 22±1,5°C et la concentration d'oxygène était maintenue entre 5,5 et 9 mg/l à la sortie du bassin d'élevage pour comparer les performances de filtration biologique.

Pendant un mois de fonctionnement, on a mesuré les concentrations en azote ammoniacal total (NAT) et en matière en suspension (MES), ainsi que les teneur en C et en N dans les MES d'après la méthode décrite au chapitre 2. L'efficacité de la filtration biologique était calculée à partir des concentrations de NAT à l'entrée et à la sortie du filtre biologique, comme présenté dans le chapitre 2. Les résultats ont été comparés par une analyse de variance (ANOVA) utilisant le logiciel SigmaStat pour Windows version 2.0 (© Copyright 1992-1995 Jandel Corporation).

## 5.2. RÉSULTATS

Les résultats d'efficacité de la filtration biologique ( $\Delta$  NAT), de concentration en matière particulaire (MES, C et N) dans la boucle de traitement et du rapport C/N de la matière particulaire en suspension pendant les trois conditions de fonctionnement sont présentés dans le tableau 14. Dans ce même tableau apparaissent également les résultats des comparaisons faites pour chaque variable étudiée.

L'évolution des concentrations en carbone et en azote particulaire au long des trois expériences est présentée dans la Figure 17. Dans ce schéma sont montrées les teneurs à l'entrée et à la sortie du filtre biologique. Les résultats des concentrations, entre l'entrée et la sortie n'ont jamais été significativement différents, sauf pour le carbone pour l'expérience utilisant la filtration sur diatomées. Le résumé des comparaisons est présenté dans le tableau 15. A partir de ces résultats, on peut estimer une rétention de  $\sim 27$  mg de carbone et de  $\sim 5$  mg d'azote particulaire par  $m^3$  d'eau traité par le filtre biologique, ce qui confirme l'hypothèse d'une « consommation » de matière particulaire par la boucle de traitement, comme indiqué dans le chapitre 4.

## 5.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Quand la filtration biologique est conduite avec une faible charge en solides dans l'eau, le filtre biologique peut être considéré comme un réacteur à biofilm « classique », où le transport des substances dissoutes dans le biofilm n'est pas limité. Dans ce cas, la nitrification est limitée exclusivement par la concentration de substrat (Malone *et al.*, 1993 ; Golz *et al.*, 1999). Dans les expériences SR+FD et SR+Dissous, l'efficacité de la filtration biologique était donc limitée seulement par la concentration de NAT, alors que la nitrification pendant l'expérience Témoin aurait pu être affectée par la présence des solides. Cependant, les résultats n'ont montré aucun effet sur l'efficacité de la filtration biologique pour les facteurs

testés, notamment la quantité de matière particulaire dans la boucle de traitement représentée par la teneur en carbone dans la MES.

Tableau 14. Résultats de l'efficacité de la filtration biologique ( $\Delta$  NAT), de la concentration en matière particulaire (MES, C et N) dans la boucle de traitement et du rapport C/N de la matière particulaire en suspension pour trois conditions de fonctionnement : 1) utilisant une filtration diatomées pour éliminer les particules dans la boucle (SR+DF), 2) utilisant des sources dissoutes de C organique et d'azote inorganique à la place des produits métaboliques de poisson (SR+Dissous) et, 3) Témoin.

Variables de réponse	Expérience			Test (probabilité)
	SR+FD	SR+Dissous	Témoin	
	Moyenne±E.T.	Moyenne±E.T.	Moyenne±E.T.	
	Médiane n	Médiane n	Médiane n	
$\Delta$ NAT (g-N jour <sup>-1</sup> m <sup>-3</sup> )	44,0±7,9 <sup>a</sup> 43,9 20	39,6±6,6 <sup>a</sup> 39,6 20	39,3±6,6 <sup>a</sup> 39,5 20	ANOVA (p>0,07)
MES (mg l <sup>-1</sup> )	0,7±0,4 0,5 <sup>a</sup> 19	0,9±0,4 0,8 <sup>a</sup> 15	0,9±0,2 0,9 <sup>a</sup> 16	Kruskal-Wallis (p>0,1)
C (µg l <sup>-1</sup> )	83,5±24,5 76,2 <sup>a</sup> 18	70,3±12,9 65,5 <sup>a</sup> 18	134,7±25,2 128,3 <sup>b</sup> 18	Kruskal-Wallis (p<0,001)
N (µg l <sup>-1</sup> )	17,7±5,7 16,6 <sup>b</sup> 18	8,8±2,5 8,5 <sup>a</sup> 18	27,8±4,6 27,4 <sup>c</sup> 18	Kruskal-Wallis (p<0,001)
C/N	4,7±0,4 4,7 <sup>a</sup> 18	8,3±1,1 8,0 <sup>b</sup> 18	4,9±0,4 4,9 <sup>a</sup> 18	Kruskal-Wallis (p<0,001)

Les variables d'une même ligne qui ne présentent pas la même note (a<b<c), sont statistiquement différentes (test Dunn, p<0,05)

Comme les expériences avaient pour objectif de tester des concentrations de NAT précédemment observées pendant un élevage normal (~0,4 mg N-NAT l<sup>-1</sup>), les performances de nitrification égales entre les trois expériences reflètent que le filtre biologique était surdimensionné par rapport à la charge en NAT utilisée dans cette étude et/ou qu'il n'y a pas eu d'accumulation significative en solides au régime hydraulique testé.

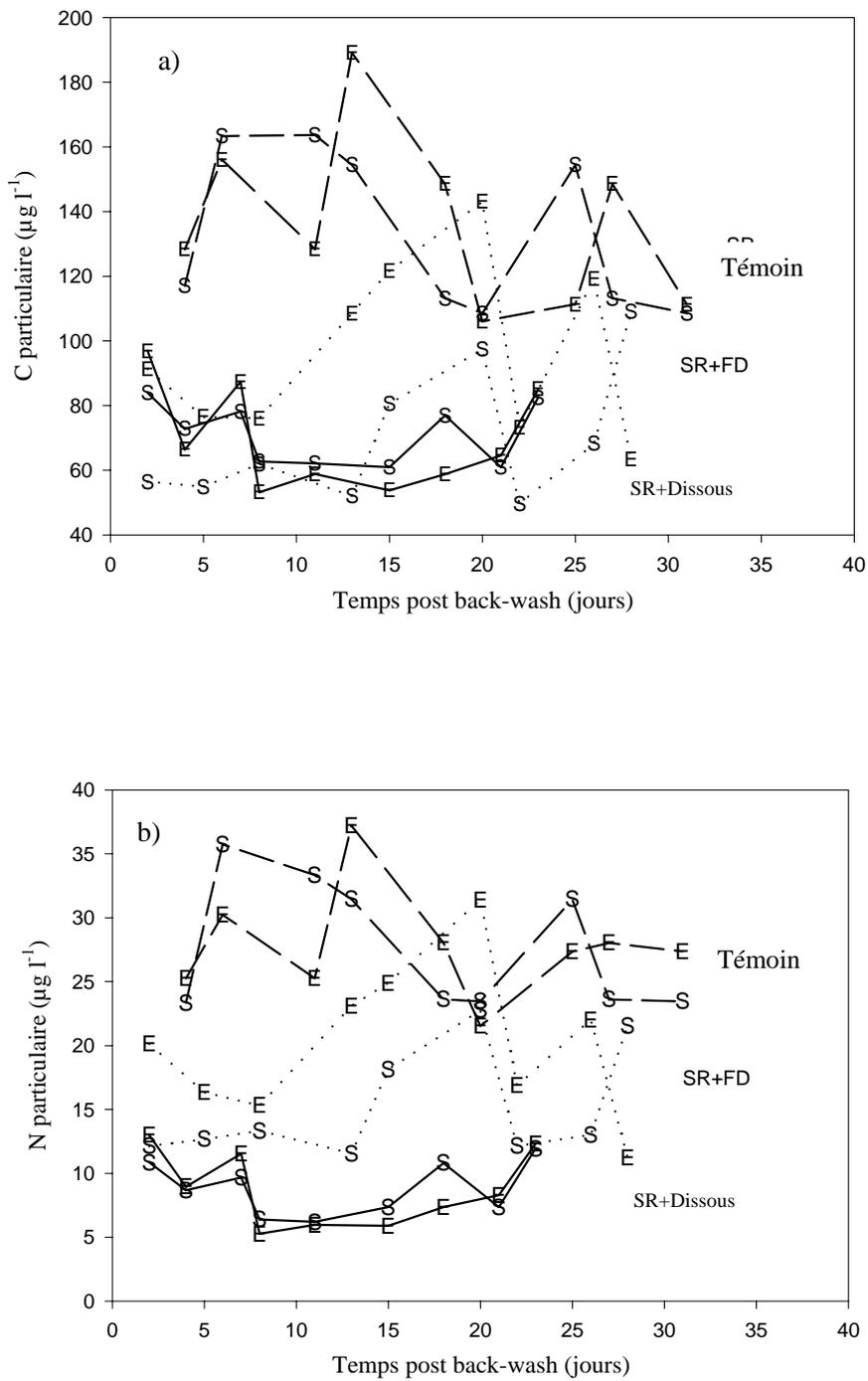


Figure 17. Évolution des concentrations en carbone (C) et en azote (N) particulaires à l'entrée (E) et à la sortie (S) du filtre biologique pour trois conditions de fonctionnement : 1) Utilisant une filtration diatomées pour éliminer les particules dans la boucle (SR+DF), 2) Utilisant des sources dissoutes de C organique et d'azote inorganique à la place des produits métaboliques de poisson (SR+Dissous) et, 3) Témoin.

Tableau 15. Valeurs moyennes des concentrations en carbone et en azote de la matière particulaire à l'entrée et à la sortie du filtre biologique pour les trois conditions de fonctionnement : 1) utilisant une filtration diatomées pour éliminer les particules dans la boucle (SR+DF), 2) utilisant des sources dissoutes de C organique et d'azote inorganique à la place des produits métaboliques de poisson (SR+Dissous) et, 3) Témoin.

Variable	Expérience	Point du filtre biologique		Différence ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Probabilité
		Entrée n ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Sortie n ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )		
Carbone	SR+FD	97,0±27,2 9	70,0±21,2 9	27,0±30,6	P<0,05
	SR+Dissous	69,4±16,1 9	71,2±9,6 9	-1,8±9,8	p>0,5
	Témoin	136,4±26,9 9	132,9±25,0 9	3,5±29,3	p>0,7
Azote	SR+FD	20,1±6,0 9	15,2±4,4 9	4,9±6,4	p>0,05
	SR+Dissous	8,7±2,9 9	8,8±2,1 9	-0,1±1,7	p>0,8
	Témoin	27,8±4,3 9	27,7±5,2 9	0,1±5,1	p>0,9

Néanmoins, quand la charge en solides est importante, l'accumulation des solides dans le biofilm produit : 1) une barrière physique, 2) une augmentation de la concentration de substances dissoutes, 3) une prolifération de bactéries hétérotrophes et, 4) la formation de macro-particules (Goltz *et al.*, 1999). Un facteur jusqu'à présent inconnu, mais très important, est le temps de séjour des solides dans le SR. Plus ce temps augmente, plus la décomposition de ces solides entraîne une augmentation de la concentration en carbone dissous et du ratio C/N dissous (Golz *et al.*, 1996) pouvant affecter la nitrification.

Les différences en concentration de carbone particulaire observées démontrent l'efficacité de la filtration sur diatomées pour maintenir un niveau de solides en suspension très bas dans la boucle de traitement sans modifier le rapport C/N. Ce type de filtration réduit le nombre de particules, mais elle ne semble pas affecter les processus de transformation dissous-particulaire ni particulaire-dissous qui ont lieu dans la boucle de traitement. La filtration sur diatomées est donc un moyen de contrôler la concentration des particules de moins de 30  $\mu\text{m}$ . Cependant, la charge en MES des systèmes de recirculation peut varier de quelques  $\text{mg.l}^{-1}$  à

plusieurs dizaines de  $\text{mg.l}^{-1}$  (Chen *et al.*, 1994), c'est pourquoi la possibilité d'avoir un colmatage rapide de la couche de diatomées est difficile à prédire.

En ce qui concerne le rapport C/N des particules pendant les trois expériences, on peut remarquer que les particules issues des poissons et mélangées aux particules générées par le filtre biologique (Témoin) ont le même rapport C/N que les particules produites dans la boucle de traitement à partir des substances dissoutes apportées par l'élevage (SR+FD). En revanche, les particules produites à partir de substances dissoutes (SR+dissous) ont un rapport C/N supérieur reflétant la plus faible teneur en azote au cours des expériences. Ce phénomène peut être expliqué par une activité autotrophe dominante, car les bactéries autotrophes n'augmentent pas leur biomasse rapidement (limitant la production de solides), transformant le NAT en  $\text{N-NO}_2^-$  puis en  $\text{N-NO}_3^-$  sans accumulation d'azote en biomasse bactérienne. Plusieurs auteurs ont mis en évidence l'effet du rapport C/N dissous comme un mécanisme de contrôle pour réduire l'accumulation de l'azote inorganique dans les SR (Avnimelech, 1999 ; Zhu et Chen, 2001). Cette méthode de contrôle paraît être un moyen économique et pratique d'augmenter la performance de la filtration biologique du SR. Des études restent à faire sur la faisabilité de son utilisation en présence de métabolites de poissons (dissous et particulaires).

L'évolution des concentrations du carbone particulaire, en utilisant la filtration diatomées, a permis de calculer la «consommation» de carbone particulaire lors d'un seul passage de l'eau à travers le filtre biologique. On a pu aussi constater qu'une élimination maximale des particules est le seul moyen d'observer l'évolution de colmatage du filtre biologique. Cependant dans ces circonstances, la disponibilité du carbone organique particulaire devient le facteur limitant pour le développement des hétérotrophes, car sa disponibilité est limitée par la filtration diatomées : l'activité hétérotrophe était donc contrôlée. Cette observation confirme l'hypothèse émise par Leonard, *et al.* (2002) qui suggèrent que la source de carbone organique particulaire pourrait être le facteur limitant pour le développement des hétérotrophes dans le système de recirculation.

Les matières particulaires jouent un rôle important à l'intérieur du système de recirculation. Par conséquent, il est souhaitable de limiter leurs concentrations dans le circuit. Au niveau du filtre biologique, une faible quantité de matière particulaire pourrait modifier les populations bactériennes, en permettant aux bactéries autotrophes de mieux se développer. Au niveau de la qualité de l'eau, ce contrôle pourrait diminuer la turbidité et la consommation d'oxygène par le système.

## **CHAPITRE 6. UTILISATION D'ADDITIFS DANS L'ALIMENT POUR AMELIORER L'ELIMINATION DE LA MATIERE PARTICULAIRE ET EFFET SUR LE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME.**

Les derniers résultats de suivi de la matière particulaire dans les systèmes de recirculation utilisant des aliments conventionnels (AC), ont montré que seulement 30% du carbone particulaire excrété par les poissons est collecté dans les dispositifs de décantation. Avec ce type d'aliment, seulement 60% de la matière particulaire fine est éliminée par filtration mécanique, la matière particulaire non éliminée se traduit par des effets négatifs sur le fonctionnement du système (Blancheton, 2000).

Plusieurs méthodes ont été testées afin d'augmenter l'élimination de matière particulaire dans les SR, dont l'incorporation d'additifs dans l'aliment. Dans le cadre d'une coopération entre l'IFREMER et La société «Le Gouessant» (fabricant d'aliments pour l'aquaculture), plusieurs additifs ont été incorporés dans la formulation afin d'obtenir un aliment modifié (AM). L'AM a la propriété d'augmenter la résistance mécanique des fèces de poisson et leur densité, donc de faciliter leur élimination du circuit par décantation.

Dans le cadre de cette coopération, une expérience a été menée pour évaluer les effets résultant d'une meilleure collecte de fèces, sur la qualité de l'eau d'élevage en SR grâce à l'utilisation d'un AM. Le but est de comparer un système utilisant un AM à un système utilisant un aliment conventionnel (AC). L'éventuel effet de la circulation de l'eau sur la collecte des fèces était évalué dans des élevages en circuit ouvert conduits en parallèle et nourris par l'aliment AC et l'aliment AM.

La quantité de matière particulaire ( $>1,2 \mu\text{m}$ ) a été évaluée au sein de deux circuits et dans les dispositifs d'évacuation de façon hebdomadaire pendant les cinq semaines d'expérimentation. Les concentrations du carbone et de l'azote dissous ( $<1,2 \mu\text{m}$ ) ont été mesurées au cours de l'expérience afin de quantifier l'effet de l'utilisation des deux types d'aliments sur chacun des circuits.

### **6.1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL**

#### *6.1.1. Système expérimental*

Les systèmes expérimentaux utilisés dans cette étude sont décrits au chapitre 2.

### 6.1.2. Les poissons et leur alimentation

Les animaux utilisés (*Dicentrarchus labrax*) avaient un poids individuel moyen de  $296 \pm 4$  g au début de l'expérience. La charge était de  $20 \text{ kg/m}^3$  dans chaque bassin et les poissons ont été maintenus dans les conditions décrites ci-après pendant une période de 4 mois. Deux aliments pressés iso-caloriques et iso-protéiques ont été fabriqués au laboratoire de nutrition aquacole à l'IFREMER de Brest, à partir d'ingrédients fournis par Le Guessant. La composition proximale de chacun des aliments est présentée dans le tableau 16.

Tableau 16. Composition proximale des aliments expérimentaux \*

Ingrédient	Type d'aliment	
	AC	AM
Protéine brute (%)	56,0	56,0
Mat. Grasses brutes (%)	12,0	12,0
Humidité (%)	10,0	10,0
Cendres brutes (%)	9,5	9,5
Phosphore (%)	1,50	1,50
Cellulose brute (%)	1,4	1,4
Aditifs (%)	0,0	3,0

AC = Aliment conventionnel ; AM = Aliment modifié

\* Données fournies par le fabricant

Un lot d'aliment conventionnel (AC) a été enrichi avec 3% d'additifs pour constituer un aliment, dit modifié (AM). Les aliments AM et AC sont constitués de farine de poisson, de pois, de blé, d'huile de poisson, de tourteau, d'extrait de soja cuit, de coproduit de la production d'acides aminés, de farine de blé, de gluten de blé, de matière soluble de poisson concentrée, de pré-mélanges de vitamines et oligo-éléments, ainsi que de conservateurs.

Un aliment extrudé Extra Natura (Protéines :Lipides = 44 :22%) a été utilisé pour nourrir les poissons pendant la période d'acclimatation. La différence du type de processus d'élaboration entre les aliments expérimentaux et l'aliment d'acclimatation répondait à l'impossibilité d'obtenir de l'aliment extrudé en utilisant les additifs de la formule de l'AM.

Les deux systèmes de recirculation ont été conduits parallèlement. Pour les identifier, on a nommé Bâbord, celui utilisant l'aliment AC et Tribord, celui utilisant l'aliment AM. Des

biométries de contrôle ont été effectuées les jours 49, 85 et 126, marquant aussi les étapes d'acclimatation et d'expérimentation. Deux bassins en circuit ouvert, équipés d'un système de pré-traitement d'eau (Fig. 8, chapitre 2), ont été utilisés comme témoin pour évaluer les performances biologiques des poissons. Chaque bassin du système appelé Témoin a été alimenté avec chaque type d'aliment (AC et AM respectivement).

Tableau 17. Types d'aliments distribués dans les systèmes expérimentaux : Extrudé (Extra Natura-Le gouessant), Pressé avec additifs (AM) et Pressé sans additifs (AC)

Système d'élevage	Bassin	Période		
		De 12/10/2002 au 27/11/2002	De 27/11/2003 au 12/01/2003	De 12/01/2003 au 14/02/2003
Ouvert	1	Extra Natura	AM	AM
	2	Extra Natura	AC	AC
Tribord	1	Extra Natura	Extra Natura	AM
	2	Extra Natura	Extra Natura	AM
Bâbord	1	Extra Natura	Extra Natura	AC
	2	Extra Natura	Extra Natura	AC

Les circuits Bâbord et Tribord ont été alimentés pendant les 85 jours d'acclimatation avec l'aliment extrudé (Extra Natura, 5 mm), tandis que le système Témoin a eu une acclimatation de 49 jours avec le même type d'aliment. Ensuite, dans tous les cas, l'alimentation a été changée pour l'utilisation des aliments expérimentaux (Tableau 17).

La stratégie d'alimentation consistait à nourrir les poissons par distribution automatique d'une dose unitaire ( $2,3 \pm 0,3$  g alim./impulsion) suite à l'activation d'une tige tactile comme décrit par Covès *et al.* (1998). La ration journalière d'aliment disponible a été basée sur le bassin le moins demandeur du circuit Bâbord afin d'éviter le gaspillage. Sauf dans le cas où la demande était inférieure à 1 kg alim./ 100 Kg biomasse, la ration journalière a été fixée sur la base de 1% de la biomasse de poisson. D'autre part, la ration journalière du circuit Tribord a été de 3% supérieure à celle du circuit Bâbord pour compenser les additifs inclus dans l'aliment ( $AM = AC + [AC * 0,03]$ ). Les deux bassins du système témoin ont été rationnés de la même façon que pour les systèmes en recirculation.

Sur la base d'expériences précédentes et des modèles de fonctionnement de systèmes de recirculation publiés (Pagand *et al.*,2000; Léonard *et al.*,2002), les observations journalières sur la prise alimentaire nous ont permis d'ajuster parallèlement le taux de fermeture des deux circuits à 1 m<sup>3</sup> d'eau neuve par Kg d'aliment ingéré.

La quantité de matière particulaire (>1,2 µm) a été évaluée au sein des circuits et dans les dispositifs d'évacuation de façon hebdomadaire. Les concentrations en carbone et en azote dissous (<1,2 µm) ont été mesurées au cours de l'expérience, afin de quantifier l'effet de l'utilisation des deux types d'aliments sur chacun des circuits correspondants. L'analyse statistique des résultats a été faite selon la méthode décrite au chapitre 2.

## 6.2. RÉSULTATS

### 6.2.1. Conditions environnementales

Les conditions environnementales dans lesquelles se sont déroulées les expériences sont présentées dans le tableau 18. La Figure 18 présente l'évolution de ces variables pendant la période de quantification de la matière particulaire. En ce qui concerne le taux de fermeture, la Figure 19 montre l'évolution parallèle de deux circuits recirculés.

Tableau 18. Conditions d'élevage du bar *Dicentrarchus labrax* dans les systèmes de recirculation qui utilisent un aliment conventionnel (Bâbord) et un aliment modifié pour augmenter l'élimination de fèces (Tribord).

Circuit	Température (°C)	Salinité (‰)	Oxygène (mg l <sup>-1</sup> )	pH	Renouvellement du bassin (m <sup>3</sup> h <sup>-1</sup> )	Ratio fermeture (m <sup>3</sup> d'eau neuve Kg alim <sup>-1</sup> .)
Bâbord	21,33 <sup>ab</sup> (0,35)	25 <sup>b</sup> (2)	8,40 <sup>ab</sup> (1,29)	6,84 <sup>a</sup> (0,48)	3	1,02 <sup>a</sup> (0,56)
Tribord	21,73 <sup>b</sup> (0,71)	14 <sup>a</sup> (6)	7,63 <sup>a</sup> (1,19)	7,35 <sup>b</sup> (0,34)	3	1,22 <sup>a</sup> (0,86)
Témoin	20,9 <sup>a</sup> (1,1)	38 <sup>c</sup> (1)	8,4 <sup>b</sup> (0,9)	8,0 <sup>c</sup> (0,1)	3	Ouvert

où: a<b<c, pour les comparaisons multiples (p<0,05) après le test ANOVA (p<0,05) ou le test student pour le ratio de fermeture (p>0,9).

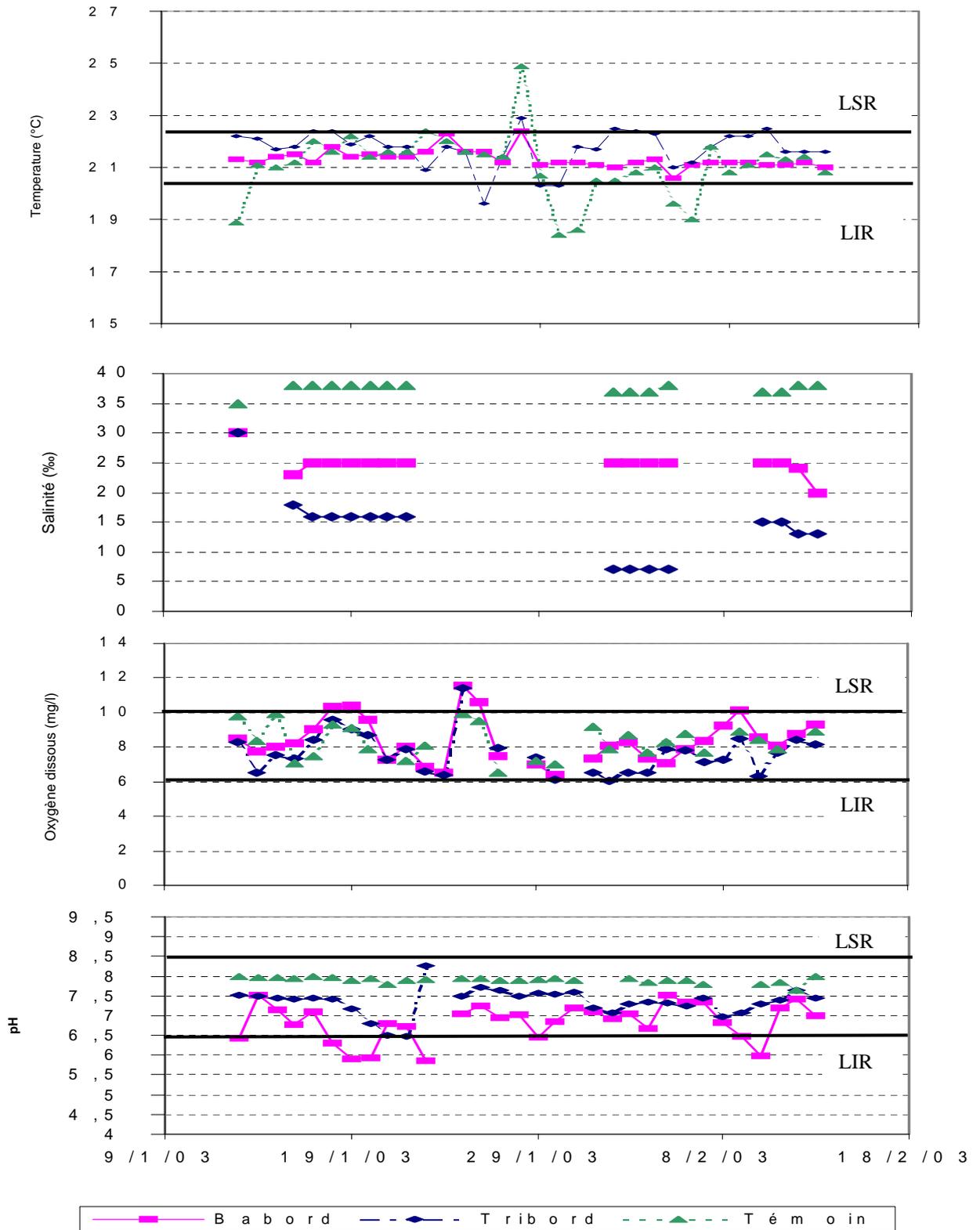


Figure 18. Evolution des conditions d'élevage pendant la période de comparaison entre trois systèmes d'élevage utilisant un aliment conventionnel (système Bâbord et 1 bassin témoin) et un aliment modifié pour améliorer la collecte des fèces (système Tribord et 1 bassin témoin). La ligne continue représente les limites inférieures et supérieures de régulation (LIR et LSR respectivement).

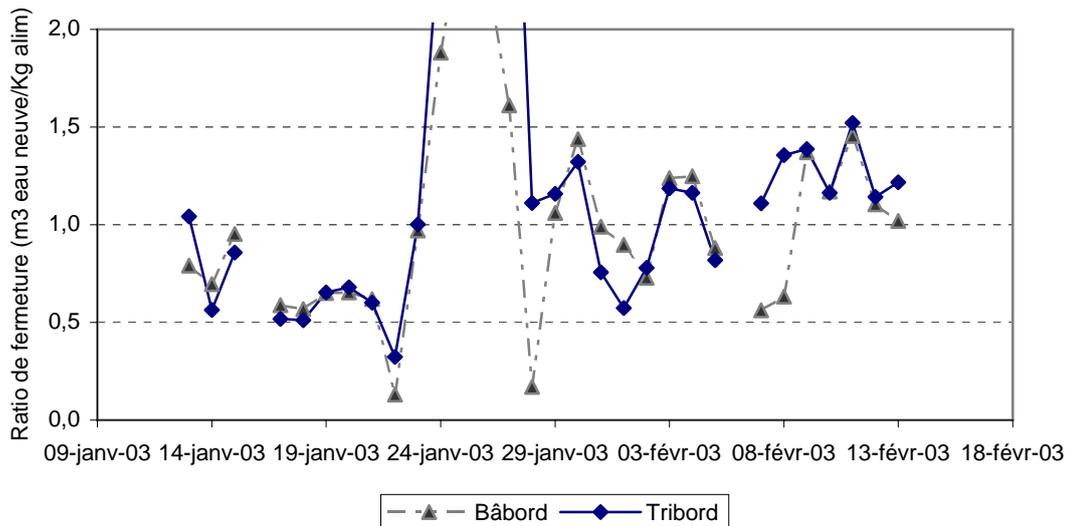


Figure 19. Evolution des taux de fermeture des circuits expérimentaux qui utilisaient un aliment conventionnel (Bâbord) et un aliment modifié pour augmenter la collecte des fèces (Tribord).

### 6.2.2. Biométries

La figure 20 montre l'évolution des poids moyens du poisson dans les circuits expérimentaux. Une faible croissance a été observée, par rapport au modèle théorique (Tanguy et Le Grel, 1989), pendant la première période d'acclimatation (12/10/02 au 27/11/02). Pendant la deuxième période d'acclimatation (27/11/02 au 02/01/03), tous les bassins ont exprimé un gain de poids égal ( $p > 0,5$ ) au modèle théorique pour l'élevage du bar en cage (Tanguy et Le Grel, 1989). Pendant la période d'expérimentation, la croissance des poissons dans le système ouvert a été égale à celle prévue par le modèle sans exprimer de différences selon le type d'aliment utilisé (AM ou AC). En revanche, la performance des poissons en circuit fermé s'est vue diminuée ( $p < 0,05$ ) dans la même période pour les deux types d'aliment. Dans les circuits recirculés, une légère différence, non significative ( $p > 0,05$ ), a été observée entre la croissance de poissons selon le type d'aliment, les poissons nourris avec l'aliment AM ont exprimé les plus mauvaises performances de croissance (Tableau 19).

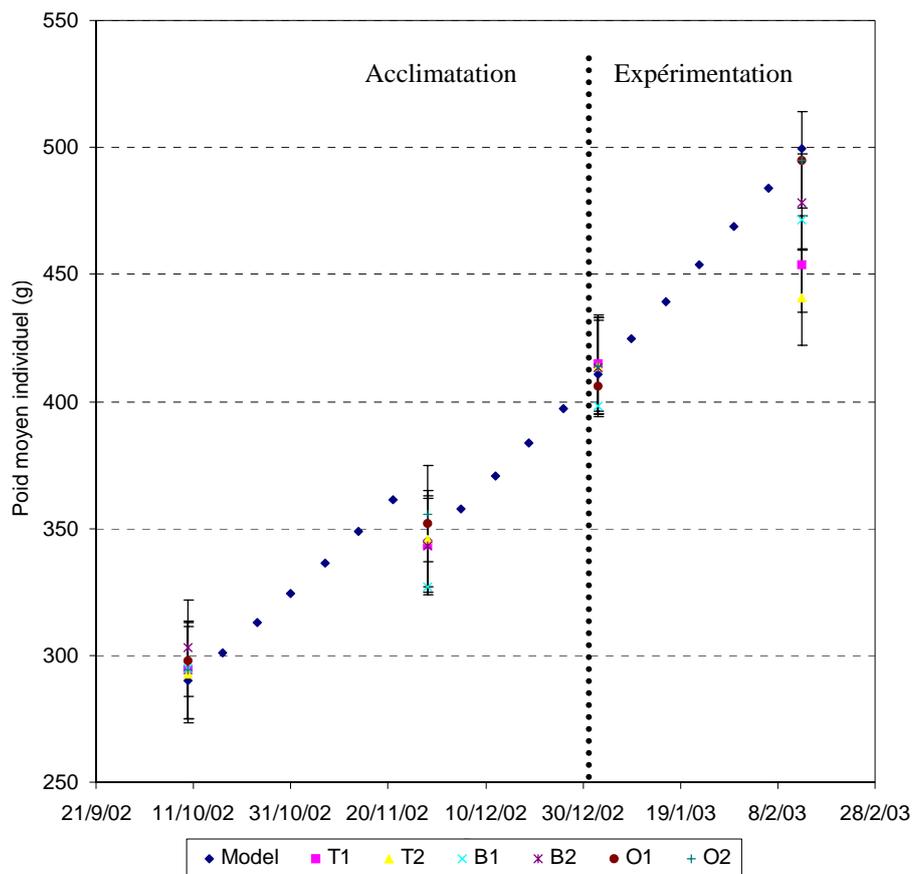


Figure 20. Courbe de croissance comparative entre le modèle publié par Tanguy et Le Grel (1989) et les bassins des systèmes expérimentaux nourris avec l'aliment AC (B1,B2 et O2) et avec l'aliment AM (T1, T2 et O1). Système recirculé : B=Babord, T=Tribord et circuit ouvert : O=Témoin

Tableau 19. Performances zootechniques des bassins d'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*) pendant la période d'acclimatation et d'expérimentation utilisant un aliment conventionnel (Bâbord) et un aliment modifié pour augmenter l'élimination de fèces (Tribord).

ACCLIMATATION		12/10 au 27/11						27/11 au 02/01					
		Bâbord		Tribord		Témoin		Bâbord		Tribord		Témoin	
		B1	B2	T1	T2	O1	O2	B1	B2	T1	T2	O1	O2
Aliment		Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra	AM	AC
Poids moyen initial (g)		295,0	302,9	294,0	293,0	297,8	294,2	327,0	343,0	344,0	346,0	352,0	356,0
Ingéré en Kg		14,1	6,9	11,1	14,1	10,4	10,6	14,3	12,9	12,0	14,5	13,4	11,9
Biomasse (Kg)		41,3	42,4	41,2	41,0	41,3	40,9	45,1	48,1	47,8	48,4	48,6	48,3
Rectification de la biomasse initiale		40,6	41,8	40,9	41,0	40,1	40,1	44,1	48,1	46,4	47,7	46,7	44,7
Biomasse finale		45,1	48,0	47,8	48,4	48,6	48,3	54,1	57,8	56,4	57,6	54,4	51,4
IC		3,1	1,1	1,6	1,9	1,2	1,3	1,4	1,3	1,2	1,5	1,7	1,8
Poids moyen final (g)		327,0	343,0	344,0	346,0	352,0	356,0	398,0	413,0	415,0	415,0	406,0	415,0

EXPERIMENTATION		02/01 au 14/02					
		Bâbord		Tribord		Témoin	
		B1	B2	T1	T2	O1	O2
Aliment		AC	AC	AM	AM	AM	AC
Poids moyen initial (g)		398,0 <sup>a</sup>	413,0 <sup>a</sup>	415,0 <sup>a</sup>	415,0 <sup>a</sup>	406,0 <sup>a</sup>	415,0 <sup>a</sup>
Ingéré en Kg		17,9	18,2	16,7	15,5	19,3	18,4
Biomasse (Kg)		54,1	57,8	56,4	57,6	54,4	51,4
Rectification de la biomasse initiale		52,4	56,1	52,9	55,3	51,0	47,4
Biomasse finale		59,9	62,2	58,1	59,1	61,4	58,9
IC		2,4	3,0	3,2	4,1	1,9	1,6
Poids moyen final (g)		471,5 <sup>abc</sup>	478,3 <sup>abc</sup>	453,9 <sup>ab</sup>	441,0 <sup>a</sup>	494,9 <sup>c</sup>	495,1 <sup>b<sup>c</sup></sup>

où: a<b<c, pour les comparaisons multiples (p<0,05) d'après le test ANOVA (p<0,001)

### 6.2.3. Matière dissoute

Un gradient de haute à faible concentration en matière dissoute a été identifié dans la boucle de recirculation à partir des bassins. Les points à faible concentration étaient la sortie du filtre biologique et l'entrée du bassin d'élevage. Un point de mélange a été identifié et correspond à l'entrée du filtre biologique, alors que les points à haute concentration étaient la sortie du bassin, la sortie des pièges à particules et la sortie du filtre à tambour.

Les points du circuit ont été rassemblés en fonction de ce gradient de concentration, où des différences significatives ( $p < 0,001$ ) entre les trois groupes ont été confirmées pour toutes les variables, sauf pour les nitrates ( $p > 0,4$ ).

Les valeurs de concentrations en azote ammoniacal et en azote uréique sont respectivement présentées dans les figures 21 et 22. On peut constater que: (1) La production d'azote ammoniacal est comparable ( $p > 0,9$ ) dans les deux circuits au cours de temps (Zone de haute concentration), sauf pour le premier prélèvement (16/01/03) où on a eu un problème de dilution sur Bâbord (AC), alors que (2) la production d'azote uréique est plus importante dans le système utilisant l'AM ( $p < 0,001$ ).

La concentration en azote ammoniacal et uréique à la sortie des bassins du système ouvert n'est pas significativement différente pour les deux types d'aliment. Pendant les expériences, les concentrations moyennes de ces deux variables ont été d'environ 60% plus faibles qu'en sortie des bassins des systèmes recirculés ( $p < 0,001$ ). Par ailleurs, on n'a pas observé de différences sur la performance de la filtration biologique.

L'azote inorganique total (NIT) est significativement différent entre les deux circuits ( $p < 0,001$ ) pendant toute la période d'expérimentation. La figure 23 présente son évolution et met en évidence une accumulation de nitrates dans le circuit Bâbord supérieure à celle du circuit Tribord.

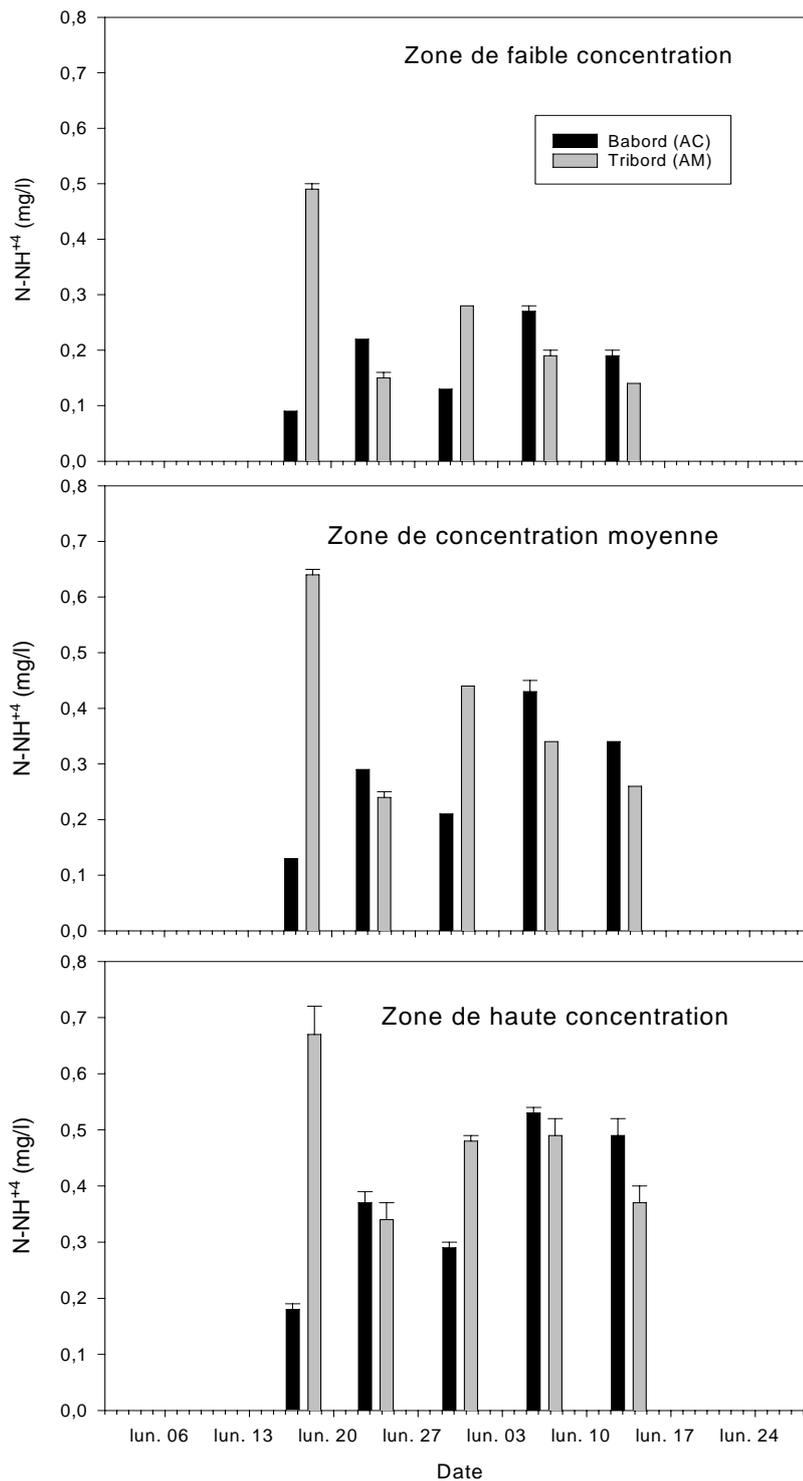


Figure 21. Evolution de la concentration d'ammonium ( $N-NH_4^+$ ) en sortie des bassins d'élevage (forte concentration), dans la boucle de traitement (concentration moyenne) et à l'arrivée des bassins (faible concentration) des systèmes expérimentaux alimentés avec l'aliment conventionnel (Bâbord) et l'aliment modifié (Tribord). Moyenne  $\pm$  écart type.

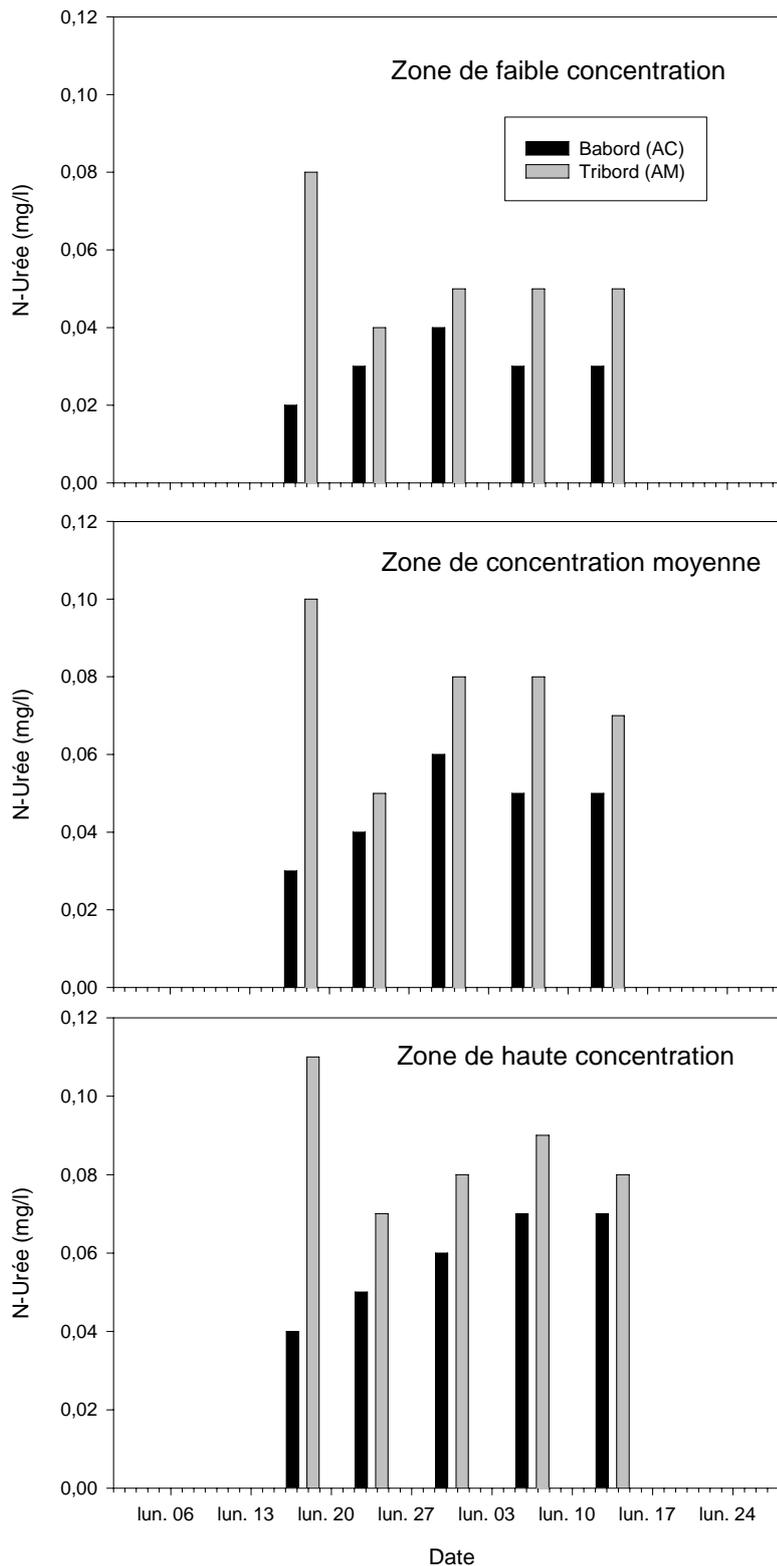


Figure 22. Evolution de la concentration d'urée (N-Urée) près des bassin d'élevage (forte concentration), dans la boucle de traitement (concentration moyenne) et à l'arrivée des bassins (faible concentration) des systèmes expérimentaux alimentés avec l'aliment conventionnel (Bâbord) et l'aliment modifié (Tribord). Moyenne  $\pm$  écart type.

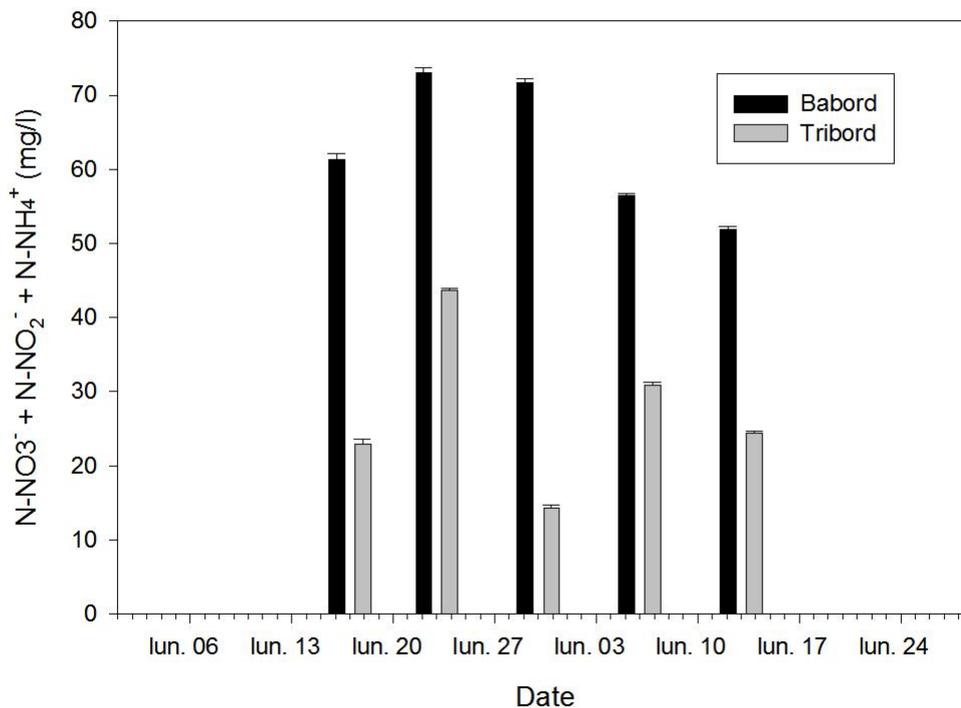


Figure 23. Evolution de la concentration de l'azote inorganique total ( $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^- + \text{N-NH}_4^+$ ) dans les systèmes expérimentaux alimentés avec un aliment conventionnel (Bâbord) et un aliment modifié (Tribord). Moyenne  $\pm$  écart type.

#### 6.2.4. Matière particulaire

La concentration en matière particulaire totale (MES) est présentée dans la figure 24. Comme pour la matière dissoute, les points de prélèvement ont été groupés en fonction de la teneur en MES. Les points de faible concentration qui ont été identifiés sont les suivants: la sortie du filtre à tambour, l'entrée de bassin, ainsi que l'entrée et la sortie du filtre biologique. Les points situés en sortie de bassins et en sortie de piège à particules ont les plus hautes concentrations de MES.

Concernant les concentrations en MES, il est important de noter que pour tous les jours de prélèvement, la concentration en MES de la zone de haute concentration du circuit Tribord est statistiquement égale ( $p > 0,4$ ) ou inférieure ( $p < 0,05$ ) à la concentration en MES de la zone de faible concentration du circuit Babord. En revanche, la concentration en MES de la zone de basse concentration du circuit Tribord était toujours inférieure ( $p < 0,05$ ) aux autres points des deux circuits (fig. 24).

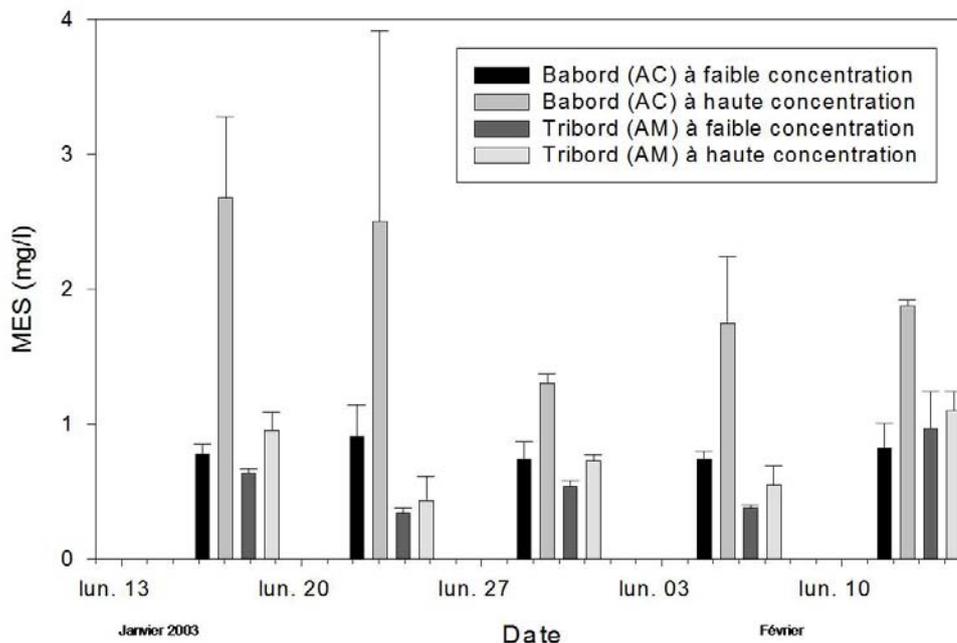


Figure 24. Evolution de la concentration de la matière totale en suspension (MES) en sortie des bassin d'élevage (forte concentration) et dans la boucle de traitement (faible concentration) des systèmes expérimentaux alimentés avec l'aliment conventionnel (Bâbord) et l'aliment modifié (Tribord). Moyenne  $\pm$  écart type

Les collectes journalières en matière sèche par rapport à l'aliment distribué dans le bassin, sont présentées dans la figure 25. Suite à une analyse de variance à deux facteurs (type d'aliment et type de circuit) sur l'élimination de matière particulaire par les pièges à particules, il est possible de constater au moins deux fois plus de matériel collecté ( $p < 0,001$ ) en utilisant l'aliment AM, par rapport à l'aliment AC (sans soustraire 30g par kg d'aliment des additifs).

La comparaison des poids de fèces collectées par rapport au type d'élevage montre qu'il n'y a pas de différence entre le système recirculé et le système ouvert pour l'aliment AC. En revanche, la matière piégée dans le système ouvert est deux fois plus importante ( $p < 0,05$ ) que dans le système recirculé quand on a utilisé l'aliment AM

Concernant la quantité de matière particulaire piégée par rapport à celle qui sort des pièges à particules, les résultats décrits précédemment permettent de constater que le schéma est inverse, sans refléter les mêmes conclusions statistiques selon le type de circuit et le type d'aliment utilisé (fig. 26).

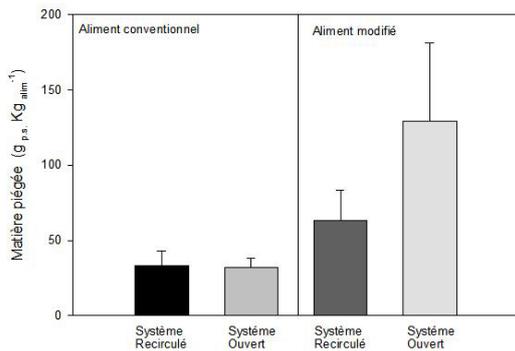


Figure 25. Collecte de matière particulaire en fonction du type d'aliment utilisé (conventionnel ou modifié) et en fonction du type de système d'élevage (recirculé ou ouvert). Moyenne journalière par kg d'aliment distribué  $\pm$  écart type.

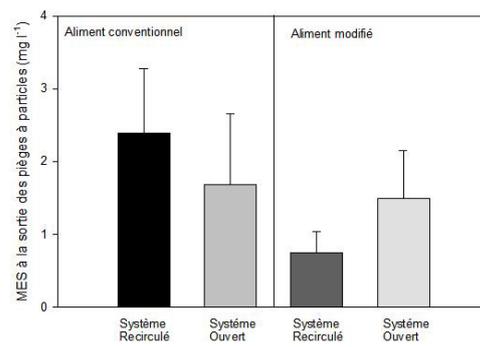


Figure 26. Concentration (moyenne  $\pm$  écart type) de matière totale en suspension (MES) à la sortie des pièges à particules en fonction du type d'aliment utilisé (conventionnel ou modifié) et en fonction du type de système d'élevage (recirculé ou ouvert).

La concentration en MES étant supérieure à la sortie des bassins du circuit bâbord (AC), la filtration mécanique a été davantage sollicitée et par conséquent la quantité de matière particulaire éliminée était significativement plus importante ( $p < 0,001$ ), de l'ordre de 1,6 fois en moyenne (fig. 27).

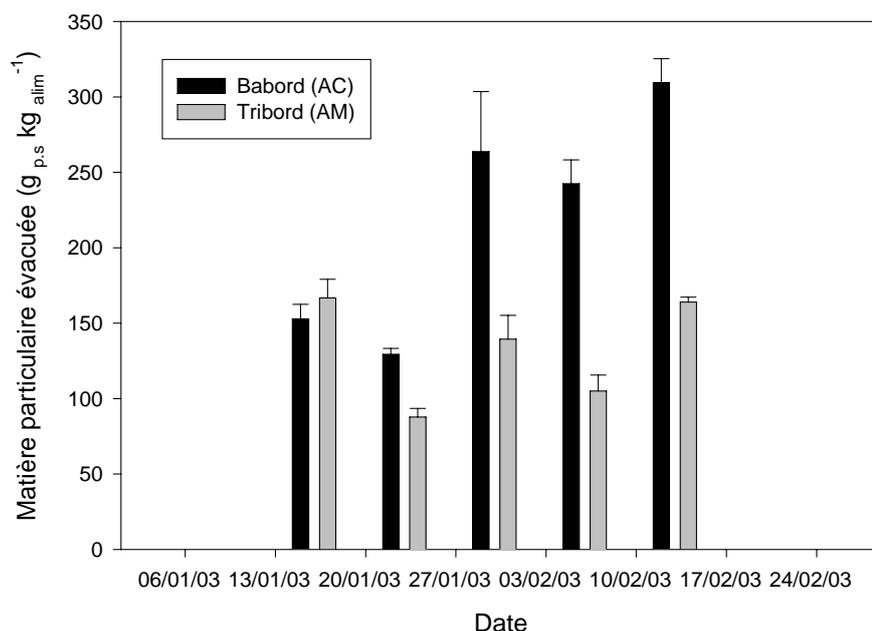


Figure 27. Evacuation de la matière particulaire par la filtration mécanique des systèmes recirculés alimentés avec un aliment conventionnel (Bâbord) et un aliment modifié (Tribord). Moyennes  $\pm$  écart type en g poids sec par kg d'aliment distribué.

## 6.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

### 6.3.1. Conditions environnementales

Même si certaines variables environnementales ont montré des différences statistiques significatives, les limites de régulation de ces variables n'ont pas été dépassées. D'après la figure 18, seule la salinité présentait des différences significatives entre les systèmes d'élevage. Cette différence de salinité était due au fonctionnement plus important du filtre mécanique à Tribord (lavé à l'eau douce du réseau).

Le taux de fermeture des circuits était fixé comme la variable du fonctionnement la plus importante, car elle détermine l'accumulation de déchets dans le circuit (Leonard, *et al.*, 2002). Sur la base de ces résultats, on a pu constater que, au plus tard 48 heures après une variation du taux de fermeture, les concentrations en matières dissoutes étaient stabilisées dans le système de recirculation. Cela nous a permis d'établir comme temps minimal de stabilisation du système 48h pour un taux de fermeture de 1 m<sup>3</sup> d'eau neuve par Kg d'aliment ingéré.

Le contrôle des conditions environnementales, notamment le taux de fermeture des circuits, a permis de comparer les performances biologiques des animaux en élevage, ainsi que le fonctionnement des systèmes d'élevage.

### 6.3.2. Biométries

La faible croissance des poissons, par rapport au modèle théorique (Tanguy et Le Grel, 1989), pendant la première période d'acclimatation (12/10/02 au 27/11/02) est expliquée par le temps d'adaptation des animaux au système d'alimentation. Les poissons ont été adaptés à une alimentation à la demande après avoir toujours été alimentés par distributeur à bande automatique. Pendant cette adaptation, la prise alimentaire a été temporairement réduite.

### 6.3.3. Matière dissoute

La présence de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en concentration moyenne égale entre les deux SR pendant la période d'expérimentation laisse supposer une utilisation comparable des protéines de l'aliment. Par

contre, les différences de production d'urée peuvent indiquer une assimilation incomplète des nutriments de l'aliment AM par les poissons.

En ce qui concerne les concentrations de NIT dans les circuits, le circuit Tribord avait une concentration inférieure ( $p < 0,05$ ) au modèle d'accumulation de NIT (fonction du taux de fermeture) publié par Leonard *et al.* (2002). En revanche, le circuit Bâbord, a suivi ce modèle ( $p > 0,1$ ). Ces résultats permettent d'établir l'hypothèse qu'une autre source d'azote est disponible dans le circuit Bâbord, qui pourrait provenir de la matière organique sous forme particulaire, car le modèle cité précédemment était construit en utilisant des aliments commerciaux.

#### 6.3.4. Matière particulaire

La concentration en MES est plus basse à la sortie du piège du circuit Tribord (fig. 26), et différente de celle du circuit Bâbord ( $p < 0,05$ ). Ainsi, même après un fonctionnement plus important de la filtration mécanique du circuit Bâbord, le débit des MES arrivant dans le bac tampon du circuit Bâbord (utilisant AC) est 3 fois plus important que celui obtenu en utilisant l'aliment AM. Cette matière particulaire pourrait être à l'origine de la plus forte concentration en azote inorganique trouvée dans ce circuit par rapport à celle de l'autre circuit utilisant l'aliment modifié. Une augmentation du simple au double de la collecte de matière particulaire se traduit donc par une diminution de 60% de la concentration en azote inorganique total, sans avoir d'effet sur la performance de la filtration biologique.

L'utilisation de l'aliment modifié permet de multiplier par trois le rendement de collecte des matière particulaire (poids sec) dans les pièges à particules des systèmes ouverts. En revanche, quand on l'utilise dans un système recyclé, la collecte n'est que 2 fois plus importante par rapport à l'aliment dit conventionnel (AC). L'effet du contrôle de la matière organique par l'utilisation d'additifs dans l'aliment est particulièrement sensible sur la concentration moyenne de l'azote inorganique total du circuit.

## **CHAPITRE 7. DESCRIPTION DU MODELE DE FONCTIONNEMENT DE LA MATIERE PARTICULAIRE DANS LES SYSTEMES DE RECIRCULATION POUR L'ELEVAGE DE POISSONS MARINS**

Les modèles qui décrivent le comportement des matières dissoutes et particulaires sont nécessaires afin d'estimer (1) la capacité d'épuration de l'eau par les éléments du système de recirculation et (2) la quantité d'effluents rejetés dans l'environnement. A l'heure actuelle, il n'existe pas de modèle publié sur l'évolution des matières particulaires en systèmes piscicoles recirculés et il y en a peu pour la matière dissoute en système recyclé (Pagand *et al.*, 2000). Les nouvelles recherches ont donc pour objectifs la modélisation et la conception de nouveaux systèmes de recirculation plus efficaces (Losordo *et al.*, 2000).

### **7.1. DÉFINITION DU PROBLÈME**

Le fonctionnement du système de recirculation peut être représenté, comme décrit au chapitre 1, par l'interaction de quatre modèles qui déterminent :

- 1) La production de biomasse de poissons (Modèle poisson)
- 2) Le modèle de génération et de transformation de métabolites dissous (Modèle de la matière dissoute)
- 3) Le modèle de génération et de transformation de matière particulaire (Modèle de matière particulaire)
- 4) Le modèle des processus bactériens de transformation (Modèle bactérien)

L'objectif de cette partie du travail était d'obtenir une description (modèle) de la génération et de la transformation de la matière particulaire à l'intérieur du système de recirculation. Les études précédentes (Chapitre 3, 4, 5 et 6), on permis de conclure que, pour les conditions d'élevage contrôlées (Tableau 9, Chapitre 4) et la qualité de l'aliment utilisée (Chapitre 2), le modèle de répartition de la matière particulaire dans le système de recirculation pour l'élevage du bar est déterminé par la production nette de solides du bassin d'élevage, par l'efficacité des dispositifs d'évacuation (pièges à particules et filtre mécanique), par le taux de «consommation» de particules dans la boucle de traitement, ainsi que par le taux de dilution du système. Ce dernier n'est pas inclus dans le modèle général présenté ci-après, qui est paramétré à partir des données acquises en condition de recirculation totale (sans dilution par renouvellement d'eau).

Le modèle a été conçu sur la base des interactions qui sont représentées dans la figure 28. Les solides produits par les poissons dépendent de la quantité d'aliment distribué et de la taille des poissons. L'élimination des solides est affectée par leurs propriétés rhéologiques qui varient en fonction de la taille de poissons. La « consommation » des solides par la boucle de traitement est d'environ, 10% sur la base du carbone y arrivant.

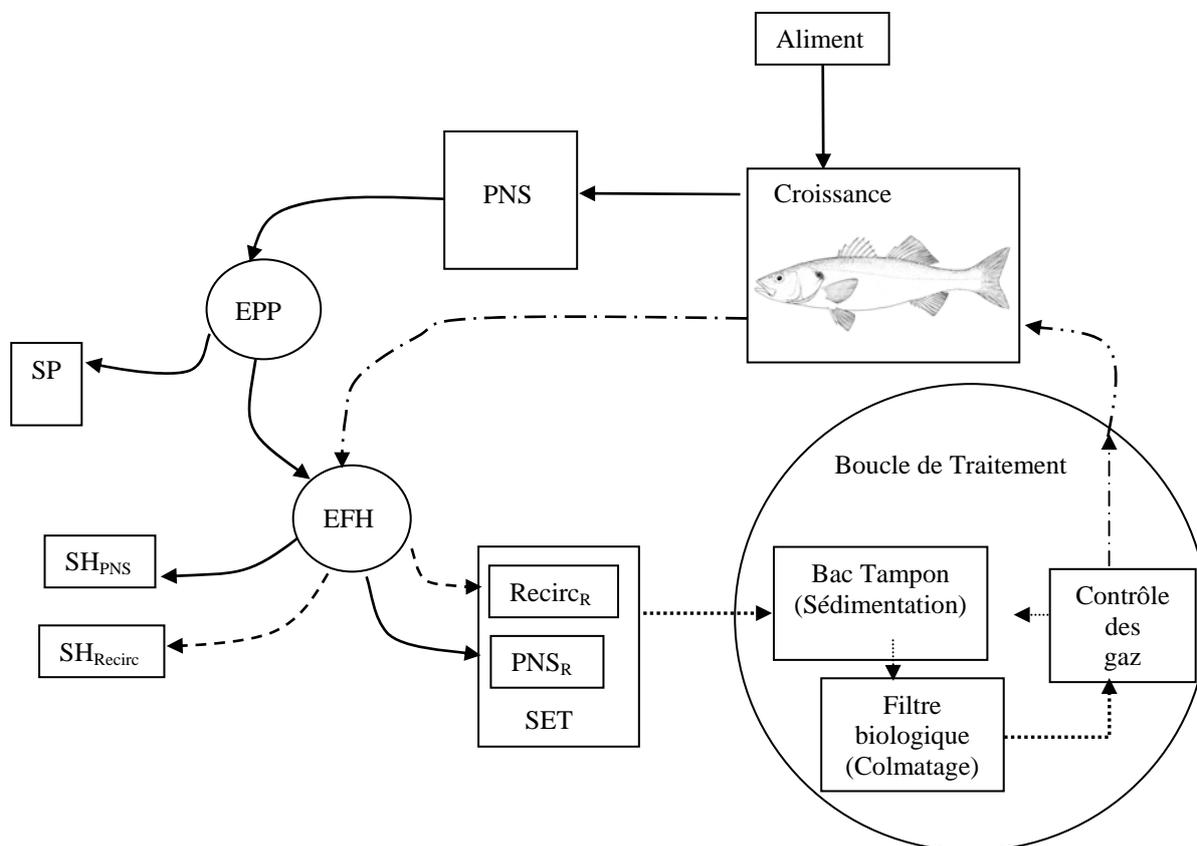


Figure 28. Modèle de fonctionnement de la matière particulaire dans le système de recirculation pour l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*). PNS=production nette de solides, EPP= efficacité des pièges à particules, SP = solides collectés dans les pièges à particules, EFH= efficacité du filtre mécanique HYDROTECH, SH<sub>PNS</sub> = fraction de la production nette de solides qui est évacuée par le filtre mécanique HIDROTECH, SH<sub>Recirc</sub> = fraction des solides recyclés qui sont évacués par le filtre mécanique HIDROTECH, Recirc<sub>R</sub> = reste des solides recyclés qui entrent à la boucle de traitement, PNS<sub>R</sub> = fraction de la production nette de solides qui entre à la boucle de traitement, SET= solides entrant à la boucle de traitement.

### 7.1.1. Variables d'état

Les variables d'état et les variables forçantes du modèle sont présentées dans le tableau 20. Les flux du modèle particulaire sont représentés par les flèches dans la figure 28. Les principaux processus modélisés sont: 1) la production de solides par le bassin, 2) l'évacuation des solides par les dispositifs de contrôle et 3) la concentration de solides dans la boucle de

traitement. Les expressions mathématiques qui permettent leur quantification sont définies dans le tableau 21.

Tableau 20. Variables d'état et variables forçantes du modèle de répartition de la matière particulaire dans le système de recirculation pour l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*).

Type et nombre de variables du modèle	Symbole	Unité
Variables d'état		
Poids moyen des poissons en élevage	Poids	g poisson <sup>-1</sup>
Nombre de poissons en élevage	Nb	poisson
Débit d'eau dans le bassin d'élevage	Q <sub>BE</sub>	m <sup>3</sup> h <sup>-1</sup>
Débit d'eau dans le piège à particules	Q <sub>PP</sub>	m <sup>3</sup> h <sup>-1</sup>
Taux d'alimentation journalier	TAJ	% biomasse
Variables forçantes		
Facteur de filtration d'effluents des pièges	κ	

## 7.2. CONSTRUCTION DU MODÈLE

### 7.2.1. Sous-modèle poisson

La production nette de solides peut être définie comme une fonction de l'évolution de la biomasse dans le bassin au cours de l'élevage. L'évolution des poids moyen des poissons en élevage peut être calculée à partir du modèle proposé par Tanguy et Le Grel, (1989) (Equation 1).

$$\text{Poids}_{(j+7)} = \text{Poids}_j (\text{TCJ}/100+1)^7 \quad (1)$$

Où :

$$\text{TCJ} = \alpha \text{ Poids}_j^{-0,34} e^{0,12t}$$

Poids = poids du poisson en g

j = jour

T = température hebdomadaire en °C

α = 0,2 pour 10°C < T < 14,5°C et T > 26°C

ou

α = 0,3 pour 14,5°C ≤ T ≤ 26°C

Tableau 21. Modèles de flux de la matière particulaire dans le système de recirculation pour l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*).

Flux	Symboles	Expressions	Unité
Aliment distribué journallement pour l'élevage	Aliment <sub>J</sub>	Biomasse * (TAJ/100)	g j <sup>-1</sup>
Croissance des poissons	Poids <sub>(j+7)</sub>	Poids <sub>j</sub> [(0,3 * Poids <sub>j</sub> <sup>-0,34</sup> * e <sup>0,12 * 22/100</sup> )+1] <sup>7</sup>	g poisson <sup>-1</sup>
Production nette de solides	PNS	56 - ( (600 - Poids) * 2,81 * 10 <sup>-2</sup> )	g-C kg <sub>Aliment</sub> <sup>-1</sup>
Solides piégés au pièges	SP	PNS * 0,5	g-C kg <sub>Aliment</sub> <sup>-1</sup>
Solides évacués par l'Hydrotech de la PNS	SH <sub>PNS</sub>	PNS * 0,3 * [1 - (Q <sub>PP</sub> /Q <sub>BE</sub> )]	g-C kg <sub>Aliment</sub> <sup>-1</sup>
Reste de la PNS entrant à la boucle de traitement	PNS <sub>R</sub>	PNS - (SP + SH <sub>PNS</sub> )	g-C kg <sub>Aliment</sub> <sup>-1</sup>
Solides entrant dans la boucle de traitement	SET	2,5 * PNS <sub>R</sub>	g-C kg <sub>Aliment</sub> <sup>-1</sup>
Solides en suspension dans la boucle de traitement	SS	(0,9 * SET * Aliment <sub>J</sub> ) / ( Q <sub>BE</sub> *24) *1000	mg-C m <sup>-3</sup>

En condition de recirculation, les variations de température peuvent être contrôlées autour de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  (température adéquate d'après Blancheton, 2000), donc le modèle se réduit à

$$\text{Poids}_{(j+7)} = \text{Poids}_j [(0,3 * \text{Poids}_j^{-0,34} e^{0,12 * 22})/100+1]^7 \quad (2)$$

L'évolution du poids moyen ainsi calculé doit s'adapter aux différents besoins énergétiques pour la croissance et l'entretien des tissus, tout au long de l'élevage où le taux de nourrissage décroît par rapport au poids moyen. Les tables de nourrissage proposées par le fabricant de l'aliment utilisé dans cette étude suggèrent un taux d'alimentation de 1,5% de la biomasse pour des poissons entre 50 et 150 g, de 1,0% pour de poissons entre 150-400 g et de 0,8% pour de poissons au-dessus de 400 g. En utilisant l'équation (2) on obtient un temps de 49 semaines pour passer de 50 à 600 g de poids moyen. Si on met sur un graphique le taux d'alimentation journalier (TAJ) correspondant à l'évolution de poids calculé par l'équation (2), on obtient la régression linéaire des taux échelonnés (équation 3).

$$TAJ = -0,0179 t + 1,5758 \quad (3)$$

$$r=0,91$$

$$n=49$$

Où t= temps en semaines

L'indice de conversion ou IC est un des critères d'appréciation des résultats techniques d'une exploitation aquacole. En utilisant l'équation (3) et le gain en poids hebdomadaire respectif calculé à partir du modèle (2), on obtient ainsi un IC moyen de  $1,5 \pm 0,1$  (kg d'aliment pour produire 1 kg de biomasse), comme montré dans la Figure 29.

Si l'on compare l'évolution des poids calculés par (2) et leurs TAJ correspondants (obtenus par (3)) on obtient la régression suivante :

$$TAJ = 1,64 \cdot e^{(-1,6 \cdot 10^{-3} \cdot \text{Poids})} \quad (4)$$

$$r=0,99$$

$$n=49$$

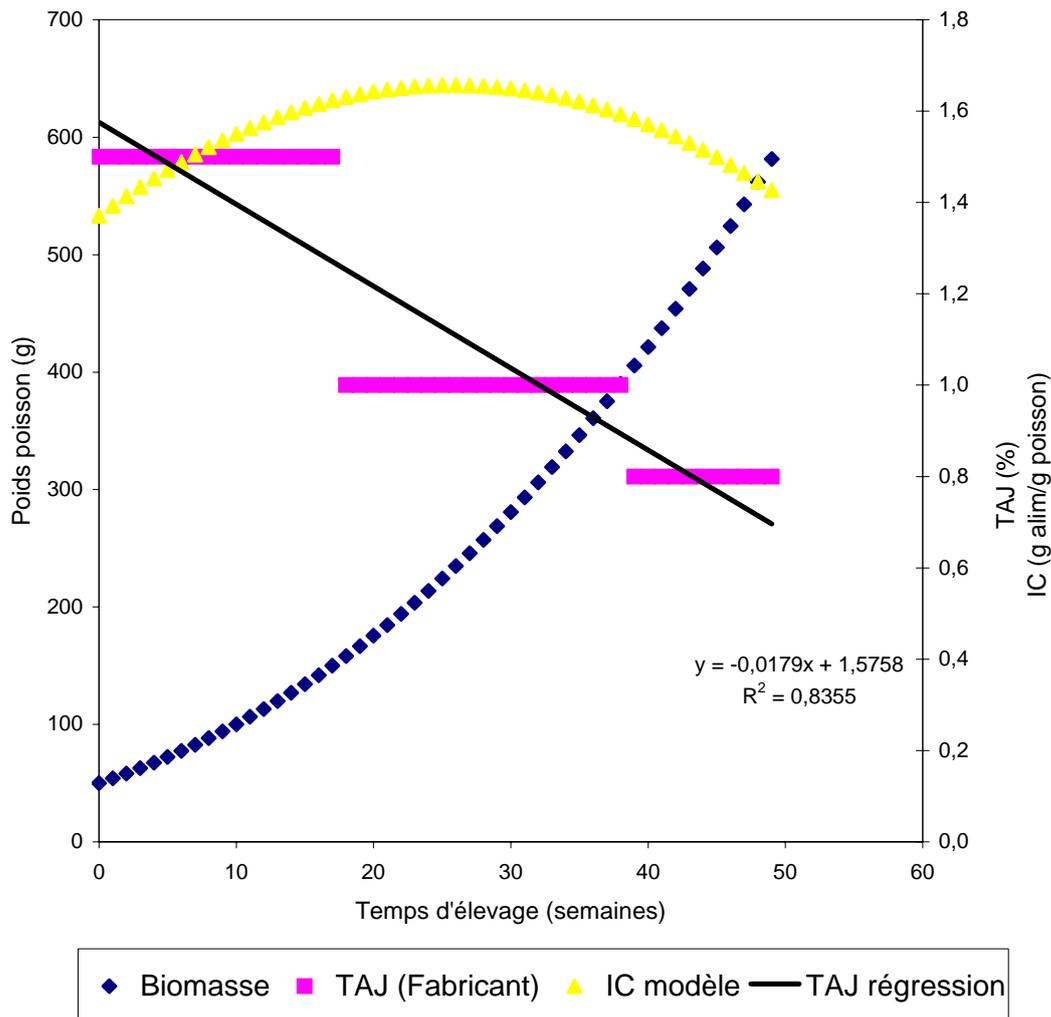


Figure 29. Courbe de croissance du bar (*Dicentrarchus labrax*) d'après le modèle proposé par Tanguy et Le Grel, (1989), taux d'alimentation journalier proposé par le fabricant d'aliment (TAJ Fabricant) et modèle linéaire résultant du TAJ-fabricant *v.s.* temps d'élevage (TAJ régression), à partir du quel une estimation de l'indice de conversion peut être calculée (IC modèle).

L'équation (5) permet de calculer la quantité d'aliment journalier nécessaire pour maintenir un IC de  $1,5 \pm 0,1$  pour des bars entre 50 et 600g à température constante ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), à partir de la connaissance de la biomasse et un poids moyen des poissons en élevage.

$$\text{Aliment}_j = \text{Biomasse} * (\text{TAJ}/100) \quad (5)$$

où

$$\text{Biomasse} = \text{Poids} * \text{Nb}/1000 \quad (6)$$

L'aliment est exprimé en kg, la biomasse en kg, Poids = poids moyen des poissons en élevage en g et Nb = nombre de poissons dans le bassin(s) du circuit.

### 7.2.2. Sous-modèle de production nette de solides (PNS)

La production nette de solides (PNS) est affectée par la taille des poissons (Chapitre 4). Si on considère que la PNS varie entre 40,8 et 56,0 g de C par kg aliment distribué pour des poissons d'un poids moyen entre 60 à 600g, le calcul de PNS peut se faire en utilisant l'interpolation représentée par l'équation (7).

$$PNS = 56 - ((600 - \text{Poids}) * 2,81 * 10^{-2}) \quad (7)$$

Où la PNS est exprimée en g de C particulaire produit par kg d'aliment distribué et le poids est le poids moyen des poissons en g.

### 7.2.3. Sous-modèle d'évacuation des solides (SE)

L'élimination des solides est déterminée par l'efficacité des pièges (EPP) et par l'efficacité du filtre mécanique HYDROTECH (EFH). Celles-ci sont dépendantes des caractéristiques rhéologiques des fèces qui ont été testées au cours de l'expérimentation décrite au chapitre 6. Un modèle simplifié pour calculer la quantité de matière évacuée par le système de recirculation est présenté ci-dessous:

$$SP = PNS * 0,5 \quad (8)$$

$$SH_{PNS} = PNS * 0,3 * \left[ 1 - \frac{Q_{PP}}{Q_{BE}} \right]^{\kappa} \quad (9)$$

$\kappa = 1$  quand l'effluent des pièges n'est pas filtré

ou

$\kappa = 0$  quand l'effluent des pièges est filtré

$$SE_{PNS} = SP + SH_{PNS} \quad (10)$$

Où SP et SH sont respectivement les solides piégés dans le piège à particules et évacués par le filtre HYDROTECH (exprimés en g de C particulaire par kg d'aliment distribué).

$Q_{PP}$  et  $Q_{BE}$  sont les débits respectifs des pièges à particules et du bassin d'élevage en  $m^3h^{-1}$

SE = Solides évacués en g de C particulaire par kg d'aliment distribué.

#### 7.2.4. Sous-modèle de « consommation » par la boucle de traitement

Le moteur de l'activité autotrophe dans la boucle de traitement est la disponibilité en nutriments dissous (ammonium), alors que celui de l'activité hétérotrophe est la disponibilité de matière organique, principalement sous forme particulaire, qui sert en même temps de substrat et de source d'énergie.

La quantité de carbone particulaire rémanente de la PNS ( $PNS_R$ ), peut être calculée à partir de l'équation (11). D'après nos expériences, cette quantité de carbone représente environ 40% du carbone particulaire entrant à la boucle de traitement (solides à l'entrée de la boucle de traitement = SET), donc celle-ci peut être calculée par l'équation (12). Finalement, à partir des résultats présentés au chapitre 4, environ 10% de cette matière organique sont transformées dans la boucle et constituent ainsi une matière « réfractaire » qui s'accumule principalement dans le filtre biologique et le bac tampon. D'après le bilan de masse qui est présenté dans le chapitre 4, une estimation de la quantité de solides en suspension (SS) présents dans la boucle peut être calculée en utilisant l'équation (13).

$$PNS_R = PNS - SE_{PNS} \quad (11)$$

$$SET = 2,5 * PNS_R \quad (12)$$

$$SS = (0,9 * SET * Aliment_j) / (Q_{BE} * 24) * 1000 \quad (13)$$

### 7.3. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les modèles aident les scientifiques à la conceptualisation, et à l'analyse de phénomènes complexes (Hall et Day, 1977). Les bases du modèle proposé ici peuvent être couplées avec les modèles en construction pour la matière dissoute, la biomasse bactérienne et notamment le modèle de dilution, afin d'analyser par voie de simulation les effets des interactions possibles.

#### 7.3.1. Conception du modèle.

Dans le cas de la matière particulaire, la modification du débit circulant dans le système d'élevage permet de contrôler l'accumulation et l'évacuation de la matière particulaire produite par les poissons (chapitre 4). La qualité de ce type de matière est affectée aussi bien

par le régime hydraulique que par les conditions d'élevage, notamment le taux de nourrissage et la qualité des aliments (chapitre 6).

Ces facteurs ont cependant été maintenus constants pour la conceptualisation et la construction du modèle présenté dans ce chapitre. Pour le débit circulant, on a considéré le débit le plus fort des expériences décrites, soit un débit de  $2,75 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  par bassin d'élevage et un débit de  $8,50 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  pour la boucle de traitement (chapitre 4).

L'absence d'aliment non consommé est une considération très importante pour l'application du modèle proposé. Le système d'auto-alimentation permet de réduire au minimum la présence d'aliment non consommé dans les effluents du bassin d'élevage (Covès *et al* 1998). Bien que dans notre étude la matière particulaire issue du bassin d'élevage fut composée jusqu'à 20% d'aliment ou traces d'aliment (Chapitre 3), la quantité d'aliment non consommé était d'environ 2% de l'aliment distribué, ce qui était donc négligeable.

### 7.3.2. Evacuation de solides

Le débit détermine la proportion de matière particulaire qui passe par les pièges et sa vitesse de passage. La densité des particules détermine la vitesse de sédimentation selon la loi de Stokes décrite au chapitre 1 (Patterson *et al.*, 2003). Les interactions entre ces deux phénomènes peuvent être utilisées pour ajouter leurs facteurs correspondants au sous-modèle d'évacuation des solides après une étude particulière. Cependant dans notre cas, pour la gamme de débits utilisés et pour le type des particules étudiées, on considère que le sous-modèle proposé est valable pour un élevage du bar dans les conditions décrites (chapitre 4), mais il peut être calibré pour d'autres conditions d'élevage (fraction de débit passant par les pièges, vitesse de passage dans le pièges et densité des particules).

Selon Bergheim *et al.*(1998), la charge en particules pourrait affecter l'efficacité des pièges à particules (EPP) suivant un modèle logarithmique ( $EPP = a + b * \text{Ln}(\text{PNS})$ ). Cependant, pour les charges en solides observées dans nos expériences à l'entrée des pièges, le facteur le plus important qui détermine l'EPP est la qualité des particules, modifiée dans notre étude par la taille de poissons (fig 14, Chapitre 4). C'est la raison pour laquelle le modèle suggéré par Bergheim *et al.*(op cit), n'a pas été inclus dans notre modèle. Néanmoins, nous conseillons une correction utilisant le modèle précédent, quand une variabilité de la charge en matière

entrant dans les pièges est attendue, suite à une augmentation de la quantité d'aliment distribuée dans les bassins d'élevage.

Les évacuations de matière particulaire par la filtration mécanique dépendent du facteur de filtration des pièges ( $\kappa$ ). Ce facteur est établi pour une configuration physique du système de recirculation incluant ou non une filtration mécanique de l'eau sortant des pièges à particules. Le modèle suggéré considère donc la possibilité d'une filtration des effluents des pièges à particules, qui augmenterait la quantité des solides évacués par le filtre mécanique.

Par ailleurs, Cho et Bureau (2001) suggèrent que le coefficient de digestibilité apparente (CDA) des aliments puisse être le facteur clé qui détermine la production de solides par les installations aquacoles. Cependant, on a démontré au cours de chapitre 4 que le carbone organique particulaire est la variable la plus représentative des facteurs qui pourraient signifier un risque en raison, soit de son accumulation dans le circuit, soit de son rejet dans le milieu naturel. De plus, le CDA pourrait varier en fonction de la taille de poissons pour le même type d'aliment, en limitant son application à la gamme de tailles pour laquelle le CDA a été estimé (chapitre 4).

### *7.3.3. Transformations dans la boucle de traitement*

Le calcul de la concentration en solides en suspension, sur la base du carbone, a été inclus comme une des sorties principales du modèle, car elle sera une variable d'entrée pour un modèle couplé du taux de fermeture et de la production de matière particulaire par le circuit. Ce modèle couplé n'a pas été développé dans cette étude car certains paramètres d'interaction entre les modèles de fonctionnement bactérien, matière dissoute et matière particulaire sont nécessaires et ils n'ont pas encore été acquis.

Dans le chapitre 3 nous avons démontré que les particules qui circulent dans la boucle de traitement sont composées à 80% de biomasse bactérienne. Ceci pourrait suggérer une production nette de matière particulaire par la boucle de traitement. Cependant, le chapitre 4 met en évidence une «consommation» du carbone particulaire dans la boucle de traitement par rapport au carbone particulaire entrant. La «consommation» observée est expliquée d'une part par la rétention de particules dans le filtre biologique (chapitre 5) et d'autre part par une sédimentation au niveau du bac tampon. L'ensemble de ces phénomènes conduit à

l'hypothèse qu'une activité biologique dégrade en permanence la matière issue du bassin d'élevage et la remplace en partie par d'autres particules, résultat de cette activité.

Une modélisation complète des transformations de la matière particulaire dans la boucle de traitement nécessiterait une étude plus fine au niveau des particules en suspension et du biofilm du filtre biologique. Cette étude devrait se baser sur la recherche de : 1) le taux de recyclage de la matière particulaire par la biomasse bactérienne fixée et circulante, 2) le taux de dégradation de la matière particulaire sous l'action d'agents physiques (fragmentation, solubilisation) chimiques (oxydation) ou biologiques (respiration) et 3) le taux de production de particules par l'action biologique (biomasse bactérienne) et par des phénomènes physico-chimiques (floculation, coagulation, agglutination) à partir de la matière dissoute.



## **CHAPITRE 8. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

L'objectif de la première partie de cette étude était de connaître l'origine et le devenir de la matière particulaire dans les systèmes de recirculation, en utilisant d'une part l'analyse des isotopes naturels ( $^{13}\text{C}$  et  $^{15}\text{N}$ ) et d'autre part l'analyse du carbone et de l'azote élémentaires (CHN) sur la matière particulaire. La deuxième partie nous a permis de valider certaines hypothèses qui ont été émises à partir de cette connaissance, pour d'une part mieux comprendre les processus bio-géochimiques intervenant dans la boucle de traitement et d'autre part aboutir au modèle de fonctionnement présenté dans le chapitre précédent.

### **8.1. ORIGINE DE LA MATIÈRE PARTICULAIRE DANS UN SYSTÈME DE RECIRCULATION POUR LES POISSONS MARINS**

La comparaison des signatures isotopiques de  $\delta^{13}\text{C}$  et de  $\delta^{15}\text{N}$  a permis d'identifier l'aliment, les fèces et le biofilm comme les sources principales qui constituent la matière particulaire dans un système de recirculation (SR). Les particules collectées dans les pièges, les particules retenues par le filtre mécanique et celles qui restent en suspension présentent des caractéristiques rhéologiques et des signatures isotopiques caractéristiques. Cette différenciation permet d'utiliser leurs signatures isotopiques dans des modèles de mélange, pour calculer la contribution relative des sources identifiées.

Les signatures isotopiques de la matière particulaire aux différents points du circuit indiquent que la contribution des trois sources (l'aliment, les fèces et le biofilm) dépendent : (1) du métabolisme du poisson, (2) des dispositifs de traitement d'eau et (3) de l'activité bactérienne dans la boucle de traitement (notamment dans le filtre biologique). En conséquence, on peut établir que la matière organique particulaire est constituée d'un mélange complexe de matériel détritique et vivant issu de l'aliment, des fèces de poisson et de la matière organique recyclée par l'activité bactérienne tout au long de la boucle de traitement.

### **8.2. DEVENIR ET CONTRÔLE DE LA MATIÈRE PARTICULAIRE DANS UN SYSTÈME DE RECIRCULATION POUR LES POISSONS MARINS**

La production totale de carbone par le bassin d'élevage, en termes de biomasse de poissons +  $\text{CO}_2$  respiré + carbone dissous + carbone particulaire, n'est pas équivalente aux apports en carbone par l'alimentation. Cela signifie qu'une partie des déchets carbonatés sous forme particulaire est accumulée dans le SR, principalement dans les zones de basse énergie

cinétique où elle est dégradée. Par ailleurs, cette dégradation peut également avoir lieu sur la matière en suspension elle-même. L'importance relative de ces processus est donc déterminée par le régime hydraulique et la taille des poissons élevés.

Dans les bassins d'élevage, le régime hydraulique affecte l'activité des poissons et l'évacuation des solides : la rétention des particules augmente et la qualité d'eau est modifiée si le régime hydraulique diminue. En ce qui concerne la boucle de traitement, pour obtenir un taux de nitrification approprié et une consommation minimale de carbone particulaire, il faut maintenir une vitesse minimale de  $14,22 \pm 0,45 \text{ m h}^{-1}$  dans le filtre biologique (avec un temps de séjour de  $6,46 \pm 0,21 \text{ min}$ ) et un temps de séjour maximal de 18,5 minutes dans toute la boucle de traitement (pour une boucle de traitement  $\sim 2\text{m}^3$ ).

La taille des poissons, liée à un âge et une activité physiologique donnée, affecte la production des solides. Cette modification des caractéristiques chimiques et rhéologiques des excréments solides affecte indirectement l'efficacité des dispositifs de contrôle des solides.

Dans la deuxième partie de cette étude, nous avons exploré les effets du contrôle de la quantité et de la qualité de la matière particulaire dans la boucle de traitement sur le fonctionnement du système. Des modèles permettant d'estimer la quantité de rejets de chaque étape du traitement ont été proposés. Nous avons également confirmé que la boucle de traitement modifie la nature de la matière particulaire (en plus de son effet sur la matière dissoute, nitrification) grâce à l'utilisation de techniques isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ).

Il existe donc une relation entre la gestion hydraulique du système, la distribution de la matière particulaire, son rapport carbone/azote et les conditions d'élevage. Ces relations sont représentées par les modèles de fonctionnement de chaque étape de traitement et en fonction de la taille de poisson pour des régimes hydrauliques, température et type d'alimentation constants.

### **8.3. PERSPECTIVES**

L'évaluation des signatures isotopiques de la matière particulaire est utile pour comprendre les transformations qu'elle subit dans le SR et quantifier ses flux. Cette connaissance peut donc être utilisée pour modéliser ces transformations, notamment au niveau de la boucle de traitement et éventuellement pour définir de nouveaux moyens de contrôle. Par ailleurs, les

signatures isotopiques du carbone et de l'azote apportent des informations très importantes pour la gestion de l'alimentation (fractionnement métabolique et quantification des pertes d'aliment sous forme de poussière). Elles peuvent être utilisées pour d'autres espèces en élevage, où la quantification de l'aliment non consommé est difficile en raison de la présence de « poussières » d'aliment produites par les poissons.

Les interactions entre les modèles de la matière dissoute et de la matière particulaire dépendent des poissons élevés et de la gestion des dispositifs de traitement qui constituent le RAS. Afin de limiter l'activité bactérienne hétérotrophe, une évacuation adéquate des solides du bassin d'élevage et une bonne efficacité des dispositifs de contrôle des solides sont donc nécessaires. La recherche des équilibres entre l'efficacité de nitrification et la capacité de charge en solides dans la boucle de traitement nécessite des études supplémentaires.

Sur la base des premiers travaux de modélisation, il reste à faire un diagnostic et une vérification des résultats du modèle. Le modèle devrait ensuite être validé et calibré pour d'autres conditions hydrauliques, de température et de type d'aliment.

Une fois validé, le modèle proposé pourra être couplé aux modèles existants et en cours d'élaboration (matière dissoute et développement bactérien) afin d'intégrer un modèle général de fonctionnement des systèmes recirculés.



## BIBLIOGRAPHIE

- Acketors, H., Enell, M., 1994. The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in Nordic countries, *Journal of applied ichthyology*, 10:225-241.
- Anderson, R.K., Dickson, M.L., Holt, G.J., Ritz, D., Parker, P.L., 1988. The use of stable isotope tracers in red drum (*Sciaenops ocellatus*) culture. *Contributions in Marine Science*, 30:87-92.
- Arzul, G., Clement, A., Pinier, A., 1996. Effects on phytoplankton growth of dissolved substances produced by fish farming, *Aquatic Living Resources*, 9:95-102.
- Åsgård, T. Hillestad, M., 1998. Technological and nutritional aspects of safe food production. Eco-friendly aquafeeds and feeding. Contribution at the Symposium Victam 98. May 13-14, Utrecht, The Netherlands.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176:227-235.
- Avnimelech, Y., Mozares, N., Shaher, D., Kochba, M., 1995. Rates of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. *Aquaculture*, 134:211-216.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., 1996. Growth, body composition and nutrient retention efficiency of growing seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed fish oil or fatty acid Ca salts. *Aquaculture*, 139:99-107.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'Agaro, E., Mion, A., 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127:197-206.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'Agaro, E., 1998. Performance, nutrient retention efficiency, total ammonia and reactive phosphorus excretion of growing European seabass (*Dicentrarchus labrax*, L) as affected by diet processing and feeding level. *Aquaculture*, 161:55-65.
- Barak, Y., van Rijn, J., 2000. Biological phosphate removal in prototype recirculating aquaculture treatment system, *Aquacultural Engineering*, 22:121-136.
- Barford, C.C., Montoya, J.P., Altabet, M.A., Mitchell, R., 1999. Steady-state nitrogen isotope effects of N<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O production in *Paracoccus denitrificans*, *Applied and environmental microbiology*, 65:989-994.
- Bedard-Haughn, A., van Groenigen, J.W., van Kessel, C., 2003. Tracing <sup>15</sup>N through landscapes: potential uses and precautions. *Journal of Hydrology*, 272:175-190.
- Benner, R., Biddana, B., Black, B., McCarthy, M., 1997. Abundance, size distribution, and stable carbon and nitrogen isotopic composition of marine organic matter isolated by tangential-flow ultrafiltration. *Marine chemistry*, 57:243-263.
- Benschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.*, 11:87-96.
- Bergheim, A., Sanni, S., Indrevik, G., Hoelland, P., 1993. Sludge removal from salmonid tank effluent using rotating microsieves. *Aquacultural Engineering*, 12:97-109.
- Bergheim, A., Cripps, A., Liltved, H., 1998. A system for the treatment of sludge from land-based fish farms. *Aquatic Living Resources*, 11:279-287.
- Bernard, D.R., 1983. A survey of mathematical models pertinent to fish production and tropical pond aquaculture. In: Lannan, J.E., Smitherman, R.O., Tchobanoglous, G., (Eds). *Principles and Practices of Pond Aquaculture*, Oregon State University, Corvallis OR, 225-235.
- Binhe, G., Schell, D.M., Xianghao, H., Fuliang, Y., 1996. Stable isotope evidence for dietary overlap between two planktivorous fishes in aquaculture ponds, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53:2814-2818.
- Blair, N., Leu, A., Muñoz, E., Olsen, J., Kwong, E., Des Marais, D., 1985. Carbon isotopic fractionation in heterotrophic microbial metabolism. *Applied and environmental microbiology*, 50:996-1001.

- Blancheton, J.P., 2000. Developments in recirculating systems for mediterranean fish species, *Aquacultural Engineering*, 22:17-31.
- Blancheton, J.P., Coves, D., 1993. Closed system in intensive marine finfish hatcheries-state of the art and the future prospects. In : Barnabé, G., Kestemont, P. (Eds.), *Production, Environmental and Quality, Bordeaux '92*. European Aquaculture Society, Special publication, 18 EAS, Ghent, Belgium, 87-93.
- Blancheton, J.P., Canaguier, B., 1995. Bacterial and particulate materials in recirculating seabass (*Dicentrarchus labrax*) production system. *Aquaculture*, 133:215-224.
- Blancheton, J.P., Gasset, E., Léonard, N., Quezada Jimenez, L., Franco, M. 2001. Biofiltration of effluents from intensive sea fish production : long term operation and prospects for improvement. *Aquacultural Engineering Society proceedings, 2001 AES issues forum, November 11-14, 2001, Shepherdstown, West Virginia (USA)*, Edited by Steven T. Summerfelt, Barnaby J. Watten, Michael B. Timmons. *Aquacultural Engineering Society, Shepherdstown, West Virginia (USA)*, p. 237-253
- Boley, A., Muller, W.R., Haider, G., 2000. Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems, *Aquacultural Engineering*, 22:75-85.
- Cam; D., Rollet, P.E., Mariott, A., Guillaume, J., 1991. The relative contribution of natural productivity and formulated food in the nutrition of *Penaeus japonicus* reared in semi-intensive conditions. *Aquatic Living Resources*, 4:175-180.
- Campbell, P.J., Houlihan, D.F., Rennie, M.J., 1997. The use of stable isotope and the measurement of voluntary food intake in fish physiological studies, In: Houlihan, D., Kiessling, A., Boujard, T. (Eds.), *1 COST 827 Workshop, Aberdeen (UK)*, 3-6 April: 27.
- Carter, C.G., Brafield, A.E., 1992. The bioenergetics of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.): the influence of body weight, ration and dietary composition on nitrogenous excretion. *J. Fish Biol.*, 41:533-543.
- Chen, S., Stechey, D., Malone, R.F., 1994. Suspended solids control in recirculating aquaculture systems. In: Timmons, M.B., Losordo, T.M. (Eds.), *Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management. Development in Aquaculture and Fisheries Sciences*, vol. 27. Elsevier, Amsterdam, 61-100.
- Chen, S., Coffin, D.E., Malone, R.F., 1997. Sludge production and management for recirculating aquacultural systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28:303-315.
- Chen, S., Beveridge, M.C.M., Telfer, T.C., Roy, W.J., 2003. Nutrient leaching and settling rate characteristics of the faeces of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) and the implications for modeling of solid waste dispersion. *Journal of applied ichthyology*, 19:114-117.
- Cheng, S.S., Chen, W.C., 1994. Organic carbon supplement influencing performance of biological nitrification in a fluidized bed reactor. *Water Sci. Tech.*, 30:131-142.
- Cherrier, J., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., Coffin, R.B., Chanton, J.P., 1999. Radiocarbon in marine bacteria: Evidence for the ages of assimilated carbon. *Limnology and Oceanography*, 44: 730-736.
- Cho, C.Y., Bureau, D.P., 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*, 32:349-360.
- Cho, C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.R., Yoshida, H.K., 1991. Quantification of fish culture wastes by biological (nutritional) and chemical (limnological) methods; the development of high nutrition dense (HND) diets. In: Cowey, C.B., Cho, C.Y. (Eds.), *Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste, Univ. Guelph, Ont., Canada, June 1990*, pp. 37-50.

- Cifuentes, L.A., Sharp, J.H., Fogel, M.L., 1988. Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnology and Oceanography*, 33:1102-1115.
- Cifuentes, L.A., Fogel, M.L., Pennock, J.R., Sharp, J.H., 1989. Biogeochemical factors that influence the stable nitrogen isotope ratio of dissolved ammonium in Delaware Estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 23:2713-2721.
- Coffin, R.B., Velinsky, D.J., Devereux, R., Price, W.A., Cifuentes, L.A., 1990. Stable carbon isotope analysis of dissolved substrates used by estuarine bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 56:2012-2020.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way to avoiding feed wastage in European seabass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquatic Living Resources*, 11:395-401.
- Cripps, S., 1995. Serial particle size fractionation and characterization of an aquacultural effluent. *Aquaculture*, 133:323-339.
- Cripps, S.J., Kelly, L.A., 1996. Reductions in wastes from aquaculture. In: Baird, D.J., Beveridge, M.C.M., Kelly, L.A., Muir, J.F. (Eds.), *Aquaculture and Water Resource Management*. Blackwell, Oxford, 166-201.
- Cripps, S.J., Bergheim, A., 2000. Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering*, 22:33-56.
- Cuenco, M.L., Stickney, R.R. and Grant, W.E., 1985a. Fish bioenergetics and growth in aquaculture ponds. I. Individual fish model development. *Ecol. Model.*, 27:169-190.
- Cuenco, M.L., Stickney, R.R. and Grant, W.E., 1985b. Fish bioenergetics and growth in aquaculture ponds. II. Effects of interactions among size, temperature, dissolved oxygen, unionized ammonia and food on growth of individual fish. *Ecol. Model.*, 27:191-206.
- Cuenco, M.L., Stickney, R.R., Grant, W.E., 1985c. Fish bioenergetics and growth in aquaculture ponds. III. Effects of intraspecific competition, stocking rate, stocking size and feeding rate on fish productivity. *Ecol. Model.*, 28:73-95.
- Cui, Y., Wootton, R.J., 1988. Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus*: The effect of ration, temperature and body size on food consumption, faecal production and nitrogenous excretion. *J. Fish Biol.*, 33:431-444.
- Danovaro, R., Dell'Anno, A., Pusceddu, A., Marrale, D., Della Croce, N., Fabiano, M., Tselepides, A., 2000. Biochemical composition of pico-, nano- and micro-particulate organic matter and bacterioplankton biomass in the oligotrophic Cretan Sea (NE Mediterranean). *Progress in Oceanography*, 46:279-310.
- Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparring, G.P., Vojvodic-Vukovic, M., 2000. Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol. and Biochem.*, 32:198-196.
- Desimone, L.A., Howes, B.L. 1996. Denitrification and nitrogen transport in a coastal aquifer receiving wastewater discharge. *Environmental Science & Technology*, 30:1152-1162.
- Dias, J., Alvarez, M.J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M., Kaushik, S.J., 1998. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 161:169-186.
- Dosdat, A., Servais, F., Metailler, R., Huelvan, C., Desbruyeres, E., 1996. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture*, 141:107-127.
- Edwards, M., Boller, M., Benjamin, M.M., 1993. Effect of pre-ozonation on removal of organic matter during water treatment plant operations. *Water Sci. Technol.*, 27:37-45.
- Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., 1993. Characterization of treated and untreated effluents from landbased fish farms. In: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jørgensen, L., Tvinnereim, K. (Eds.), *Fish Farming Technology*. Balkema, Rotterdam, 361-369.

- Elliot, J. M., 1975. The growth rate of brown trout fed on maximum rations. *J. Anim. Ecol.*, 44:805-821.
- Enell, M., Loelf, J., 1983. Environmental impact of aquaculture: sediment and nutrient loadings from fish cage culture farming. *Vatten* 39, 364–375.
- Epp, M.A., Ziemann, D.A., Schell, D.M., 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. *Aquaculture Research*, 33:839-846.
- Ernst, D.H., Bolte, J.P., Nath, S.S., 2000. AquaFarm: simulation and decision support for aquaculture facility design and management planning, *Aquacultural Engineering*, 23:121-179.
- FAO, 1999. FAO Fisheries Report/FAO Rapport sur les pêches. No. 606. Rome, 208p.
- FAO, 2002. FAO Fisheries Report/FAO Rapport sur les pêches. No. 689. Rome, 29p.
- Fauré, A., 1980. Bases biotechniques et économiques de mise en place d'une gestion prévisionnelle en aquaculture. Exemple de la salmoniculture., INA, Paris - Grignon. 29 p.
- Fraser, K.D.P., Lyndon, A.R., Houlihan, D.F., 1998. Protein synthesis and growth in juvenile Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L): Application of <sup>15</sup>N stable isotope tracer. *Aquaculture Research*, 29:289-298.
- From, J., Rasmussen, G., 1984. A growth model, gastric evacuation, and body composition in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, (1836). *Dana*, 3:61-139.
- Fry, A., 1970. Heavy atom isotope effects in organic reaction mechanism studies. In: Collins, C.J., Bowman, N.S. (Eds.), *Effects in Chemical Reactions*, Van Nostrand Reinhold, New York, :365–414.
- Fry, B., 1999. Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56:2167-2171.
- Fry, B., Arnold, C., 1982. Rapid <sup>13</sup>C/<sup>14</sup>C turnover during growth of brown shrimp (*Pennaeus aztecus*), *Oecologia* 54:200-204.
- Fry, B., Mumford, P.L., Tam, F., Fox, D.D., Waren, L., Havens, K.E., Steinman, A.D., 1999. Trophic position and individual feeding histories of fish from lake Okeechobee, Florida. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56:590-600.
- Gannes, L.Z., Martínez del Rio, C., Koch, P., 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology, *Comp. Biochem. Physiol.*, 119A:725-731.
- Gerking, S.D., 1955. Endogenous nitrogen excretion of bluegill sunfish. *Physiol. Zool.*, 28:283–289.
- Golz, W. J., Rusch, K.A., Malone, R.F., 1996. Developing backwash protocols for floating-bead filters: a model of solids-loading and biofilm-retention effects on nitrification. In: *Successes and Failures in Commercial Recirculating Aquaculture: Proceeding of the Aquacultural Engineering Society*, Virginia Polytechnic Institute:Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Roanoke, Virginia, 196–205.
- Golz, W.J., Rusch, K.A., Malone, R.F., 1999. Modeling the major limitations on nitrification in floating-bead filters. *Aquacultural Engineering*, 20:43–61.
- Gorokhva, E., Hansson, S., 1999. An experimental study on variations in stable carbon and nitrogen isotope fraction during growth of *Mysis mixta* and *Neomysis integer*, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56:2203-2210.
- Green, J., Brannon, E., Hardy, R., 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Production-scale study. *Aquaculture Nutrition*, 8:291-298.
- Gross, A., Boyd, C.E., Wood, C.W., 2000. Nitrogen transformations and balance in channel catfish ponds. *Aquacultural Engineering*, 24:1–14

- Guérin-Ancey, O., 1976a. Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. 1. Effets de la température et du poids du corps sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. *Aquaculture* 9:71–80.
- Guérin-Ancey, O., 1976b. 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.
- Guo, L., Lehener, J.K., White, D.M., Garland, D.S., 2003. Heterogeneity of natural organic matter from the Chena River, Alaska. *Water research* 37:1015-1022.
- Guy, R. 2001. Raw materials for extrusion cooking. In: Guy R. (Ed.), *Extrusion cooking Technologies and applications*, CRC Press.
- Hall, C.A.S., Day, J.W., 1977. *Ecosystem Modeling in Theory and Practice: An Introduction with Case Histories*. University of Colorado Press, Boulder, CO.
- Hargreaves, J.A., 1997. A simulation model of ammonia dynamics in commercial catfish ponds in the southeastern United States. *Aquacultural Engineering*, 16 :27-43.
- Harvey, C.J., Hanson, P.C., Essington, T.E., Brown, P.B., Kitchell, J.F., 2002. Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59: 115-124.
- Harvey, H.R., Macko, S.A., 1997. Catalysis or contributors? Tracking bacterial mediation of early diagenesis in the marine water column. *Org. Geochem.*, 26:531-544.
- Hedges, J.I., Stern, J.H., 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate containing solids. *Limnology and Oceanography*, 29:657-663.
- Hennessy, M., De Pauw, N., Joyce, J., 1991. The efficiency of two aquacultural effluent treatment systems in use in Scotland. *Aquaculture and the environment. Special Publication. EAS*, 14 :142-143.
- Horn, H., 1994. Dynamics of a nitrifying bacteria population in a biofilm controlled by an oxygen microelectrode. *Water Sci. Technol.* 29:69.
- Horrigan, S.G., Montoya, J.P., Nevins, J.L., McCarthy, J.J., 1990. Natural isotopic composition of dissolved inorganic nitrogen in the Chesapeake Bay, *Estuarine, Coastal & Shelf Science*, 30:393-410.
- Hullar, M.A.J., Fry, B., Peterson, B.J., Wright, R.T., 1996. Microbial utilisation of estuarine dissolved organic carbon: a stable isotope tracer approach tested by mass balance. *Applied and environmental microbiology*, 62:2489-2493.
- Jamu, D.M., Piedrahita, R.H., 2002. An organic matter and nitrogen dynamics model for the ecological analysis of integrated aquaculture/agriculture systems: I. model development and calibration. *Environmental Modelling & Software*, 17:571–582.
- Jiménez-Montealegre, R., Verdegem, M.C.J., van Dam, A., Verreth, J.A.J., 2002. Conceptualization and validation of a dynamic model for the simulation of nitrogen transformations and fluxes in fish ponds. *Ecological Modelling*, 147 : 123–152.
- 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.
- Kang, J.C., Park, S.I., Kim, S.G., 1998. The development of filter for environmental improvement in land based seawater fish farm: 2. Purification efficacy of inlet and outlet seawater by filter. *Journal of Korean Fisheries Society*, 31:914-919.
- Kaushik, S.J., 1998. Nutritional bioenergetics and estimation of waste production in non-salmonids. *Aquatic Living Resources*, 11:211-217.
- Kaushik, S.J., Covès, D., Dutto, G., Blanc, D. \_\_\_\_\_. Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diets of marine teleost, the european seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, In press.
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M., 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133:257-274.

- Kelly, C.A., Coffin, R.B., Cifuentes, L.A., 1998. Stable isotope evidence for alternate carbon sources in the Gulf of Mexico. *Limnology and Oceanography*, 43:1962–1969.
- Keough, J.R., Hagley, C.A., Ruzycki, E., Sierszen, M.J.R., 1998.  $^{13}\text{C}$  composition of primary producers and role of detritus in freshwater coastal ecosystem, *Limnology and Oceanography*, 43:734-740.
- Kline, T.C., 1999. Temporal and spatial variability of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in pelagic biota of Prince William Sound, Alaska, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56:94-117.
- Kling, G.W., Fry, B., O'Brien, W.J., 1992. Stable isotopes and planktonic trophic structure in arctic lakes. *Ecology*, 73:561-566.
- Koskela, J., 1992. Growth rates and feeding levels of European whitefish (*Coregonus lavaretus*) under hatchery conditions. In: Todd, T.N, Luczynski, M., (eds.) *Biology and management of coregonid fishes*, Pol. Arch. Hydrobiol., 39:731-737.
- Krom, M.D., Ellner, S., van Rijn, J., Neori, A., 1995. Nitrogen and Phosphorus cycling and transformations in a prototype 'non-polluting' integrated mariculture system, Eliat, Israel, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 118:25-36.
- Krumins, V., Ebeling, J.M., Wheaton, F., 2001. Ozone's effects on power-law particle size distribution in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 25:13-24.
- Lanari, D., Franci, C., 1998. Biogas production from solid wastes removed from fishfarm effluents, *Aquatic Living Resources*, 11:289-295.
- Lanari, D., Poli, B.M., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'Arango, E., Mecatti, M., 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture*, 179:351–364.
- Langer, J., Efthimiou, S., Rosenthal, H., Bronzi, P., 1996. Drum filter performance in a recirculating eel culture unit. *Journal of applied ichthyology*, 12:61-65.
- Lauff, R.F., Wood, C.H., 1996. Respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology B.*, 166:501–509.
- Lefebvre, S., Bacher, C., Meuret, A., Hussenot, J., 2001. Modelling Nitrogen Cycling in a Mariculture Ecosystem as a Tool to Evaluate its Outflow. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52:305–325.
- Lekang, O.-I., Bergheim, A., Dalen, H., 2000. An integrated wastewater treatment system for land-based fish-farming. *Aquacultural Engineering*, 22:199–211.
- Lemarié, G., Gasset, E., Cam, D., de La Fonchais, E., 1992. Modélisation de la consommation en oxygène du loup (*Dicentrarchus labrax* L.) et de la daurade (*Spaurus auratus* L.). *Ichthyophysiological Acta*, 15:55-68.
- Lemarié, G., Martin, J.L.M., Dutto, G., Garidou, C., 1998. Nitrogenous and phosphorus waste production in a flow-through land-based farm of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources*, 11:247-254.
- Leonard, N., 2000. Recherche et élimination des facteurs inhibiteurs de croissance dans les élevages piscicoles en circuit fermé. Thèse de doctorat, Université Montpellier I. 165 p.
- Leonard, N., Blancheton, J.P., Guiraud, J.P., 2000. Populations of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system, *Aquacultural Engineering*, 22:109-120.
- Leonard N., Guiraud, J.P., Gasset E., Cailleres J.P., Blancheton J.P., 2002. Bacteria and nutrients -nitrogen and carbon- in a recirculating system for sea bass production. *Aquacultural Engineering*, 26: 111-127.

- Leung, K.M.Y., Chu, J.C.W., Wu, R.S.S., 1999. Effects of body weight, water temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areolatus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*), *Aquaculture*, 170:215-227.
- Li, L., Yakupitiyage, A., 2003. A model for food nutrient dynamics of semi-intensive pond fish culture. *Aquacultural Engineering*, 27:9-38.
- Liltved, H., Cripps, S.J., 1999. Removal of particle associated bacteria by prefiltration and ultraviolet irradiation. *Aquaculture Research*, 30:445-450.
- Lochmann, R., Phillips, H., 1996. Stable isotopic evaluation of the relative assimilation of natural and artificial foods by golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) in ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27:168-177.
- Losordo, T.M., Hobbs, A.O., 2000. Using computer spreadsheets for water flow and biofilter sizing in recirculating aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering*, 23:95-102.
- Losordo, T.M., Masser, M.P., Rakocy, J., 1998. Recirculating aquaculture Tank Production Systems An Overview of Critical Considerations. SRAC Publication No. 451. 6p.
- Losordo, T.M., Masser, M.P., Rakocy, J., 1999. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems A Review of Component Options. SRAC Publication No. 453. 12p.
- Losordo, T.M., Hobbs, A.O., Delong, D.P., 2000. The design and operational characteristics of the CP&L/EPRI fish barn: a demonstration of recirculating aquaculture technology, *Aquacultural Engineering*, 22:3-16.
- Lupatsch I., Kissil G.W. 1998. Predicting aquaculture waste from gilthead seabream (*Spaurus aurata*) culture using a nutritional approach. *Aquatic Living Resources*, 11:265-268.
- Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D., 2003. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture*, 225:175-189.
- Machás, R., Santos, R., 1999. Source of organic matter in Ria Formosa revealed by stable isotope analysis, *Acta Oecologica*, 20:463-469.
- Malone, R.F., Chitta, B.S., Drennan, D.G., 1993. Optimizing nitrification in bead filters for warmwater recirculating aquaculture systems. In: Jaw-Kai Wang (Ed.), *Techniques for Modern Aquaculture*. ASAE Publication 02-93.
- Mariotti, A. 1982. Apports de la géochimie isotopique a la connaissance du cycle de l'azote. Dissertation. Université Paris 6, Paris, France
- Mariotti, A., Lancelot, C., Billen, G., 1984. Natural isotopic composition of nitrogen as a tracer of origin for suspended organic matter in the Scheldt Estuary (Southern Bight, North Sea), *Geochemica et Cosmochimica Acta*, 48:549-555.
- Mazzola, A., Sarà, G., 2001, The effect of fish farming organic waste on food availability for bivalve molluscs (Gaeta Gulf, Central Tyrrhenien, MED): Stable carbon isotopic analysis, *Aquaculture*, 192:361-379.
- McClelland, J.M., Valiela, I., 1998. Linking nitrogen in estuarine producers to land-derived sources, *Limnology and Oceanography*, 43:577-585.
- McClelland, J.M., Valiela, I., Michener, R.H., 1997. Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: A record of increasing urbanization in coastal watersheds, *Limnology and Oceanography*, 42:930-937.
- McGhie, T.K., Crawford, C.M., Mitchell, I.M., O'Brien, D., 2000. The degradation of fish-cage waste in sediments during fallowing. *Aquaculture*, 187:351-366.
- McMillan, J.D., Wheaton, F.W., Hochheimer, J.N., Soares, J., 2003. Pumping effect on particle sizes in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 27:53-59.

- Michener, R.H., Schell, D.M., 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K, Michener R.H, (Eds.), Stable isotopes in ecology and environmental science. Oxford (UK): Blackwell Scientific Publications. 137–57.
- Middelburg, J.J., Nieuwenhuize, J., 1998. Carbon and nitrogen stable isotopes in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary. *Marine chemistry*, 60:217-225.
- Moeri, O., Sternberg, L.Y.L., Rodicio, L.P., Walsh, P.J., 2003. Direct effects of ambient ammonia on the nitrogen isotope ratios of fish tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 282:61-66.
- Neori, A., Shpigel, M., Odintsev, V., Krom, M.D., 2002. Integrated and zero-effluent mariculture technologies: The future is here. Aquaculture Europe 2002, Seafarming today and tomorrow, Trieste, Italy, October 16-19, 2002, abstracts and extended communications. European aquaculture society, special publication, 32. European aquaculture society, Oostende,: 372-373.
- Nijhof, M. 1994. Theoretical effects of feed composition, feed conversion and feed spillage on waste discharge in fish culture. *Journal of applied ichthyology*, 10:274-283.
- Nijhof, M., 1995. Bacterial stratification and hydraulic loading effects in a plug-flow model for nitrifying trickling filters applied in recirculating fish culture systems, *Aquaculture*, 134:49-64.
- Nixon, S.W., Pilson, M.E., 1983. Nitrogen in estuarine and coastal marine ecosystems, p. 565-648. In Carpenter, E.J., Capone, D.G., (eds) Nitrogen in the Marine Environment. Academic Press, 900 p.
- Ohashi, A., Viraj de Silva, D.G., Mobarry, B., Manem, J.A., Stahl, D.A., Rittmann, B.E., 1995. Influence of substrate C/N ratio on the structure of multi-species biofilms consisting of nitrifiers and heterotrophs. *Water Sci. Tech.* 32:75–84.
- Owen, S.F.; McCarthy, I.D.; Watt, P.W.; Ladero, V.; Sanchez, J.A.; Houlihan, D.F.; Rennie, M.J., 1999. In vivo rates of protein synthesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts determined using a stable isotope flooding dose technique. *Fish-Physiology and Biochemistry*, 20:87-94.
- Páez-Osuna, F., Guerrero-Galván, S.R., Ruiz-Fernández, A.C., Espinoza-Angulo, R., 1997. Flux and mass balances of nutrients in semi-intensive shrimp farm in north-western Mexico, *Mar. Poll. Bull.*, 34:290-297.
- Pagand, P., 1999. Traitement des effluents piscicoles marins par lagunage a haut rendement algal. Thèse Doctorale. Université de Montpellier I. 219 p.
- Pagand, P., Blancheton, J.P., Casellas, C., 2000. A model for predicting the quantities of dissolved inorganic nitrogen released in effluents from a seabass (*Dicentrarchus labrax*) recirculating water system. *Aquacultural Engineering*, 22:137-153.
- Palacios, G.L., Timmons, M.B., 2001. Determining design parameters for recovery of aquaculture wastewater using sand beds. *Aquacultural Engineering*, 24:289-299.
- Parker, P.L., Anderson, R.K., Lawrence, A., 1989. A  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  tracer study of nutrition in aquaculture: *Penaeus vannamei* in a pond growout system. In: Rundel, P.W., Ehleringer, J.R., Nagy, K.A. (Eds.), Stable isotopes in ecological research. Springer Verlag, New York, 288-303.
- Patterson, R.N., Watts, K.C., Gill, T.A., 2003. Micro-particles in recirculating aquaculture systems: determination of particle density by density gradient centrifugation. *Aquacultural Engineering*, 27:105-115.
- Pelz, O., Cifuentes, L.A., Hammer, B.T., Kelley, C.A., Coffin, R.B., 1998. Tracing the assimilation of organic compounds using  $^{13}\text{C}$  analysis of unique amino acids in bacterial peptidoglycan cell wall, *FEMS Microbiology Ecology*, 3(25):229-240.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2003. The effect of dietary ribonucleic acid incorporation in performance of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 215: 245–253.
- Persson, A., Hansson, L.A., 1999. Diet shift in fish following competitive release. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56:70-78.

- Peterson, B.J., 1999. Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: A review. *Acta Oecologica*, 20:479-487.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Systematics*, 18:293–320.
- Piedrahita, R.H., Fitzsimmons, K., Zachritz, W.H.II., Brockway, C., 1996. Evaluation and improvements of solids removal systems for aquaculture. *Aquaculture Engineering Society. Proceedings II: Successes and failures in commercial recirculating aquaculture conf., Roanoke, VA (USA), 19-21 Jul., vol. 1:141-150.*
- Quilleré, I., Roux, L., Marie, D., Roux, Y., Gosse, F., Morot-Gaudry, J.F. 1995. An artificial productive ecosystem based on fish/bacteria/plant association. 2. Performance. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 53:19-30.
- Riera, P., 1995. Origine et devenir de la matière organique dans un écosystème estuarien à vocation conchylicole. Utilisation du traçage isotopique naturel. Thèse doctorale, Université Bordeaux I, 214 p.
- Rosenthal, H., Andjus, R., Krüner, G., 1981. Daily variations of water quality parameters under intensive culture conditions in a recycling system. In: Tiews, K. (ed.), *Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems. EIFAC:ICES Symposium, 28–30 May 1980, Stavanger, Norway*, 113–120.
- Rueter, J., Johnson, R., 1995. The use of ozone to improve solids removal during disinfection. *Aquacultural Engineering*, 14 :123–141.
- Saito, L., Johnson, B.M., Bartholow, J., Blair Hanna, R., 2001. Assessing ecosystem effects of reservoir operations using food web-energy transfer and water quality models. *Ecosystems*, 4:105-125.
- Sanni, S., Forsberg, O.I., 1996. Modeling pH and carbon dioxide in single-pass sea-water aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 15:91-110.
- Sastry, B.N., DeLosReyes, A.A.Jr., Rusch, K.A., Malone, R.F., 1999. Nitrification performance of a bubble-washed bead filter for combined solids removal and biological filtration in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 19:105–117.
- Savitz, J., 1969. Effects of temperature and body weight on endogenous nitrogen excretion in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 26:1813–1821.
- Schroeder, G., L., 1983. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by  $\delta C$  analysis. *Aquaculture*, 35:29-42.
- Schuster, C., Stelz, H., 1998. Reduction in the make-up water in semi-closed recirculating aquaculture systems, *Aquacultural Engineering*, 17:167-174.
- Seymour, E.A., Bergheim, A., 1991. Towards a reduction of pollution from intensive aquaculture with reference to the farming of salmonids in Norway. *Aquacultural Engineering*, 10:73-88.
- Sharma, B., Ahlert, R.C., 1977. Nitrification and nitrogen removal. *Water Res.* 11:897–925.
- Shearer, G., Kohl, D.H., 1986.  $N_2$ -fixation in field settings: estimations based on natural  $^{15}N$  abundance. *Aust. J. Plant Phys.*, 13 :699–756.
- Shearer, G., Kohl, D.H., 1992. Natural abundance of  $^{15}N$ : fractional contribution of two sources to a common sink and use of isotope discrimination. In: Knowles, R., Blackburn, T.H. (Eds.), *Nitrogen Isotope Techniques*, Academic Press, New York, 89–125.
- Shpigel, M., Neori, A., Popper, D., Gordin, H., 1992. A proposed model for ‘clean’ land-based polyculture of fish, bivalves and seaweed, *Isr. J. Aqua. Bamidgeh*, 44:147.
- Singh, S., Ebeling, J., Wheaton, F., 1999. Water quality trials in four recirculating aquacultural system configurations, *Aquacultural Engineering*, 20:75-84.
- Smith, V.H., Tilman, G.D., Nekola, J.C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine and terrestrial ecosystems, *Environ. Poll.*, 100:179-196.

- Solorzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method, *Limnology and Oceanography*, 14:799-801.
- Summerfelt, S.T., Hankins, J.A., Weber, A.L., Durant, M.D., 1997. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system II. Effects on microscreen filtration and water quality. *Aquaculture*, 158:57-67.
- Tanaka, H., Dunn, I.J., 1982. Kinetics of biofilm nitrification. *Biotechnol. Bioeng.*, 24:669-689.
- Tanguy, R., Le Grel, L., 1989. Projet d'élevage du loup en mer: étude technico-économique du pré grossissement et du grossissement. Rapport Internes de la Direction des Ressources Vivantes, DRV-89.021-RA:SDA PALAVAS, 91 pp
- Thoman, E.S., Ingall, E.D., Davis, D.A., Arnold, C.R., 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering*, 24:195-211.
- Todgham, A.E., Anderson, P.M., Wright, P., 2001. Effects of exercise on nitrogen excretion, carbamoyl phosphate synthetase III activity and related urea cycle enzymes in muscle and liver tissues of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A.*, 129 :527-539.
- Tominaga, O., Uno, N., Seikai, T., 2003. Influence of diet shift from formulated feed to live mysids on the carbon and nitrogen stable isotope ratio ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) in dorsal muscles of juvenile Japanese flounders, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 218:265-276.
- Tucker, J., Sheats, N., Giblin, A.E., Hopkins, C.S., Montoya, J.P., 1999. Using stable isotopes to trace sewage-derived material through Boston Harbor and Massachusetts Bay, *Mar. Environ. Res.*, 48:353-375.
- Twarowska, J.G., Westerman, P.W., Losordo, T.M., 1997. Water treatment and waste characterization evaluation of an intensive recirculating fish production system. *Aquacultural Engineering*, 16:133-147.
- Ulgenes, Y., Eikebrokk, B., 1994. Fish farm effluent treatment by microstrainers and a particle trap. EIFAC Workshop, Univ. of Stirling, Scotland, June 1994.
- Vander Zanden, M. J., Rasmussen, J. B., 2001. Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, 46: 2061-2066.
- Van Iperen, J., Helder, W., 1985. A method for the determination of organic carbon in calcareous marine sediments. *Mar. Geol.*, 64:179-187.
- Van Rijn, J., 1996. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture – A review, *Aquaculture*, 139:181-201.
- Velinsky, D.J., Fogel, M.L. 1999. cycling of dissolved and particulate nitrogen and carbon in the Framvaren Fjord, Norway: Stable isotopic variations. *Mar. Chem.*, 67:161-181.
- Ver, L.M.B., Mackenzie, F.T., Lerman, A., 1999. Carbon cycle in the coastal zone: effects of global perturbations and change in the past three centuries, *Chem. Geol.*, 159:283-304.
- Verardo, D.J., Froelich, P.N., McIntyre, A., 1990. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 Analyser. *Deep-sea research*, 37:157-165.
- Voss, M., Larsen, B., Leivuori, M., Vallius, H., 2000. Stable isotope signals of eutrophication in Baltic Sea sediments, *J. Mar. Sys.*, 25:287-298.
- Vouvé, F., Guiraud, G., Marol, Ch., Girard, M., Richard, P. Laima, M.J.C., 2000.  $\text{NH}_4^+$  turnover in intertidal sediments of Marennes-Oléron Bay (France): effect of sediment temperature. *Oceanologica Acta*, 23:575-584.
- Wahab, M.A., Stirling, H.P. 1998. Soil quality of some intensively cultured fish ponds at Howietoun, Central Scotland, *Bangladesh J. Fish.*, 11:1-11.

- Wheaton, F.W., Hochheimer, J.N., Kaiser, G.E., Krones, M.J., Libey, G.S., Easter, C.C., 1994. Nitrification filter principles. In: Timmons, M.B., Losordo, T.M. (Eds.), *Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management*. Elsevier, Amsterdam, 101–126.
- Wik, T., 1999. Adsorption and denitrification in nitrifying trickling filters. *Water Resources*, 33:1500-1508.
- Wong, K.B., Piedrahita, R.H., 2000. Settling velocity characterization of aquacultural solids. *Aquacultural Engineering*, 21:233–246.
- Wood, E.D., Armstrong, F.A.J., Richards, F.A., 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium cooper reduction to nitrite, *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 47:23-31.
- Yamada, Y., Yokoyama, H., Ishihi, Y., Azeta, M., 2003. Historical feeding analysis in fish farming based on carbon and nitrogen stable isotope ratio in sediment. *Fisheries Sciences*, 69:213-215.
- Yoshioka, T., Wada, E., Hayashi, H., 1994. A stable isotope study on seasonal food web dynamics in a eutrophic lake. *Ecology*, 75:835-846.
- Zhu, S., Chen, S., 2001. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering*, 25:1-11.
- Zhu, S., Chen, S., 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering*, 26:221-237.
- Zhu, Y., Zhou, X., Yu, R., Yang, Y., 1994. preliminary studies on the feeding pattern of pond-cultured fish using stable isotope carbon analysis, In: Zonghey, A., Jichulilun, H., Yuyeshengwu, J., Anjiu, L. (eds.), *The selected paper of basic integrated fish farming theory and fishery bioeconomic research*, Science Press, Beijing, China, :226-233.



## GLOSSAIRE

<b>Terme</b>	<b>Définition</b>
AC	Aliment conventionnel pour l'élevage de poissons
AD	Aliment distribué
AG	Aliment gaspillé apparent
AM	Aliment modifié pour augmenter la résistance mécanique de fèces de poissons
ANOVA	Analyse de variance
DBO	Demande biochimique en oxygène
CDA	Coefficient de digestibilité apparente
DST	Déchets solides totaux produits par les poissons
EFH	Efficacité du filtre mécanique HYDROTECH
EPP	Efficacité des pièges à particules
IC	Indice de conversion de l'aliment
IC-C	Indice de conversion du carbone
IC-N	Indice de conversion de l'azote
M CO <sub>2</sub>	Taux d'excrétion de CO <sub>2</sub> par les poissons
M O <sub>2</sub>	Taux de consommation de l'oxygène par les poissons
MES	Matière en suspension
NAT	Azote ammoniacal total
NI	Quantité d'azote ingéré par les poissons
NIT	Azote inorganique total dissous (NAT + N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Azote nitreux
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Azote nitrique
N-Urée	Azote uréique
PB	Concentration en protéines dans l'aliment
PNS	Production nette de solides par le bassin d'élevage
PNS <sub>R</sub>	Fraction de la production nette de solides qui entre à la boucle de traitement
Q <sub>BE</sub>	Débit d'eau dans le bassin d'élevage
Q <sub>PP</sub>	Débit d'eau dans le piège à particules
R.Q.	Quotient respiratoire (moles CO <sub>2</sub> excrétées/ moles O <sub>2</sub> consommées)
Recirc <sub>R</sub>	Reste des solides recyclés qui entrent à la boucle de traitement
R <sub>PNS</sub>	Solides générés dans le bassin d'élevage qui entrent dans la boucle de traitement
SBT	Flux de solides de la boucle de traitement
SET	Solides entrant à la boucle de traitement
SH	Solides évacués par le filtre mécanique HIDROTECH
SH <sub>PNS</sub>	Fraction de la production nette de solides qui est évacuée par le filtre mécanique HIDROTECH
SH <sub>Recirc</sub>	Fraction des solides recyclés qui sont évacués par le filtre mécanique HIDROTECH
SO	Système ouvert
SP	Solides collectés dans les pièges à particules
SR	Systèmes de recirculation
SR+Dissous	Système de recirculation sans poissons mais avec ajout de substances dissoutes (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> et NH <sub>4</sub> Cl)
SR+FD	Système de recirculation avec filtre à diatomées
SS	Solides en suspension
SS-après	Solides en suspension après la filtration mécanique

<b>Terme</b>	<b>Définition</b>
SS-avant	Solides en suspension avant la filtration mécanique
t	Temps
T	Température
TAJ	Taux d'alimentation journalier
TCJ	Taux de croissance journalier
N <sub>Kjeldhal</sub>	Azote Kjeldhal
UV	Ultra violet
W <sub>o</sub>	Poids moyen initial des poisson en élevage
ΔNAT	Taux de conversion de l'azote ammoniacal total oxydée par mètre cube de garnissage du filtre biologique
Δ <sup>13</sup> C	Différences isotopiques du carbone entre la matière entrante et sortante des processus étudiés
Δ <sup>15</sup> N	Différences isotopiques du carbone entre la matière entrante et sortante des processus étudiés
δ <sup>13</sup> C	Signatures isotopiques du carbone de l'échantillon
δ <sup>15</sup> N	Signatures isotopiques de l'azote de l'échantillon

## **ANNEXES**



**PARTICULATE MATTER DYNAMICS AND TRANSFORMATIONS IN A RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEM : Application of stable isotope tracers in a seabass rearing**

Miguel-Angel Franco-Nava<sup>1,2</sup>, Jean-Paul Blancheton<sup>1,a</sup>, Geneviève Deviller<sup>1</sup> and Jean-Yves Le-Gall<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>IFREMER-Palavas, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-les-flots, France. Tel:+(33)467504112,Fax:+(33)467682885.

e-mail<sup>a</sup> : [Jean.Paul.Blancheton@ifremer.fr](mailto:Jean.Paul.Blancheton@ifremer.fr)

<sup>2</sup>ENSAR, 65 rue de St Briec, CS 84215, 35042 - RENNES cedex, France.

**8.4. ABSTRACT**

The control of adverse effects and the possibility of removing suspended solids from recirculating aquaculture systems (RAS) are the principal challenges facing aquaculture engineers. However their dynamics and transformations are not yet well known. In this study, carbon and nitrogen stable isotopes values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) were used as tracers of particulate matter in a seabass RAS. An isotopic mixing model was employed to estimate the contributions of particulate sources. Feed (-22.1‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and 11.9‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ ), feces (-24.0‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and 6.4‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ ) and biofilm (-25.1‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and 12.9‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ ) were identified as main sources of particulate matter. The particle traps collected a mixing of 29% of uneaten feed and 71% of feces, when drum filter eliminated all remaining uneaten feed, shifting the isotopic signatures of suspended solids from -23.8‰ and 7.9‰ to -24.9‰ and 8.3‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  respectively. The fish muscle (-18.6‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and 15.4‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ ) could reflect the isotopic variability of feed ingredients accumulated over time. The isotopic shifts indicate that the contribution of three sources depends on: (1) fish metabolism, (2) water treatment devices and (3) bacterial bio-fouling into biofilter.

Keywords: C and N stable isotopes values, recirculating aquaculture system, particulate matter.

**Introduction**

The main transformation processes that occurs on particulate matter in a Recirculating Aquaculture System (RAS) are the metabolic utilization of feed by fish, the separation of different kind of particles by the particle control devices, and their utilization by bacteria as substrate. Solids derived from rearing tanks are composed of feces, unconsumed feed particles and bacterial colonized particles (Piedrahita et al., 1996), while a typical treatment loop produces bacterial biomass and retains an unknown quantity of particulate matter (Leonard et al., 2002). The nature of particulate wastes and the economics of the treatment processes dictate the choice of unit process and the disposal of aquacultural sludges (Chen et al., 1997; Cripps and Bergheim, 2000).

In a RAS, particulate matter has many detrimental effects on water quality. These effects result in high oxygen consumption, lower bio-nitrifying efficiency, high turbidity or the presence of pathogens (Skjølstrup et al., 1998; Singh et al., 1999; Cripps and Bergheim, 2000; Losordo and Hobbs, 2000; Malone and Beecher, 2000). Although management of particulate matter is one of key factors determining the success of RAS (Chen et al., 1994; Blancheton,

2000), their dynamics, composition and contribution of different kinds of materials to evacuated sludge and recirculated suspended particles are not yet well known.

In a natural environment, measurement of stable isotope abundance in organic matter provides a relatively straightforward method by which carbon and nitrogen fluxes can be determined (Carter et al., 1994; Fraser et al., 1998). They incorporate two kinds of information (source of organic matter and trophic position) and their use offers several advantages over radiotracer techniques. For this reason, stable isotope analysis was used to determine the sources and flow of organic matter in aquatic ecosystems (Hullar et al., 1996; Middelburg and Nieuwenhuize, 1998).

Fish liver is one of the most metabolically active tissues, while dorsal muscle has a slower turnover. Therefore, liver and white muscle are largely used as indicators of isotopic values in physiological and dietary reconstruction studies (Fry et al., 1999; Moeri et al., 2003). Isotopic composition in fish reflects either short-term or long-term fluctuations in feed depending on analyzed tissue. On the other hand, isotopic values of particulate suspended and sedimentary organic matter, in natural environment, contains information on the mixing of the various organic matter sources and their subsequent degradation history (Middelburg and Nieuwenhuize, 1998). This kind of information could be obtained from an aquacultural controlled environment, providing useful information on the effect of commercial or experimental fish feed on isotopic composition of reared fish. In the same way, isotopic analysis on particulate matter could help to know the decay level and potential risk of particulate waste accumulation into the RAS.

In this study, the values of stable carbon and nitrogen isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) were used to calculate the relative contributions of different particulate sources into recirculated and eliminated particulate matter of a RAS. This approach is based on the assumption that isotopic ratios are conservatives and that physical mixing of endmember sources determine the isotopic distribution of organic matter, as proved in ecological research (Fry and Arnold, 1982; Cifuentes et al., 1988; Fry, 1999; Machás and Santos, 1999).

## Materials and Methods

### Experimental RAS and rearing conditions

The experimental RAS described by Blancheton (2000) was used in this study (Figure 1). It was composed of two self-cleaning tanks of  $2\text{m}^3$  equipped with particle traps, connected to a treatment loop constituted by a drum screen filter ( $30\mu$ ), a pumping tank where pH and temperature were regulated, a UV-disinfection unit, a submerged nitrifying biofilter ( $0.7\text{m}^3$ ), a degassing unit and an oxygenation device. In this RAS, European seabass (*Dicentrarchus labrax*) were reared during several months, as part of a long-term (one year) research program where fish growth was evaluated monthly. The last six months of rearing time, fish were fed commercial extruded pellets (Le Gouessant, Extra-Natura, 5 mm, 44% proteins and 22% lipids) using self-feeders in order to avoid feed losses as described by Covès et al. (1998).

The contribution of main particulate matter sources to recirculated and eliminated particulate matter of the RAS was evaluated when the fish individual weight was  $511 \pm 2$  g ( $14.5 \pm 0.5$  kg  $\text{m}^{-3}$ ) during the last month of rearing time. During this period, the water temperature was maintained in  $21.8 \pm 0.3$  °C, salinity varied around of  $31.0 \pm 3.0\text{‰}$  and dissolved oxygen at the outlet of rearing tanks was controlled to  $8.6 \pm 2.5$  mg  $\text{l}^{-1}$ . The pH in pumping tank was controlled to  $7.1 \pm 0.6$  by NaOH additions with a peristaltic pump.

Samples of suspended matter ( $>1.2\mu\text{m}$ ) were collected twice per week during two weeks, at the inlet and outlet of each RAS components. Fish feces, trapped particles, retained particles by drum filter and samples of dissolved wastes (N-TAN and urea) from the rearing tanks were collected at the same periodicity. Samples of biofilm from biofilter packing as possible source of particulate matter were obtained, both at the beginning of evaluation period and at the end of rearing time (four weeks later). Feed was analyzed from a pooled sample of consumed feed during the evaluation period. Samples of fish tissues (liver and dorsal white muscle) were obtained in order to explore the effect of natural stable isotopic values in commercial feed on reared fish.

The different types of particulate matter in the RAS were classed according to their nature as shown in table 1. This classification denotes both a shared physical characteristic (density, size, and possible origin) and a position into the RAS, which were compared by their isotopic values. The sample's nomenclature and pooling strategy are also presented in table 1.

#### Sample collection and conservation

Trapped particles (TP) were collected from the particle traps (2 liters wet volume). They were concentrated by centrifugation (3750 rpm, 10 min). Due to large quantity of TP and high water content, dry frozen was carried out in order to avoid organic matter degradation during drying.

The retained particles by the drum filter (RP) were collected from the evacuation, settled for 1 hour in a 110L plastic tank and the supernatant was discarded. Then four 250 ml homogenized sub-samples were re-concentrated by settling. These samples dry quickly, thus they were oven dried at  $60^{\circ}\text{C}$  for 48 h.

Water samples from RAS (2 - 4 liters) were vacuum filtered through precombusted ( $450^{\circ}\text{C}$ , 4 h) Whatman GF/C filters in order to collect samples of suspended particles (SP), then rinsed with 25 ml Milli-Q water. As filters dry quickly, they were oven dried at  $60^{\circ}\text{C}$  for 48 h. The filtered water from inlet and outlet of rearing tanks were analyzed for N-TAN and urea with a Technicon® Autoanalyzer II, as described by Treguer and Le Corre (1974).

Prior to and after the experiments, a few grams of Biofilm were (scraped) brushed off from the biofilter packing, using a small amount of Milli-Q water. The biofilm sample was collected into aluminum cups, then frozen and dry frozen.

Only fecal materials (Feces) were collected at the bottom of pre-cleaned particle traps. These samples dry quickly, thus they were oven dried at  $60^{\circ}\text{C}$  for 48 h.

A combined sample (10 g) was composed of feed consumed during the evaluation period. The feed sample was hydrated with 5 ml of Milli-Q water per gram of feed during 30 min, then frozen and dry frozen. In this case, dry frozen also made easy to grind feed pellets.

At the end of the rearing period, a combined sample was composed of livers from six dissected fishes from rearing tanks. In the same way, from same fishes a combined sample of dorsal white muscle was obtained. This was done to minimise the variability associated with analyses of different individual organisms (Machás et Santos, 1999) . The samples were frozen and dry frozen.

## Isotope terminology

Carbon and Nitrogen both occur naturally as a mixture of two stable isotopes. The isotopic ratio (R) is the ratio of heavy to light isotopes in a sample ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  respectively). In most cases, the abundance of one isotope far exceeds the abundance of the other isotope. Therefore, R in most samples is a very small number, making necessary the use of another notation in order to make measurements of isotopic abundance of a manageable magnitude (Gannes et al., 1998). The isotope values ( $\delta$ ) are based on a comparison between R in a sample ( $R_s$ ) and R in a standard ( $R_{std}$ ). Thus isotope values are expressed as the normalized ratio of the sample to a standard, in parts per thousand (per mil, ‰) according to:

$$\delta^n X = [(R_s \times R_{std}^{-1}) - 1] \times 1000$$

Where  $^n X$  is the isotope of interest ( $^{13}\text{C}$  or  $^{15}\text{N}$  for this work).  $R_s$  is the isotopic ratio into the sample for the element of interest ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  or  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ).  $R_{std}$  is the isotopic ratio into the standard for the same element. A marine carbonate from a belemnite from the Peedee Formation (PDB) and atmospheric nitrogen are used as standards for carbon and nitrogen measurements respectively. Their shift, due to physical or chemical processes, is called fractionation (Peterson, 1999).

## C and N elemental and isotopic analyses

Sub-samples of TP, RP, Biofilm, Feces, Feed and fish tissues were ground to a fine powder and transferred to screw-capped glass vials. To remove inorganic carbon from the samples, approximately 100 mg of powdered samples was treated with 1 ml of 1.0 M HCl for 1 h and dried overnight at 60°C as described by Vouvé et al. (2000). Samples were finely ground and approximately 1 mg of de-carbonated matter was loaded into 5 x 9 mm tin capsules for carbon and nitrogen measurements and isotopic analysis.

The filters containing SP were de-carbonated overnight by vapor phase acidification within glass desiccator (Hedges and Stern, 1984; Benner et al., 1997). After evacuation of HCl vapors, a square of each filter (15 x 15 mm) was packed into 30 x 30 mm tin foil for carbon and nitrogen content and isotopic analysis.

The carbon and nitrogen contents of conditioned samples (in tin foil or tin capsules) were measured by combustion of prepared samples using a Carlo Erba CNH analyzer (Carlo Erba Instruments 1500).

It has been demonstrated that acidification of samples for decarbonation with or without removing the acid solution produced a variable enrichment (0.6‰ to 3.0‰) in  $^{15}\text{N}$  in samples (Bunn et al., 1995; Pinnegar and Polunin, 1999). This enrichment could make interpretations of trophic level difficult and affect conclusions regarding migration patterns or mass balance calculations (e.g., protein turnover, etc.). However, while acidification is a procedure that is still used, at present it is not well understood how and to what extent it affects the isotopic composition (Vizzini et al., 2002). Considering the utilization of isotopic values in the present work, the isotopic analysis of samples ( $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ ) were carried out on the same decarbonated sample as reported for marine particulate matter (Sigleo and Mako, 2002; Adin and Riera, 2003).

The isotopic analyses of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , were carried out in a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (CF-IRMS). During isotopic analyses, every ten samples were separated by

three laboratory standards using a Europa Scientific ANCA-NT 20-20 Stable Isotope Analyzer with ANCA-NT Solid/Liquid Preparation Module (PDZ Europa Ltd., Crewe, UK).

For samples containing around 10% N, the CF-IRMS was operated in the dual isotope mode, allowing  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  to be measured on the same sample. The analytical precision (SD, n=5) was 0.2‰ for both N and C, estimated from standards analyzed along with the samples. Working standards were 1 mg leucine prepared by dry frozen 50  $\mu\text{l}$  of a 20 mg  $\text{ml}^{-1}$  stock solution into the tin cups, and calibrated against ‘Europa flour’ and IAEA standards N1 and N2 (Schmidt et al., 1997).

#### Calculations and Statistical analysis

Nitrogen growth efficiency (NGE) of seabass was calculated using the following equations:

$$\underline{NGE} = \underline{FNG} \times \underline{NI}^{-1} \times 100$$

Where FNG is the fish nitrogen gain in grams; NI is the nitrogen intake in grams.

Protein turnover in fish is normally calculated from excretion measurements based on the following equation:

$$\underline{Z} = \underline{Q} - \underline{E_{TN}}$$

(Waterlow *et al.*, 1978; Carter et al., 1998), where  $Z$  (mmol N) represents protein synthesis,  $Q$  (mmol N) represents the nitrogen flux and  $E_{TN}$  represents the total nitrogen excretion (ammonia plus urea) over a period  $t$  (day). The protein synthesis ( $Z_N$ ) is calculated from the cumulative excretion ( $e^*$ ) of  $^{15}\text{N}_{\text{ammonia}}$  over time  $t$  after a dose ( $d^*$ ) of  $^{15}\text{N}$  using the following relation, where  $E_X$  is the total ammonia excretion over the time  $t$ .

$$e^* d^{*-1} = \underline{E_X} \times \underline{Q}^{-1} = \underline{E_X} \times (\underline{Z} + \underline{E_{TN}})^{-1}$$

In the present study, it is recognized that the protein content of the seabass may have changed during the experiment. However, because the feed was the same before and during the experiments and the fish growth was slow, it was assumed that whole protein content did not change over the evaluation period (Wootton, 1990; Carter et al., 1998). Therefore, the  $^{15}\text{N}$  retention efficiency ( $^{15}\text{N}_E$ ) was estimated as the ratio between the gained  $^{15}\text{N}$  by growth ( $g^*$ ) and the respective dose of  $^{15}\text{N}$  ( $d^*$ ) over the evaluation time using the following relation. Where  $g^*$  was calculated as  $\underline{R_{Fish}} \times \underline{FNG}$ , and  $d^*$  was calculated as  $\underline{R_{feed}} \times \underline{NI}$ .

$$^{15}\text{N}_E = g^* \times d^{*-1} \times 100$$

From feed composition and mean fish biomass, the metabolic fish respiration was calculated based on the Sanni and Forsberg (1996) model. In this case, oxygen consumption of fish was calculated using the model proposed by Lemarie et al. (1992).

Mean isotopic differences ( $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$ ) due to fish metabolism and to mechanical filtration, were calculated according the following equations:

$$\Delta^{13}\text{C} = \text{In } \delta^{13}\text{C} - \text{Out } \delta^{13}\text{C}$$

$$\Delta^{15}\text{N} = \text{In } \delta^{15}\text{N} - \text{Out } \delta^{15}\text{N}$$

Where:

In = Average isotopic signature of incoming particulate matter:

- a) Feed for fish metabolism
- b) Incoming suspended particles to drum filter (SP-Before), for mechanical filtration.

Out= Average isotopic signature of outgoing particulate matter:

- a) For fish metabolism:
  - i. Fish muscle
  - ii. Feces
- b) For mechanical filtration
  - i. Resultant suspended particles from drum filter (SP-After)
  - ii. Retained particles by drum filter (RP)

The significance of  $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$  for each case was established by comparisons between groups (feed vs. fish muscle, feed vs. feces, SP-Before vs. SP-After and SP-Before vs. RP). The mean or rank values were tested for significant difference after normality (Kolmogorov-Smirnov test) and equal variance tests (Levene Median test). Either t-test (a parametric test) or the Mann-Whitney Rank Sum Test (a nonparametric test) was executed in each case using SigmaStat for windows version 2.0 (© Copyright 1992-1995 Jandel Corporation).

An analysis of variance on ranks followed by a multiple comparisons test (Kruskal-Wallis test + Dunn's-test) was performed to compare different types of particulate matter, feed, feces, biofilm and fish tissues for either  $\delta^{13}\text{C}$  or  $\delta^{15}\text{N}$  values. Calculations were also performed in SigmaStat for windows version 2.0 (© Copyright 1992-1995 Jandel Corporation).

The relative contributions of each endmember ( $f_i$ ) to SP, TP and RP were estimated according to the following three-source mass balances (Saito et al., 2001; Harvey et al., 2002). Where "i" was Biofilm, Feces or Feed. In the calculation, average of isotopic values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) from all kinds of materials were employed. Furthermore, an optimization procedure (the Solver module in Microsoft Excel) was used to estimate  $f_i$  from the isotopic values of samples (Particulate Matter).

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{Particulate Matter}} = f_{\text{BIOFILM}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{BIOFILM}}) + f_{\text{FECES}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{FECES}}) + f_{\text{FEED}} (\delta^{13}\text{C}_{\text{FEED}})$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{Particulate Matter}} = f_{\text{BIOFILM}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{BIOFILM}}) + f_{\text{FECES}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{FECES}}) + f_{\text{FEED}} (\delta^{15}\text{N}_{\text{FEED}})$$

$$f_{\text{BIOFILM}} + f_{\text{FECES}} + f_{\text{FEED}} = 1$$

## Results

The distribution of elemental C and N from 1 kg of feed incoming into the rearing tank is shown in Table 2. The main factor affecting this distribution is the fish metabolism on feed composition, which determines the gain of these elements by fish as well as the proportion of solids and dissolved wastes. In the same table also are presented the isotopic values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of feed, fish muscle, TP and SP. Fish metabolism performance in the RAS during the 31 days of evaluation period is shown in Table 3.

### Isotopic differences

The isotopic differences between feed and the particulate metabolic products of fish (fish muscle and feces) are shown on Figure 2. The isotopic differences between SP-Before drum filter and the filtering products (SP-After and RP) are shown on same figure 2. An enrichment

of 3.5‰ and 3.6‰, for  $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$  respectively, was observed between feed and fish muscle (Mann-Whitney Rank Sum-Test,  $p < 0.01$  and t-test,  $p < 0.001$  for  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  respectively). On the other hand,  $\Delta^{13}\text{C}$  between feed and feces shown a depletion of -1.6‰ and -5.4‰ for  $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$  respectively (Mann-Whitney Rank Sum-Test,  $p < 0.01$  for both  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ ).

The mechanical filtration showed statistically significant differences (t-test,  $p < 0.001$ ) in  $\delta^{13}\text{C}$  of SP, from  $-23.8 \pm 0.7\text{‰}$  before drum filter to  $-24.9 \pm 0.6\text{‰}$  after filtration (fig. 2). While  $\delta^{15}\text{N}$  in SP did not show differences (t-test,  $p > 0.4$ ) before and after filtration, where their average isotopic value was  $8.2 \pm 1.9\text{‰}$ .

As expected, significant enrichment (Mann-Whitney Rank Sum-Test,  $p < 0.001$ ) was observed for  $\Delta^{13}\text{C}$  into RP by drum filter (-21.7‰) compared to SP-Before drum filter. Nevertheless,  $\Delta^{15}\text{N}$  of RP were enriched from  $7.9 \pm 1.9$  to  $11.5 \pm 1.3\text{‰}$  compared to SP-Before mechanical filtration (t-test,  $p < 0.001$ ).

### Source of particulate matter in the RAS

SP-Before mechanical filtration, were slightly depleted (-1.9‰) in  $\delta^{13}\text{C}$ , compared to feed (fig.3-a). This slight depletion confirms the preservation of  $\delta^{13}\text{C}$  signature of feed (first organic matter source) by fish digestion. Differences between SP-Before and feces were not found (Kruskal-Wallis test + Dunn's-test,  $p > 0.05$ ) and  $\delta^{13}\text{C}$  into biofilm was lower than feed (Kruskal-Wallis test + Dunn's-test,  $p < 0.05$ ).

Regarding all others comparisons, there was a difference between feces vs. muscle, feces vs. RP and feces vs. feed, for  $\delta^{13}\text{C}$  median values (Kruskal-Wallis test + Dunn's-test,  $p < 0.05$ ). In the same way, a statistical difference was observed between feed vs. SP-After, RP vs. Biofilm and RP vs. SP-Before. All other multiple comparisons by Dunn's-test were not significant ( $p > 0.05$ ).

After the Kruskal-Wallis test + Dunn's-test on  $\delta^{15}\text{N}$  values, no statistical difference was obtained ( $p > 0.05$ ) between feed, liver and RP. In the same way, the feces, TP and SP (both before and after drum filter) did not show statistical differences for median values of  $\delta^{15}\text{N}$  (Fig.3-b). The observed differences in  $\delta^{15}\text{N}$  were not greater than  $\pm 0.4\text{‰}$  regarding average values of feed, fish liver and RP. In the same way, a maximum difference of +1.7‰ was observed between feces, TP and SP (both before and after drum filter).

### Contribution of different sources to particulate matter

Weight percentage of organic carbon correlates positively with weight percentage of total nitrogen for all samples, excluding fish tissues values (Figure 4). The best fit line for this positive correlation passes very close to the origin, suggesting that total nitrogen can be used as an estimation of organic nitrogen (Hedges *et al.*, 1986). Thus, although C/N ratios reported here are strictly  $C_{\text{organic}}/N_{\text{total}}$ , they can be taken to approximate  $C_{\text{organic}}/N_{\text{organic}}$  ratios (Cifuentes *et al.*, 1996).

The isotopic values of SP, TP, RP, feed, biofilm, feces and fish tissues are shown in Figure 5a. The  $\delta^{13}\text{C}$  versus  $\delta^{15}\text{N}$  plot separates the three end-members (feed, feces and biofilm), whereas the  $\delta^{15}\text{N}$  versus C/N ratio diagram (fig 5b) does not allow distinction between feed and biofilm. The  $\delta^{13}\text{C}$  versus C/N plots also separate the three end-members, however, TP and RP seem to be out of range for a prediction using a three sources mixing model (fig 5c).

Therefore, From these plots we can distinguish: 1) Three possible sources to constitute SP, RP and TP, and 2) Two types of SP depending on their position respect to drum filter.

The results of isotopic mixing model are show in table 4. The SP-Before the drum filter are rich in feed (19.9%) and SP-After the drum filter are riche in biofilm (32.5%). No trace of feed was found in SP-After the drum filter (particles in treatment loop) and the proportion of feces in both types of SP fluctuated from 72.8 to 67.5%. Regarding TP, an average proportion 28.8% of feed remains mixed with 71.2% of feces (fig 5), similarly to SP-Before mechanical filtration, although the residues of feed in suspended solids were entirely eliminated from the RAS by the drum filter.

Regarding the estimation of contribution from different sources to SP applying the C/N vs.  $\delta^{13}\text{C}$  relation (Fig 5c), SP-Before mechanical filter contained 41% of biofilm, 25% of feed and 34% of feces. While SP-After mechanical filter contained 60% of biofilm, 9% of feed and 31% of feces.

## Discussion

This study demonstrates the practicability of isotopic analysis to trace particulate matter in recirculating aquaculture facilities. The isotopic values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) in different types of particulate matter allowed to distinguish their origins and decay level into the RAS. The strength of this approach is based on the assumption that isotopic ratios are conservatives and that physical mixing of endmember sources determines the isotopic distribution of organic matter, as proved in natural ecosystems (Fry and Arnold, 1982; Cifuentes et al., 1988; Machás and Santos, 1999).

In our study, suspended matter was made up of particles ranging from 1,2  $\mu\text{m}$  to a few mm, depending on the sampling point. These different particles didn't show the same elemental and isotopic values. Hence isotopic analysis of different size / density fractions (suspended, trapped and retained particles) allowed us to employ their isotopic signatures as proposed by Midelburg and Nieuwenhuize (1998), in order to assert whether different organic components compose the particulate matter.

### Isotopic differences

In aquacultural activities, the feed comes from fish caught from wild fish stocks, where the variability of fishing zone and fish species suggests a large variability on feed's isotopic values. This variability could affect observed  $\Delta^{13}\text{C}$  between feed and fish muscle (long-term integrator). While  $\Delta^{13}\text{C}$  between feed and fish liver was not superior to 2‰, reflecting recent ingested feed as it has largely been demonstrated. Even if the present work is not a dietary reconstruction study, isotopic values in fish tissues could reflect the effect of variability of carbon sources in commercial feed on isotopic composition of reared fish.

The  $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$  between feed and feces can be attributed to fish digestion. However, the  $\Delta^{15}\text{N}$  depletion (-5.4‰) is two times greater than reported by McGhie et al. (2000) for salmonids in cages. Differences in species metabolism and sampling strategy of rearing systems may explain this discrepancy.

The NGE calculated (23.9%) is close to 26% reported by Ballestrazzi and Lanari (1996) for seabass fed with a diet rich in proteins (> 50% DW), while the  $^{15}\text{N}_E$  (24.0%) has practically the same value that NGE. This observation confirms the practicability of NGE as good indicator of efficiency in protein synthesis. The  $^{15}\text{N}$  enrichment observed between feed and fish muscle can be explained by the metabolism of nitrogen: the light isotope is concentrated

in nitrogenous excretion products, while the heavy isotope is retained in muscle (Peterson, 1999).

An enrichment of about 3‰–4‰ per trophic level, greater than with  $\delta^{13}\text{C}$ , is characteristic in  $\delta^{15}\text{N}$  (Michener and Schell 1994; Saito et al., 2001). In addition,  $\delta^{15}\text{N}$  provides useful information to evaluate food web transfer of organic matter (Cabana and Rasmussen, 1994). In our case (fig.3-b), an enrichment of +3.6‰ from feed to fish muscle and a depletion of -5.4‰ from feed to feces is in accordance with the results reported by several authors (Kling et al., 1992; Yoshioka et al., 1994; Persson and Hansson, 1999; Peterson, 1999).

The mechanical separation of two types of particles was highlighted by isotopic shifts of  $\Delta^{13}\text{C}$  between SP-Before and SP-After drum filter (fig. 2). In the same way, C/N ratio was depleted from  $6.18 \pm 0.6$  to  $5.06 \pm 1.07$ . In both cases, non-digestible polymers contained in feed could explain the shift observed only for  $\delta^{13}\text{C}$ . These big particles (>30  $\mu\text{m}$ ) were possibly created during the feed manufacturing process where large size particles (0.8-2.0 mm) and polymers up to 20 $\mu\text{m}$  were reported in raw materials used for extrusion cooking by Guy (2001).

In addition, the same author explained how other raw polymers may grow to about 10  $\mu\text{m}$  in diameter and fuse together during extrusion to form a larger lenticular granule of 20–40  $\mu\text{m}$ . In our case, residual feed particles (>30 $\mu\text{m}$ ) could be retained by the mesh of the drum filter and evacuated from the RAS. This hypothesis was confirmed by the isotopic shift only in  $\delta^{13}\text{C}$  and the diminution of C/N ratio in SP-After drum. In spite of this phenomenon, the isotopic value of RP showed an identical isotopic value to feed (t-test,  $p>0.1$  and t-test,  $p>0.6$  for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  respectively) although filtered bio-flocks could be a source of nitrogen for isotopic enrichment.

#### Source of particulate matter in the RAS

In aquatic food web studies, shifts of  $\pm 2.0\%$  in  $\delta^{13}\text{C}$  values are used to demonstrate that the isotopic value of the main source of organic matter is preserved through several trophic levels (Peterson and Fry 1987; Saito et al., 2001). In this study, the  $\delta^{13}\text{C}$  value of feed (first organic matter source) is likely to be preserved by the evacuation devices, which was demonstrated by the slight depletion (<3‰) of  $\delta^{13}\text{C}$  in the three kinds of particulate matter (SP, TP and RP) compared to feed. Therefore, their isotopic values shown only one source of carbon issued from feed (fig.3-a).

As consumers of excreted dissolved constituents and colonizers of partially degraded particles, heterotrophic bacteria and other members of the microbial consortia are the primary recyclers of organic matter in a RAS. Moreover, in the same RAS, Leonard et al. (2002) found that the quantity of dissolved available carbon was not the limiting factor for heterotrophic bacterial growth. Hence, the heterotrophic catabolism of organic matter in the RAS is directly limited by availability of particulate matter.

In the same way, the biochemical composition of bacteria is generally similar to the organic matrix that surrounds them (Harvey and Macko, 1997) and sometimes this postulate can be applied to isotopic composition. Bacterial cells growing on a single carbon compound generally reflect the  $\delta^{13}\text{C}$  of the source (Blair et al., 1985). In addition, because there is little isotopic shift from the source to the bacterial biomass or respired  $\text{CO}_2$  produced (Hullar et al., 1996), we can consider that carbon recycling by bacterial consortia in a RAS do not produce a significant shift on  $\delta^{13}\text{C}$  of biofilm. This hypothesis was confirmed by the isotopic measurements (fig.3-a) that have not reflected differences (Kruskal-Wallis test + Dunn's-test,  $p>0.05$ ) between  $\delta^{13}\text{C}$  in biofilm and  $\delta^{13}\text{C}$  in feces.

In the present study,  $\delta^{15}\text{N}$  values are considered as an indicator of biochemical transformation on particulate matter in the RAS. Guo et al. (2003), reported that  $\delta^{15}\text{N}$  values decrease with decreasing size of natural organic matter. Same authors suggest that different size fractions of natural organic matter (particulate, colloidal or dissolved) could have varying biogeochemical pathways or environmental behaviors in the aquatic environment, consistent with their different apparent ages ( $^{14}\text{C}$ ). In our case, feces, TP and SP shown the same decay level respect to feed, while RP and biofilm are in the same level that feed. In the first case, fish digestion shifted  $\delta^{15}\text{N}$  values of feed to feces, which represent the main constituent of TP and SP. On the other hand, RP does not seem to be affected by fish digestion reflecting the same  $\delta^{15}\text{N}$  values that feed. Where, nitrogen microbial transformations in Biofilm are an important factor that could explain their  $\delta^{15}\text{N}$  value.

In many marine and lacustrine sediment trap studies, microbial degradation of particulate matter has been associated with an increase in the  $\delta^{15}\text{N}$  value of the residual organic matter (up to 6‰) as a result of discrimination against  $^{15}\text{N}$  during metabolic reactions (Saino and Hattori, 1987; Altabet 1998; Fry et al., 1991). An increase in sedimentary  $\delta^{15}\text{N}$  with depth in sediments of the eastern subtropical Atlantic has recently been related to organic matter loss during early diagenesis (Freudenthal et al., 2001). Libes and Deuser (1988) reported a  $^{15}\text{N}$ -enrichment under oxic and a  $^{15}\text{N}$ -depletion under anoxic conditions and attributed this difference to the type and degree of microbial activity. In the present study, the relative high number of processes that occur in biofilm by the recirculating of both dissolved and particulate matter, explain their high  $\delta^{15}\text{N}$  value respect to the SP-After drum filter. Variations in  $\delta^{13}\text{C}$  of particulate matter has been related to a variety of processes, including changes in species composition, phytoplankton growth rates, temperature and aqueous  $\text{CO}_2$  concentration (Ostrom et al., 1997). In a nitrifying biofilm, Nitrobacter and Nitrosomonas are the main constituents of bacterial consortia which could affect the  $\delta^{13}\text{C}$  of biofilm.

#### Contributions of different sources to particulate matter

The C/N ratio is often indicative of the predominant source of organic matter in a system. Phytoplankton C/N range from 7.7 to 10.1 (Holligan et al., 1984). Bacterioplankton are nitrogen-rich and have C/N from 2.6 to 4.3 (Lee and Fuhrman, 1987). In the present study, C/N in SP could be largely affected by bacterial colonization, making difficult the estimation of feces or feed as main sources of particles. Moreover, dissolved nitrogen immobilization by bacteria in biofilm could have determined their C/N ratio and isotopic composition  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ .

The proportion of three hypothetical sources employed in the mixing model was obtained from average values of each type of sample. However, the average value of SP-After the drum filter was out of range from three sources triangle (negative value was obtained for feed proportion). For this reason, a new constraint (feed proportion=0) was included in the solver module, in order to calculate the contribution of feces and biofilm in SP-After drum filter. The same situation was found when the calculation of feed and feces contributions was done on TP. In this case, the constraint biofilm proportion=0 was included into the solver module.

We consider that most of new particles produced by the biofilter, are very labile and therefore decomposed before they are evacuated by the control particle devices (drum filter and solids traps). Consequently, sediment in the pumping tank may contain a mixing of feces, biofilm and refractory compounds.

## Conclusions

Feed, feces and biofilm are the main sources of particulate matter in a RAS as the comparison of their  $\delta^{13}\text{C}$  vs.  $\delta^{15}\text{N}$  plot has demonstrated. Fish muscle reflects the isotopic integration of feed on rearing time, when the fish liver reflects the isotopic composition of recent feed. Trapped, retained and suspended particles has characteristic isotopic values that made possible the utilization of three-source mixing models in order to calculate the relative contribution of the main sources.

The isotopic values of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  can be used to trace main transformations of feed, feces, feed and different types of particulate matter (suspended, trapped and retained) throughout the recirculating aquaculture facilities. Particulate matter constitutes a complex mixture of detrital and living materials from feed, fish feces and *in situ* transformation during its recirculation in the RAS.

The isotopic shifts indicate that the contribution of the three sources (feed, feces and biofilm) depends on (1) the fish metabolism, (2) the water treatment devices and (3) the bacterial bio-fouling into the biofilter. Stable isotope measurements could help to understand the fluxes and transformations of particulate matter in recirculating aquaculture facilities. Therefore, this knowledge can be a powerful tool for the RAS management, for modeling particulate matter transformations and to define new control devices.

## Acknowledgements

We would like to thank the three anonymous referees for their helpful suggestions. The work reported in this publication was supported by the IFREMER (France) and by a doctoral scholarship to M.A.F.N. at ENSAR (France) from Secretaría de Educación Pública, México. (SEP-COSNET-DGECyTM; 99271P).

## References

- Adin, R., Riera, P., 2003. Preferential food source utilization among stranded macroalgae by *Talitrus saltator* (Amphipod, Talitridae): a stable isotopes study in the northern coast of Brittany (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56, 91–98.
- Altabet, M.A., 1998. Variations in nitrogen isotopic composition between sinking and suspended particles: implications for nitrogen cycling and particle transformation in the open ocean. *Deep-Sea Research Part I* 4(35), 535–554.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., 1996. Growth, body composition and nutrient retention efficiency of growing seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed fish oil or fatty acid Ca salts. *Aquaculture* 139(1-2), 99-107.
- Benner, R., Biddana, B., Black, B., McCarthy, M., 1997. Abundance, size distribution, and stable carbon and nitrogen isotopic composition of marine organic matter isolated by tangential-flow ultrafiltration. *Marine chemistry* 57, 243-263.
- Blair, N., Leu, A., Muñoz, E., Olsen, J., Kwong, E., Des Marais, D., 1985. Carbon isotopic fractionation in heterotrophic microbial metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 50 , 996-1001.
- Blancheton, J.P., 2000. Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species. *Aquacultural Engineering* 22, 17-31.
- Bunn, S.E., Loneragan, N.R., Kempster, M.A., 1995. Effects of acid washing on stable isotopes ratio for C and N in penaeid shrimp and seagrass: implications for food web studies using multiple stable isotopes. *Limnology and Oceanography* 40, 622-625.
- Cabana, G., Rasmussen, J. B. 1994. Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature* 372 , 255-257.

- Carter, C.G., Houlihan, D.F., Owen, S.F., 1998. Protein synthesis, nitrogen excretion and long-term growth of juvenile *Pleuronectes flesus*. *Journal of Fish Biology* 53, 272-284.
- Carter, C.G., Owen, S.F., He, Z.Y., Watt, P.W., Scrimgeour, C., Houlihan, D.F., Rennie, M.J., 1994. Determination of protein synthesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using a stable isotope. *Journal of experimental biology* 189, 279-284.
- Chen, S., Coffin, D.E., Malone, R.F., 1997. Sludge production and management for recirculating aquacultural systems. *Journal of the World Aquaculture Society* 4(28), 303-315.
- Chen, S., Stechey, D., Malone, R.F., 1994. Suspended solids control in recirculating aquaculture systems. In: Timmons, M.B., Losordo, T.M. (Eds.), *Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management. Development in Aquaculture and Fisheries Sciences*, vol. 27. Elsevier, Amsterdam, 61-100.
- Cifuentes, L.A., Sharp, J.H., Fogel, M.L., 1988. Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnol. Oceanogr.* 33, 1102-1115.
- Cifuentes, L.A., Coffin R. B., Solorzano, L., Cardenas, W., Espinoza, J., Twilley, R. R., 1996. Isotopic and Elemental Variations of Carbon and Nitrogen in a Mangrove Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 43 , 781-800.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way to avoiding feed wastage in European seabass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquatic Living Resources* 11(6), 395-401.
- Cripps, S.J., Bergheim, A., 2000. Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering* 22 , 33-56.
- Fraser, K.P.P., Lyndon, A.R., Houlihan, D.F., 1998. Protein synthesis and growth in juvenile Atlantic halibut, *Hyppoglossus hyppoglossus* (L.): application of <sup>15</sup>N stable isotope tracer. *Aquaculture research* 29, 289-298.
- Freudenthal, T., Wagner, T., Wenzhöfer, F., Zabel, M., Wefer, G., 2001. Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: Evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 11(65) , 1795-1808.
- Fry, B., 1999. Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56, 2167-2171.
- Fry, B., Arnold, C., 1982. Rapid <sup>13</sup>C/<sup>14</sup>C turnover during growth of brown shrimp (*Pennaeus aztecus*), *Oecologia* 54, 200-204.
- Fry, B., Jannasch, H.W., Molyneaux, S.J., Wirsén, C.O., Muramoto, J.A., King, S., 1991. Stable isotope studies of the carbon, nitrogen and sulfur cycles in the Black Sea and the Cariaco Trench. *Deep-Sea Research Part I. Suppl 2A* (38), S1003-S1019.
- Fry, B., Mumford, P.L., Tam, F., Fox, D.D., Warren, G.L., Hevans, K.E., Steinman, A.D., 1999. Trophic position and individual feeding histories of fish from Lake Okeechobee, Florida. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56, 590-600.
- Gannes, L.Z., Martínez del Rio, C., Koch, P., 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comparative Biochemistry Physiology Part A: Physiology* 3(119), 725-737.
- Guo, L., Lehner, J.K., White, D.M., Garland, D.S., 2003. Heterogeneity of natural organic matter from the Chena River, Alaska. *Water research* 37, 1015-1022.
- Guy, R. 2001. Raw materials for extrusion cooking. In: Guy R. (Ed.), *Extrusion cooking Technologies and applications*, CRC Press.
- Harvey, C.J., Hanson, P.C., Essington, T.E., Brown, P.B., Kitchell, J.F., 2002. Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59, 115-124.
- Harvey, H.R., Macko, S.A., 1997. Catalysis or contributors? Tracking bacterial mediation of early diagenesis in the marine water column. *Org. Geochem.* 9(26), 531-544.
- Hedges, J., Clark, W., Quay, P., Richey, J., Devol, A., Santos, U. D. M., 1986. Compositions and fluxes of particulate organic material in the Amazon River. *Limnology and Oceanography* 31, 717-738.

- Hedges, J., Stern, J.H., 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate containing solids. *Limnology and Oceanography* 29, 657-663.
- Holligan, P.M., Harris, R., Newell, R.C., Harbour, D.S., Head, R.N., Linley, E.A.S., Lucas, M.I., Tranter, P.R.G., Weekley, C.M., 1984. Vertical distribution and partitioning of organic carbon in mixed, frontal and stratified waters of the English Channel. *Marine Ecology Progress Series* 14, 111-127.
- Hullar, M.A.J., Fry, B., Peterson, B.J., Wright, R.T., 1996. Microbial utilization of estuarine dissolved organic carbon: a stable isotope tracer approach tested by mass balance. *Applied and environmental microbiology* 7(62), 2489-2493.
- Kling, G.W., Fry, B., O'Brien, W.J., 1992. Stable isotopes and planktonic trophic structure in arctic lakes. *Ecology* 2(73), 561-566.
- Lee, S. H., Fuhrman, J. A., 1987. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 1298-1303.
- Lemarie, G., Gasset, E., Cam, D., de La Fonchais, E., 1992. Modélisation de la consommation en oxygène du loup (*Dicentrarchus labrax* L.) et de la daurade (*Spaurus auratus* L.). *Ichthyophysiological Acta*, 15, 55-68.
- Leonard, N., Guiraud, J.P., Gasset, E., Cailleres, J.P., Blancheton, J.P., 2002. Bacteria and nutrients-nitrogen and carbon –in a recirculating system for seabass production. *Aquacultural Engineering* 26, 111-127.
- Libes, S.M., Deuser, W.G., 1998. The isotope geochemistry of particulate nitrogen in the Peru upwelling area and the Gulf of Maine. *Deep-Sea Research Part I* 4(35), 517-533.
- Losordo, T.M., Hobbs, A.O., 2000. Using computer spreadsheets for water flow and biofilter sizing in recirculating aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering* 23, 95-102.
- Machás, R., Santos, R., 1999. Source of organic matter in Ria Formosa revealed by stable isotope analysis, *Acta Oecologica* 20(4), 463-469.
- Malone, R.F., Beecher, L.E., 2000. Use of floating bead filters to recondition recirculating waters in warmwater aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering* 22, 57-73.
- McGhie, T.K., Crawford, C.M., Mitchell, I.M., O'Brien, D., 2000. The degradation of fish-cage waste in sediments during fallowing. *Aquaculture* 187, 351-366.
- Michener, R.H., Schell, D.M., 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K, Michener R.H, (Eds.), *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Oxford (UK): Blackwell Scientific Publications. 137-57.
- Middelburg, J.J., Nieuwenhuize, J., 1998. Carbon and nitrogen stable isotopes in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary. *Marine chemistry* 60, 217-225.
- Moeri, O., Sternberg, L.Y.L., Rodicio, L.P., Walsh, P.J., 2003. Direct effects of ambient ammonia on the nitrogen isotope ratios of fish tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 1-2(282), 61-66.
- Ostrom, N.E., Macko, S.A., Deibel, D., Thompson, R.J., 1997. Seasonal variation in the stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry of a coastal cold ocean environment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 14(61), 2929-2942.
- Persson, A., Hansson, L.A., 1999. Diet shift in fish following competitive release. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56, 70-78.
- Peterson, B.J., 1999. Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: A review. *Acta Oecologica* 20 (4), 479-487.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Systematics* 18, 293-320.
- Piedrahita, R.H., Fitzsimmons, K., Zachritz, W.H.II., Brockway, C., 1996. *Aquaculture Engineering Society. Proceedings II: Successes and failures in commercial recirculating aquaculture conf., Roanoke, VA (USA), 19-21 Jul., (1), 141-150.*

- Pinnegar, J.K., Polunin, N.V.C., 1999. Differential fractions of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology* 13, 225-231.
- Saino, T. Hattori, A., 1987. Geographical variation of the water column distribution of suspended particulate organic nitrogen and its  $^{15}\text{N}$  natural abundance in the Pacific and its marginal seas. *Deep-Sea Research Part I* 5/6(34), 807–827.
- Saito, L., Johnson, B.M., Bartholow, J., Blair Hanna, R., 2001. Assessing ecosystem effects of reservoir operations using food web-energy transfer and water quality models. *Ecosystems* 4, 105-125.
- Sanni, S., Forsberg, O.I., 1996. Modeling pH and carbon dioxide in single-pass sea-water aquaculture systems. *Aquacultural engineering* 2(15), 91-110.
- Schmidt, O., Scrimgeour, C.M., Handley, L.L., 1997. Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  in earthworms from a wheat and a wheat-clover field. *Soil biology and biochemistry* 9/10(29), 1301-1308.
- Sigleo, A.C., Macko, S.A., 2002. Carbon and Nitrogen isotopes in suspended particles and colloids, Chesapeake and San Francisco Estuaries, U.S.A. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 701–711.
- Singh, S., Ebeling, J., Wheaton, F., 1999. Water quality trials in four recirculating aquacultural system configurations. *Aquacultural Engineering* 20 , 75–84.
- Skjølstrup, J., Nielsen, P.H., Frier, J.O. , McLean, E., 1998. Performance characteristics of fluidised bed biofilters in a novel laboratory-scale recirculation system for rainbow trout: nitrification rates, oxygen consumption and sludge collection. *Aquacultural Engineering* 18 , 265–276.
- Treguer, P., Le Corre, P., 1974. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'auto-analyseur II, Technicon ® , Université de Bretagne Occidentale (Publisher), Brest, France, 110 p.
- Vizzini, S., Sarà, G., Michener, R.H., Mazzola, A., 2002. The role and contribution of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile organic matter for secondary consumers as revealed by carbon and nitrogen stable isotope analysis. *Acta Oecologica* 23, 277–285.
- Vouvé, F., Guiraud, G., Marol, Ch., Girard, M., Richard, P. Laima, M.J.C., 2000.  $\text{NH}_4^+$  turnover in intertidal sediments of Marennes-Oléron Bay (France): effect of sediment temperature. *Oceanologica Acta* 5(23), 575–584.
- Waterlow, J.C., Garlick, P.J., Millward, D.J., 1978. Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body. Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- Wootton, R.J., 1990. Ecology of Teleost Fishes. London, Chapman & Hall. 404 p.
- Yoshioka, T., Wada, E., Hayashi, H., 1994. A stable isotope study on seasonal food web dynamics in a eutrophic lake. *Ecology* 3(75), 835-846.

Table 1. Classification of individual and pooled samples and for isotopic analysis as function of their nature and position into the recirculating system.

Nature of sample	Sample nomenclature	Sampling point	Number of sampling points into the RAS	Sampling days	Type of sample	Total of samples for analysis
Suspended solids (>1.2µm)	SP-Before	O-rearing tank	2	4	Individual	16
		O-Particle traps	2	4	Individual	
	SP-After	O-Drum filter	1	4	Individual	20
		I-Biofilter	1	4	Individual	
		O-Biofilter	1	4	Individual	
		I-Rearing tank	2	4	Individual	
Trapped solids	TP	Particle traps	2	4	Individual	8
Retained particles by drum filter	RP	Drum filter drain	1 <sup>1</sup>	4	Pooled	12
Fish feces	Feces	Pre-cleaned particle traps	2	4	Individual	8
Biofilm	Biofilm	Biofilter packing	1	2	Pooled	5
Commercial Fish feed	Feed	Feed distributor	2	15	Pooled	5
Fish tissues	Liver	Dissected fish	2 <sup>2</sup>	1	Pooled	5
	Muscle	Dissected fish (white muscle)	2 <sup>2</sup>	1	Pooled	5

<sup>1</sup> Four sub-samples were collected from the drum filter drain each sampling day

<sup>2</sup> Six fish from rearing tanks were dissected to compose the pooled samples of each tissue.

O = Output

I = Input

Before = Before the drum filter

After = After the drum filter

Table 2. Distribution of C and N (C/N ratio, elemental and isotopic values) from 1 kg of feed incoming into the rearing tank on fish growth and waste production in recirculating conditions (mean  $\pm$  S.D.)

	Dry matter (g kg <sup>-1</sup> feed <sup>-1</sup> )	C (g kg <sup>-1</sup> feed <sup>-1</sup> )	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	N (g kg <sup>-1</sup> feed <sup>-1</sup> )	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	C/N
Feed	895.00 (10.00)	361.74 (6.72)	-22.05 (0.29)	76.14 (3.87)	11.85 (0.21)	5.27
Fish growth <sup>1</sup>	238.57 (22.83)	122.92 (10.82)	-18.56 (0.15)	18.19 (1.60)	15.44 (0.25)	7.19
Solid wastes Settable <sup>2</sup>	141.69 (29.06)	20.78 (3.53)	-22.75 (0.28)	2.20 (0.36)	7.82 (1.25)	10.33
Non settable <sup>3</sup>	139.09 (36.98)	34.30 (6.73)	-23.75 (0.73)	3.24 (0.85)	7.94 (1.90)	8.20
Dissolved wastes						
Organic (urea)		2.30 (0.40)		5.29 (0.92)		
Inorganic (C-CO <sub>2</sub> , N-TAN) <sup>4</sup>		197.77 (18.93)		29.66 (8.59)		

<sup>1</sup> Fish growth = whole fish weigh gain for C and N, where isotopic values ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) were measured on fish muscle.

<sup>2</sup> Settable wastes = Trapped particles (TP)

<sup>3</sup> Non settable wastes = Suspended Particles before mechanical filtration (SP-Before drum)

<sup>4</sup> C-CO<sub>2</sub> calculated from Sanni and Forsberg (1996) model; N-TAN = N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

Table 3. Metabolic performances of seabass (*Dicentrarchus labrax*) in a recirculating aquaculture system

---

FCE <sup>1</sup>	0.65
NGE (%) <sup>2</sup>	23.90
<sup>15</sup> N <sub>E</sub> (%) <sup>3</sup>	23.97
Respiration <sup>4</sup> (g O <sub>2</sub> Kg <sub>feed</sub> <sup>-1</sup> )	655.12
Heat production <sup>5</sup> (Mj Kg <sub>feed</sub> <sup>-1</sup> )	8.91

---

<sup>1</sup> Feed conversion efficiency calculated as:  $FCE = (\text{fish weight gain, g}) \times (\text{feed intake, g})^{-1}$

<sup>2</sup> Nitrogen growth efficiency calculated as:  $NGE = (\text{fish nitrogen gain, g}) \times (\text{Nitrogen intake, g})^{-1} \times 100$

<sup>3</sup> Isotopic <sup>15</sup>N retention efficiency calculated as:

$^{15}\text{N}_E = (R_{\text{fish}} \times \text{fish nitrogen gain, g}) \times (R_{\text{feed}} \times \text{nitrogen intake, g})^{-1} \times 100$

<sup>4</sup> Fish respiration calculated from Lemarie et al. (1992) model

<sup>5</sup> Heat production calculated as  $\text{Heat} = (\text{fish respiration, gO}_2) \times (13.6, \text{Kj gO}_2^{-1})$

Table 4. Results of the isotopic mixing model for the contribution (f) of different sources to particulate matter in a recirculating system for seabass (*Dicentrarchus labrax*).  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  as average  $\pm$  s.d. (n).

Sample nomenclature	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$f_{\text{BIOFILM}}$ (%)	$f_{\text{FECES}}$ (%)	$f_{\text{FEED}}$ (%)	8.4.1.1. Contraintes
SP-Before	-23.8 $\pm 0.7$ (16)	7.9 $\pm 1.9$ (16)	7.3	72.8	19.9	$f_{\text{BIOFILM}} + f_{\text{FECES}} + f_{\text{FEED}} = 100$ $f_{\text{BIOFILM}} \geq 0$ $f_{\text{FECES}} \geq 0$ $f_{\text{FEED}} \geq 0$
SP-After	-24.8 $\pm 0.6$ (20)	8.3 $\pm 1.9$ (20)	32.5	67.5	0.0	$f_{\text{BIOFILM}} + f_{\text{FECES}} + f_{\text{FEED}} = 100$ $f_{\text{BIOFILM}} \geq 0$ $f_{\text{FECES}} \geq 0$ $f_{\text{FEED}} = 0$
TP	-22.7 $\pm 0.3$ (8)	7.8 $\pm 1.2$ (8)	0.0	71.2	28.8	$f_{\text{BIOFILM}} + f_{\text{FECES}} + f_{\text{FEED}} = 100$ $f_{\text{BIOFILM}} = 0$ $f_{\text{FECES}} \geq 0$ $f_{\text{FEED}} \geq 0$
Particulate matter Sources						
8.4.	-25.1 $\pm 1.6$ (5)	12.5 $\pm 0.7$ (5)	100.0	0.0	0.0	
8.4.	-24.0 $\pm 1.0$ (8)	6.4 $\pm 1.1$ (8)	0.0	100.0	0.0	
8.4.	-22.0 $\pm 0.3$ (5)	11.8 $\pm 0.2$ (5)	0.0	0.0	100.0	

SP-Before = Suspended particles before the drum filter

SP-After = Suspended particles after the drum filter

TP = Trapped particles into the particles traps

- Figure 1. Experimental recirculating aquaculture system composed by: (1) Two self-cleaning tanks (only one is shown). Particle control devices, (2) Drum screen filter, (3) Particle trap. Water treatment loop (4) Pumping tank where pH and temperature are regulated; (5) Pump, (6) UV disinfection unit, (7) Submerged nitrifying biofilter, (8) Degassing unit, (9) Oxygenation device and (10) Self-feeding system.
- Figure 2. Isotopic differences produced by the mean process in a recirculating aquaculture system (mean values  $\pm$  s.d. of differences). The bars represent the isotopic shift between input and output matter of A) fish digestion (feed to muscle, feed to feces) and B) mechanical filtration (before filter to after filter, before filter to filtered)
- Figure 3. Box plots of  $\delta^{13}\text{C}$  (a) and  $\delta^{15}\text{N}$  (b) in samples of suspended particles (SP), trapped particles (TP), retained particles by the drum filter (RP), biofilm, fish tissues (liver and muscle), fish feces and feed from the recirculating system. Median (solid line) and mean (dotted line) are showed. The boxes represent from 25<sup>th</sup> to 75<sup>th</sup> percentiles and whiskers indicate the 10<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles.
- Figure 4. Weight content of organic carbon (Wt %  $\text{C}_{\text{org}}$ ) vs. weight content of total nitrogen (Wt % total N) in samples of suspended particles (SP), trapped particles (TP), retained particles by the drum filter (RP), biofilm, fish feces and feed from the recirculating system.
- Figure 5. Isotopic signatures and their relation with C/N ratio of suspended particles before the drum filter (SP-Before), suspended particles after the drum filter (SP-After), trapped particles (TP), retained particles by the drum filter (RP), biofilm, fish tissues (liver and muscle), fish feces and feed in a recirculating aquaculture system (mean  $\pm$  s.d.). a)  $\delta^{13}\text{C}$  vs.  $\delta^{15}\text{N}$ , b)  $\delta^{15}\text{N}$  vs. C/N and c)  $\delta^{13}\text{C}$  vs. C/N.

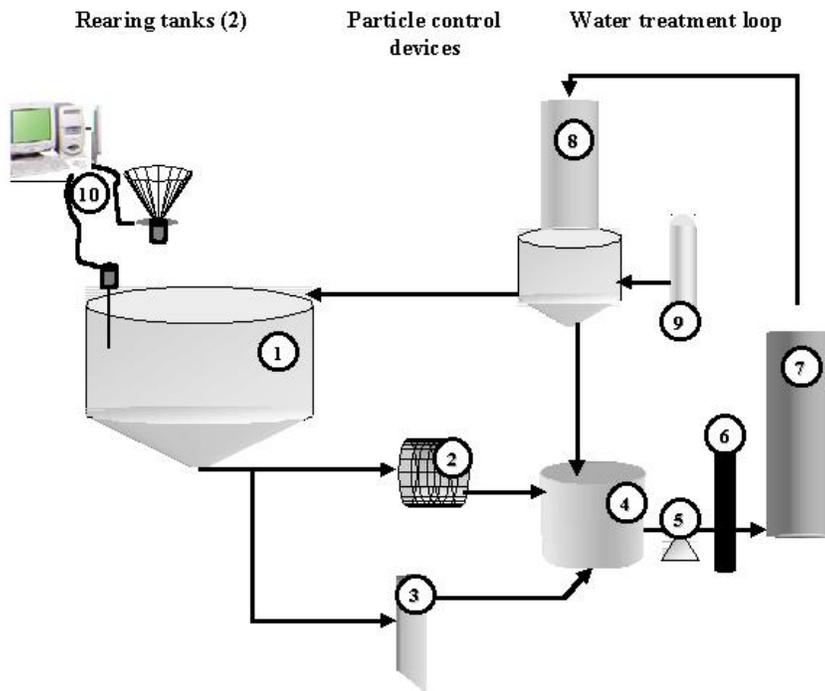


Figure 1.

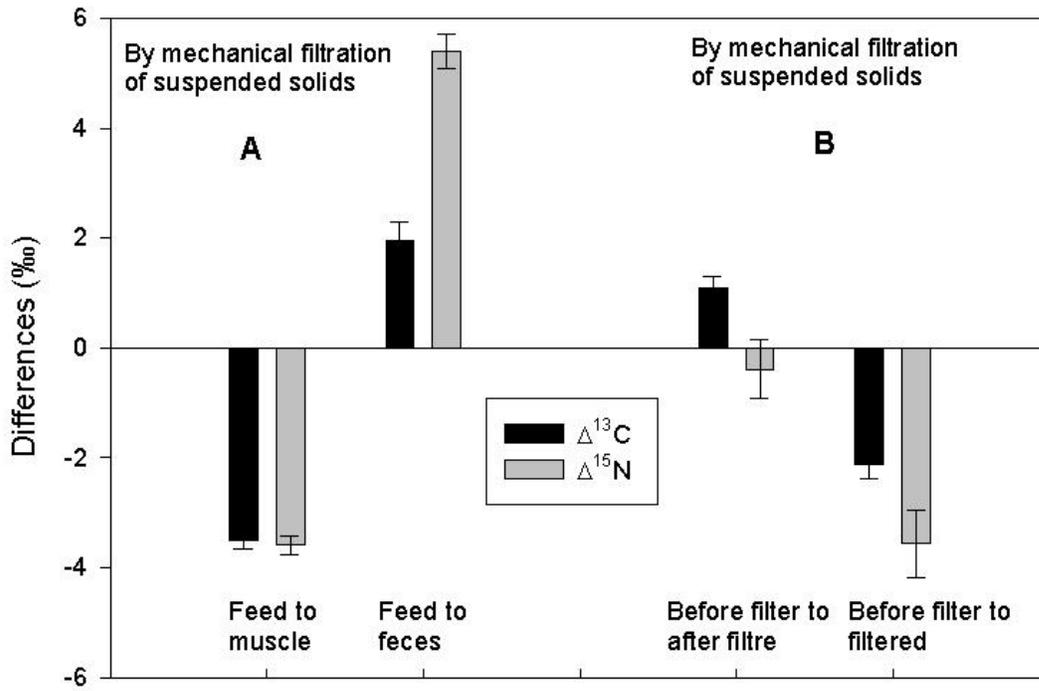


Figure 2.

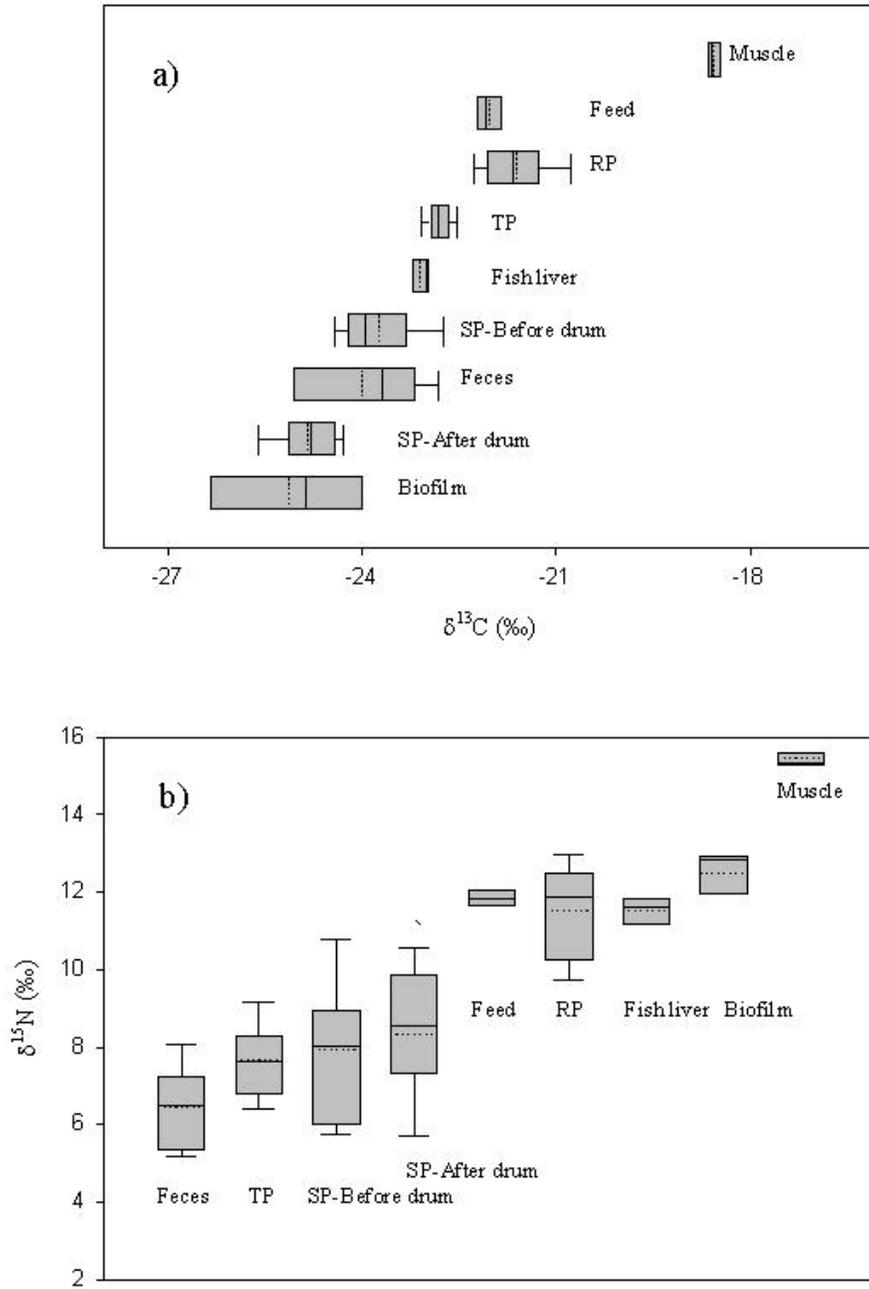


Figure 3.

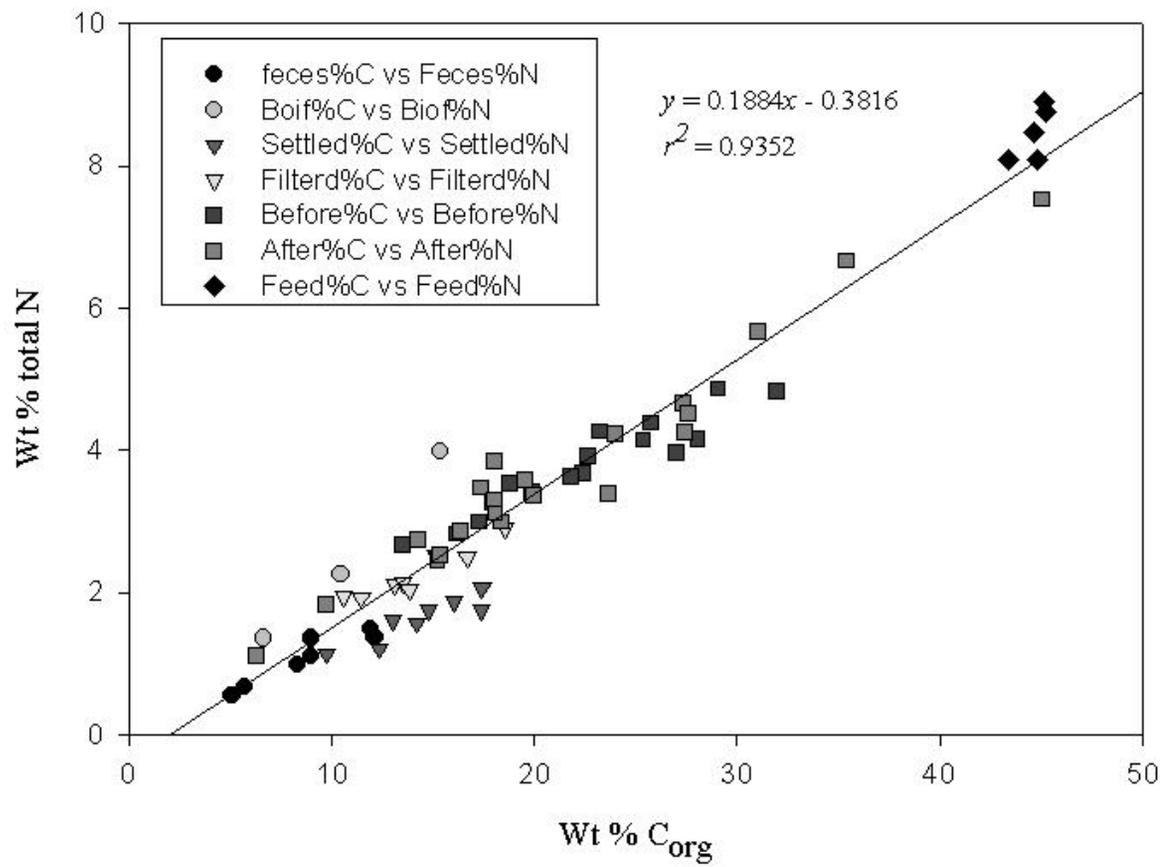


Figure 4.

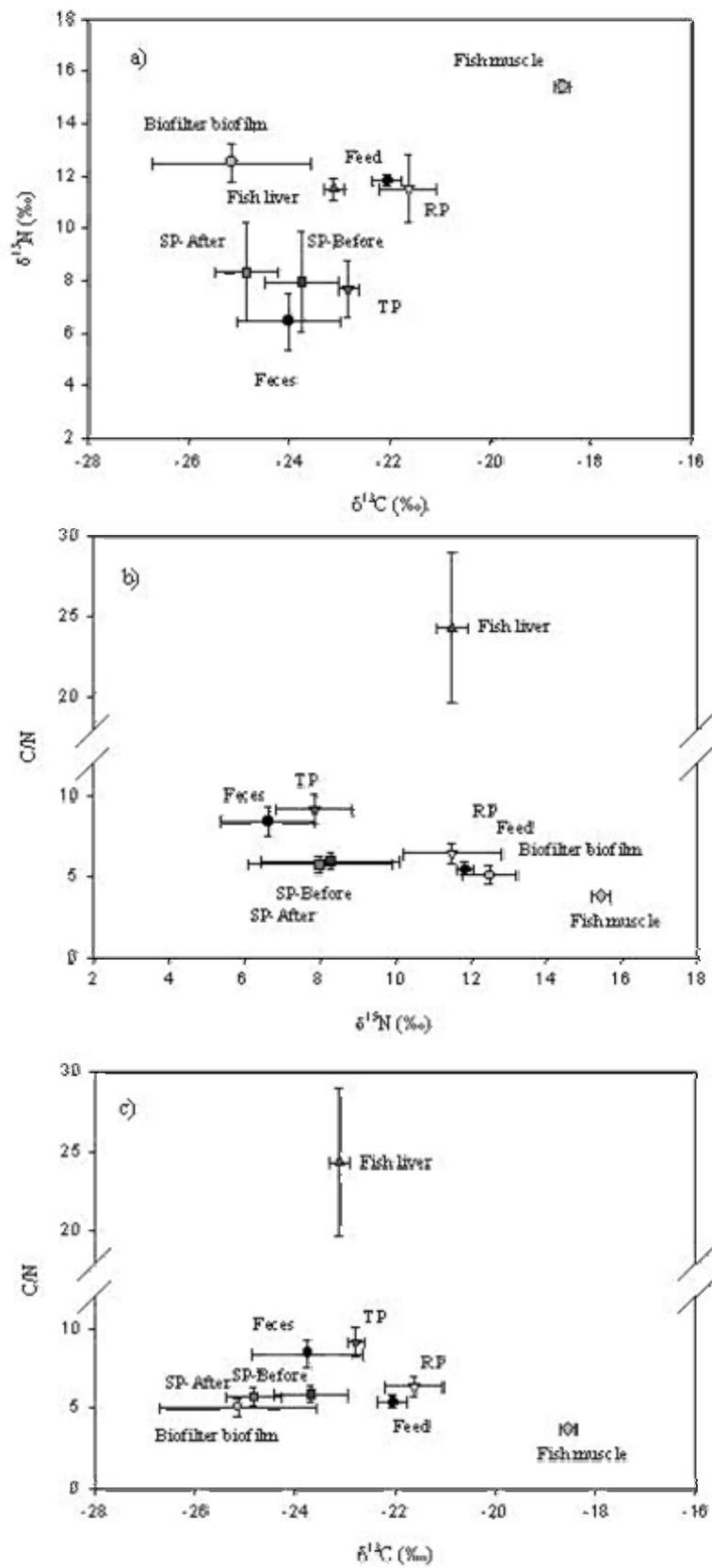


Figure 5

## ANNEXE B (Manuscrit en révision)

### Effect of fish size and hydraulic regime on particulate organic matter dynamics in a recirculating aquaculture system: Elemental carbon and nitrogen approach.

M.A. Franco-Nava<sup>1,2</sup>, J.P. Blancheton<sup>1,a</sup>, G. Deviller<sup>1</sup>, A. Charrier<sup>1</sup> and J.Y. Le-Gall<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>IFREMER-Palavas, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-les-flots, France.

Tel:+(33)467504112,Fax:+(33)467682885.

e-mail<sup>a</sup> : [Jean.Paul.Blancheton@ifremer.fr](mailto:Jean.Paul.Blancheton@ifremer.fr)

<sup>2</sup>ENSAR, 65 rue de St Briec, CS 84215, 35042 - RENNES cedex, France.

#### Abstract

Understanding the capabilities of particulate organic matter removal devices is critical to the development of recirculating aquaculture systems (RAS). The size of fish and water flow rates were evaluated as factors determining the distribution of particulate wastes throughout the RAS. Elemental carbon and nitrogen analyses (CHN) were employed in order to characterize particulate matter and evaluate the performances of solid evacuation devices, during the rearing of two sizes of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) at four water flow rates. Carbon mass balances show that the rearing tank stocks/transforms (out of fish growth and respiration) 33 to 16% of the particulate carbon from ingested feed when small (60-100g) and big (500-600g) fish respectively are reared. On the other hand, the treatment loop consumes 32 and 14% of particulate carbon that arrives from the same group of sizes. Water flow rates through rearing tanks affect fish activity and solids evacuation, increasing retention of particles and modifying water quality through a decrease in the hydraulic regimes. Regarding treatment loop, a minimal flow through biofilter of  $14.22 \pm 0.45 \text{ m h}^{-1}$  (with a hydraulic retention time of  $6.46 \pm 0.21 \text{ min.}$ ) and a maximum hydraulic retention time of 18.5 min in the treatment loop were required in order to obtain a proper nitrification rate and a minimal particulate carbon consumption. Dynamics between dissolved and particle materials depend on the fish reared and the management of treatment devices that comprise the RAS.

Keywords: Particulate organic matter, carbon and nitrogen dynamics, recirculating aquaculture system.

#### Introduction

Understanding the capabilities of particulate organic matter removal devices is critical to the development of recirculating aquaculture systems (RAS). Successful management of particulate matter (PM) consists of a rapid elimination of suspended and sedimentable materials from the RAS. Nevertheless, as particle size decreases, the efficiency of the typical solids removal processes decreases and biofouling increases (Chen et al., 1994; Blancheton and Canaguier, 1995; Sastry et al., 1999). Hence, the control of adverse effects of PM and the possibility of removing it from RAS, before its degradation, are challenges for aquaculture engineers.

Mechanical filtration, “hydro cyclone”-particles traps, ozonisation and foam fractionation are largely used to remove particles from RAS. Despite the installation of these devices, micro-biota of RAS colonize remaining particles and use them as substrate to generate high refractory compounds. On the other hand, dissolved fish metabolites are consumed by bacteria which increase biofouling. These new dissolved and particulate materials are

eliminated by water exchange (Corin et al.,1998; Leonard et al.,2002) but their dynamics within the RAS are not well known.

The relations between elimination and generation rates of organic matter in the RAS are rather complex. They have been partially studied by some authors (Avnimelech et al., 1995; Leonard et al., 2002) who highlighted the need of better knowledge of the nature of the organic matter in order to apply a good strategy to control them. Thus, technological solutions should be based on a better knowledge of wastes (e.g., specific gravity, distribution into the RAS, solubility, etc.) and a better understanding of their bio-geochemical processes.

The size of fish and water flow rates seems to be two key factors that determine the characteristics of solid fish waste and their distribution through the RAS. Small fish produce small particles and need high quantities of feed in order to satisfy their energetic requirements for growing, while big fish produce large particles and need less feed per unit of biomass, compensated by a low growth rate. The quantity and quality of all these particles indirectly determine the efficiency of evacuation devices and the potential risk of their accumulation within the RAS.

The aims of this study were to know the effects of two fish size and water flow rate on particle distribution in an experimental RAS. Elemental carbon and nitrogen analyses on particulate matter were employed in order to characterize particulate matter into the RAS.

## **Materials and Methods**

### Experimental RAS

An experimental RAS described by Blancheton (2000) was used in this study (Figure 1). It was comprised of two self-cleaning tanks of 2m<sup>3</sup> equipped with particle traps, a drum screen filter (30μ), an UV-disinfection unit, a submerged nitrifying filter (0.7m<sup>3</sup>), a degassing unit and an oxygenation device.

The rearing tanks' drains were equipped as shown in figure 1. A high solids drain was connected to particle trap while a low solids drain was connected to a drum filter. Both of them draw off to the pumping tank where their effluents are mixed into the treatment loop (total volume = 2 m<sup>3</sup>).

### Fish size comparison

Two lots of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) were reared, one at a time during several months, as part of a long-term (two year) research program where fish growth was evaluated monthly. The production of particulate matter and its distribution in the RAS were evaluated for two fish sizes. Evaluation for small fish started when the average individual weight was 66.9±6.4 g and fish density was 18.25 Kg-fish m<sup>-3</sup>. On the other hand, evaluation for big fish started when individual weight was 510.9±48.9 g and fish density was 14.49 Kg-fish m<sup>-3</sup>. In both cases the fish were fed commercial extruded pellets (Le Gouessant, Extra-Natura 4-5 mm, 44% proteins and 22% lipids) using self-feeders in order to avoid feed losses as described by Covès et al. (1998). However, the highest availability of feed was limited to 1.7 and 0.8% of biomass per day for the small and the big fish respectively.

### Water flow rate trials

Four experiments were carried out at different flow rates into the RAS, for each size of fish, in order to evaluate the efficiency of evacuation devices. Water flow rate was simultaneously changed through the rearing tanks and the treatment loop in order to avoid water losses during the experiments (table 1). Out of experimental time, water flow rate was 2.50 and 8.50 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> through the rearing tanks and treatment loop respectively.

### Sampling

After reaching a hydraulic steady state (stabilization time) of recirculating systems to the experimental flow rate, samples of water and particulate matters (suspended matter >1.2µm) were collected at the inlet and outlet of each RAS's components. Samples were obtained at 6:00, 10:00, 14:00 and 18:00 h in order to calculate daily flow rates of dissolved and particulate C and N.

Settled matter (PT) was collected from each particle traps, then centrifuged (3750 rpm, 10 min) and freeze-dried. The filtrate evacuated by the drum filter (ED) was collected at the same periodicity. It was concentrated by settling for 1 hour in a 110 liter plastic tank, then the supernatant was discarded. Prior to homogenization, four 250 ml sub-samples were re-concentrated by settling (30 minutes, supernatant was discarded) then oven dried at 60°C.

A combined sample (10 g) was composed of feed consumed during the evaluation period. The feed sample was hydrated with 5 ml of Milli-Q water per gram of feed during 30 min, then frozen and dry frozen. A few grams of feed and Six fish from each size group were dissected for sampling of white muscle and to constitute a whole fish sampling which were ground then freeze-dried.

Samples of suspended matter (SS) were collected on organic-free (450°C, 4h) Whatman GF/C filters. The retained matter was rinsed with 25 ml Milli-Q water, then dried at 60°C. Filtered water samples (2 - 4 liters) were analyzed within 48 h.

### Analytical procedures

N-urea and total ammonia nitrogen (TAN) were measured on filtered samples with a Technicon® Autoanalyzer II, as described by Treguer and Le Corre (1974).

A sub-sample of PT and ED were ground to a fine powder and transferred to screw-capped vial tubes. To remove inorganic carbon from the samples, approximately 100 mg of dried particulate matter was treated with 1 ml of 1.0 M HCl for 1 h, and then dried overnight at 60°C as described by Vouvé et al. (2000). Samples were finely ground again and approximately 1 mg of de-carbonated matter was loaded into 5 x 9 mm tin cups for elemental carbon and nitrogen analysis.

Samples of SS on filters were de-carbonated overnight by vapor phase acidification within glass disicator (Hedges and Stern, 1984; Benner et al., 1997). After evacuation of HCl vapors, a square of each filter (15 x 15 mm) was packed into 30 x 30 mm tin foil for carbon and nitrogen analysis.

The carbon and nitrogen contents of PT, ED, feed, whole fish and SS were measured by combustion of prepared samples using a Carlo Erba CNH analyzer (Carlo Erba Instruments 1500).

## Statistical analysis and calculations

A model proposed by Tanguy and Le Grel (1989) was employed to calculate fish growth. Fish oxygen consumption was calculated using Lemarie et al. (1992) model. From feed composition and mean fish biomass, the metabolic fish respiration was calculated based on the Sanni and Forsberg (1996) model.

Based on water and solids sample analysis results from different points within the system (Fig.1), the net solids production (NSP) by rearing tanks, the removal efficiencies of particle traps (PTE) and drum filter (DFE) were calculated as:

$$NSP(g \cdot Kg_{feed}^{-1}) = PT + SS_{out} - SS_{in}$$

Where variables are reported par kg of ingested feed as: PT is the content in daily-trapped particles ( $g \text{ kg}_{feed}^{-1}$ );  $SS_{out}$  is the flux of suspended solids in the outlet of rearing tank ( $g \text{ kg}_{feed}^{-1}$ );  $SS_{in}$  is the flux of suspended solids in the inlet of rearing tank ( $g \text{ kg}_{feed}^{-1}$ ). NSP was determined for total dry matter, particulate carbon and particulate nitrogen.

$$PTE(\%) = \frac{PT}{NSP} \times 100$$

This indicates the efficiency of particles traps. It was determined for total dry matter and particulate carbon.

$$DFE(\%) = \frac{SS_{DFI} - SS_{DFO}}{SS_{DFI}} \times 100$$

Where:  $SS_{DFO}$  is the flux of suspended solids in the outlet of drum filter ( $g \text{ kg}_{feed}^{-1}$ );  $SS_{DFI}$  is the total flux of suspended solids in the low solids drain of rearing tank ( $g \text{ kg}_{feed}^{-1}$ ); DFE indicates the efficiency of drum filter to removes solids from the low solid drain. It was determined for total dry matter and particulate carbon.

The biofilter performance (volumetric Total Ammonia Nitrogen conversion rate;  $\Delta TAN$ ) expressed as grams of TAN oxidized per media volume per day was calculated from:

$$\Delta TAN(g \cdot m^{-3} day) = \frac{([TAN]_0 - [TAN]_1) \cdot Q}{V}$$

Where

- $[TAN]_0$  = Total ammonia nitrogen concentration in biofilter inflow ( $N-NH_4^- + N-NH_3 \text{ g m}^{-3}$ )
- $[TAN]_1$  = Total ammonia nitrogen concentration in biofilter outflow ( $N-NH_4^- + N-NH_3 \text{ g m}^{-3}$ )
- $Q$  = Water flow rate ( $m^3 \text{ day}^{-1}$ )
- $V$  = Volume of media in biofilter ( $m^3$ )

Comparisons between groups for a significant difference of mean or ranks values were performed after normality and equal variance tests. The one way ANOVA test or Kruskal-Wallis ranks tests were respectively executed in order to compare results of water flow rates within same fish size. The t-test (a parametric test) or the Mann-Whitney Rank Sum Test (a nonparametric test) was executed in order to compare results between fish sizes. In each case statistical calculations were performed using SigmaStat for windows version 2.0 (© Copyright 1992-1995 Jandel Corporation).

## RESULTS

### Growth and feed retention

Rearing conditions during both evaluation periods are shown in table 2. The evolution of fish density, average individual fish weight, feed ration and feed conversion are shown in table 3. Observed specific growth rate was different (t-test,  $p < 0.001$ ) between small and big fish. However, the estimated model-based growth rates ( $0.91 \pm 0.09$  and  $0.46 \pm 0.04\%$  BW day<sup>-1</sup> respectively) were not different (t-test,  $p > 0.8$ ) to observed values for small and big fish respectively.

Carbon concentration in feed was  $457.49 \pm 31.30 \mu\text{g mg}^{-1}$  for both fish sizes (Mann-Whitney Rank Sum Test,  $p > 0.9$ ). Nitrogen concentration was  $72.13 \pm 5.62 \mu\text{g/mg}$ . Calculated DIC production of rearing tanks in terms of CO<sub>2</sub> due to fish metabolism were  $123.01 \pm 1.24$  and  $199.67 \pm 2.01 \text{ g-C Kg feed}^{-1}$  for small and big fish respectively.

Average carbon and nitrogen compositions in dorsal muscles of fish were  $447.40 \pm 48.46$  and  $114.05 \pm 13.76 \mu\text{g mg}^{-1}$  for both fish sizes (t-test,  $p > 0.3$ ) and whole fish composition was  $558.73 \pm 3.02 \mu\text{g mg}^{-1}$  and  $68.24 \pm 5.43 \mu\text{g mg}^{-1}$  for carbon and nitrogen respectively.

### Rearing tanks

#### Dissolved wastes

At 1.75, 2.50 and 2.75 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> water flow rates, the production of N-urea per rearing tank was  $3.11 \pm 0.03$  and  $4.90 \pm 0.11 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$  for small and big fish respectively. While, at the lowest flow rate (1 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>) N-urea production was  $2.18 \pm 0.13$  and  $2.03 \pm 0.11 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$  for small and big fish respectively (Fig.2a).

TAN production (fig. 2b) was lowest at 1 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> experiment for both size of fish ( $19.03 \pm 2.10$  and  $15.38 \pm 3.38 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$  for small and big fish respectively). Other flow rates show a slight gradient (ANOVA+Tukey test,  $p > 0.05$ ), from an average of  $23.70 \pm 7.00$  to  $29.61 \pm 5.88 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$  for small fish (average= $26.66 \pm 7.10 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$ ). TAN production at 1.75, 2.50 and 2.75 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> flow rates was not different (ANOVA+Tukey test,  $p > 0.05$ ) for big fish, with values from  $24.39 \pm 7.06$  to  $33.77 \pm 10.62 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$  (average= $29.08 \pm 10.32 \text{ g-N kg-feed}^{-1}$ ).

#### Particulate wastes

Net solids production of organic carbon (NSP) from rearing tank of RAS did not show differences between 1.75, 2.50 and 2.75 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> water flow rates. Average NSP was  $40.79 \pm 3.32$  and  $56.04 \pm 6.48 \text{ g-C kg-feed}^{-1}$  for small and big fish respectively. On the other hand, the lowest flow rate presented the lowest NSP (Anova + Tukey test,  $P < 0.01$ ) with an average production of  $37.84 \pm 1.27$  and  $38.79 \pm 7.96 \text{ g-C kg-feed}^{-1}$  for small and big fish respectively.

#### Particle traps

The efficiency of particle traps in removing particulate carbon (PTE) from RAS has shown a contrary trend to NSP. PTE within the lowest flow rate presented the highest efficiency ( $p < 0.05$ ), while the other flow rates did not show statistical differences (Dunnnett and Tukey test for small and big fish respectively  $p > 0.05$ ). PTE in the lowest flow rate was  $72.82 \pm 2.35$

and  $61.95 \pm 6.74\%$  for small and big fish respectively. Average trap efficiencies in the other flow rates were  $59.11 \pm 6.07$  and  $42.17 \pm 9.76\%$  for small and big fish respectively (fig.4).

### Drum filter

The efficiency of drum filters in eliminating particulate organic carbon from RAS was relatively constant (Anova,  $p > 0.3$ ). Average DFE was  $59.54 \pm 8.17\%$  for particles generated by small fish. There was a difference between efficiencies at the lowest ( $68.21 \pm 4.43\%$ ) and the highest ( $55.39 \pm 7.91\%$ ) flow rates for particles generated by big fish (Anova+Tukey test,  $p < 0.05$ ). On the other hand, observed DFE was  $62.45 \pm 7.34\%$  for same size of fish (fig.5).

Table 4 shows the distribution of particulate matter produced by rearing tank. Data from the three highest flow rates were pooled in order to compare them with the lowest flow rate.

### Treatment loop

Remaining particulate carbon that arrives in the treatment loop ( $R_{NSP}$ ) represents around 30-50% of particulate carbon entering the treatment loop (remaining NSP + passed through rearing tank). The carbon based budget shows a “consumption” of particulate carbon entering the treatment loop that depends on the water regime and seems to be inversely proportional to biofilter performance. Nevertheless, this trend could not be statistically demonstrated (Fig. 6). In spite of this, the treatment loop at the two slowest flow rates (2 and  $3.5 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ ) consumed more carbon than at the two highest flow rates (6.5 and  $8.5 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ ) (ANOVA+tukey test,  $p < 0.05$ ). Average consumption from pooled values of the two lowest flow rates was  $39.24 \pm 7.39$  and  $25.61 \pm 6.46\%$  of incoming carbon respectively for small and big fish. On the other hand, when the two highest flow rates were tested through the treatment loop,  $13.56 \pm 7.70$  and  $5.05 \pm 8.29\%$  of carbon were consumed when rearing small and big fish respectively.

An average TAN concentration of  $0.42 \pm 0.1 \text{ mg N-TAN l}^{-1}$  was observed when both sizes of fish were reared (t-test,  $p > 0.1$ ) at the three highest flow rates. Recirculated water within the treatment loop shows a median concentration of particulate carbon of  $272.12 \pm 43.15$  and  $165.40 \pm 18.21 \text{ } \mu\text{g-C l}^{-1}$  for small and big fish respectively (Mann-Whitney ranks test,  $p < 0.001$ ).

## **Discussions**

Growth performances obtained during both rearing periods can be considered satisfactory for European seabass. Observed growth was not affected either by feeding strategy or by short-term variations in flow rate through rearing tank compared to model-based growth rates for both fish sizes. Equivalent conversion indexes, within both sizes of fish, corresponded to equivalent carbon retention (GCE) by fish metabolism (Table 3). Nitrogen retention from 25 to 34% of ingested N was reported by Peres and Oliva-Teles (2003) for seabass juveniles (13-50g live weight). While Ballestrazzi and Lanari (1996) reported  $26.15 \pm 0.59\%$  for seabass from 110 to 200 g (live weight) with 52% protein in food. Observed GNE within both fish sizes of this study (22-24%) were near to published reported data. Thus, self-feeders with fixed feed rations could be employed in order to estimate solid wastes as a function of fish size.

Published nitrogen composition in whole fish varies in relation to feed, fish size and experimental protocols. Some values are expressed as protein content which after conversion to nitrogen ( $\text{N} = \text{protein}/6.25$ ) fluctuate from 7.1 to 9.9% N (Ballestrazzi et al., 1998; Dias et al., 1998; Lanari et al., 1999; Lupatsch et al., 2003; Peres and Oliva-Teles, 2003). In this

work, elemental (CHN) analysis was used to direct measurements of N in whole fish ( $6.82 \pm 0.54\%$  dry mass) that could be the source of this slight discrepancy.

### Dissolved wastes

Mean N-urea production by big fish with respect to ingested nitrogen (6.8%) was slightly higher than 5.6% of N-urea excreted by seabass (Dosdat et al., 1996). Contrary to this tendency, 4.3% of ingested nitrogen was produced by small fish as N-urea. This value is not different to that reported by Dosdat et al., (opcit.) who did not find significant differences between 4 to 6% of N-urea among four species of teleosts (10 to 100 g individual body weight). Differences observed for the big fish could be due to their differences in metabolism with respect to small fish (Dosdat et al., 1996). On the other hand, TAN production with respect to ingested nitrogen was relatively constant regarding both sizes of fish (37% for 64-100 g fish<sup>-1</sup> and 41% for 509-591 g fish<sup>-1</sup>). These observations are in accordance to published data for excreted TAN of seabass (Ballestrazzi et al., 1994; Dosdat et al., 1996; Pagand et al., 2000).

During the lowest flow rate, several factors could affect the production of dissolved nitrogen wastes from the rearing tank. Firstly, particulate nitrogen wastes ( $5.57 \pm 0.29$  and  $5.25 \pm 0.59$  g-N kg-feed<sup>-1</sup> for small and big fish respectively) were not different to other flow rates (t-test,  $p > 0.1$ ). Hence, the digestible fraction of nitrogen in feed was the same within all trials for both sizes of fish. Nevertheless, dissolved excretions (TAN and N-urea) are decreased proportionally to total nitrogen wastes (TAN + N-urea + particulate nitrogen) down to 25% and 50% for small and big fish respectively. Therefore, nitrogen retention by fish could be higher at low hydraulic regimes than at high hydraulic regimes. If we hypothesize that this condition is maintained over the whole growth evaluation period (34 days), maybe nitrogen retention (GNE) should be improved. Nevertheless, this hypothesis was not explored in the present study.

On the other hand, Lauff and Wood (1996) demonstrated that dissolved nitrogen excretion increases as swimming activity increases. In the present study, low fish activity was observed during the lowest flow rate trial as compared to other flow rates, when the hydraulic regime activated fish activity. The swimming speed was not measured but differences in fish activity within flow rate trials could affect dissolved nitrogen production (TAN and N-urea).

Finally, considering the retention of total particulate matter in the rearing tank at the lowest flow rate (23 and 31% for small and big fish respectively), the micro-biota associated to this particulate matter could consume a fraction of excreted nitrogen by fish. Other explanations of the low nitrogen excretion during the lowest flow trials, like ammonia detoxification were considered but rearing conditions did not present toxic concentrations of ammonia to demonstrate this phenomenon.

As a conclusion, differences in nitrogen excretions between the lowest flow rate and faster rates could result from two main phenomena: 1) the low swimming activity and 2) an increase in bacterial activity associated to particulate matter. The first phenomena which could increase retention in fish was not manifested in this work because the experimental conditions were not maintained for more than 4 days. Moreover, N-waste excretion is very sensitive to changes in the intensity and duration of the exercise period. Todgham et al. (2001) reported reversed values to those reported by Lauff and Wood (1996) for the N-waste excretion of juvenile rainbow trout, explained as differences in stocks of hatchery-reared and/or tested "high-speed" (34 v.s. 50 cm seg<sup>-1</sup> respectively). Hence, utilization of reported dissolved nitrogen production reported in the present work, obtained under low flow rate ( $< 35$  l h<sup>-1</sup> kg<sub>fish</sub><sup>-1</sup>), should be taken with caution.

On the other hand, retained particles are composed of non-living (detrital) organic material and living organisms which colonize and consume dissolved and particulate organic matter (Danovaro et al., 2000). Moreover, due to a net negative charge on the surface of many organic matters in wastewater, there is a potential for adsorption of positively charged ions, e.g. ammonium ions, to the suspended particles (Wik, 1999). As a result, the high availability on dissolved nutrients and particulate substrate could increase heterotrophic activity reducing dissolved nitrogen wastes from rearing tanks.

### Particulate wastes

Several authors reported a wide range of total solid concentrations in the effluent of rearing tanks at fish aquaculture facilities. Values from 0.75 to 7.4 mg l<sup>-1</sup> of this study are in accordance with the published range of 1 to 50 mg l<sup>-1</sup> (Hennessy et al., 1991; Bergheim et al., 1993; Cripps, 1995). Nevertheless, this work reports initial data concerning carbon composition in solid wastes of a recirculating system, hence strict comparisons with earlier data are difficult.

Recent published data on fecal pellets composition of Atlantic salmon reported concentrations of 26.9-27.4% and 2.8-3.3% in carbon and nitrogen respectively (Chen et al., 2003). These results are lightly higher than 17-26% and 1.2-2.4% for carbon and nitrogen concentrations obtained in this study with trapped particles. Differences could be explained by differences in sampling procedures, from dissection in the first case to particle traps in this study. Moreover, fecal pellets of salmon leach up to 22% and 26% of carbon and nitrogen content within first 10 minutes in contact to water (Chen et al., 2003). While particulate solids in this study are considered as leached particles, discrepancies with published C and N concentrations in pellets could be null.

Particulate nitrogen wastes from rearing tank (Table 4) are in agreement with 4.1 to 10 g-N kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup> reported by Green et al. (2002) for rainbow trout feed 73.1 to 73.7 g-N kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>. On the other hand, Cho and Bureau (2001) suggested TSW = [feed (DM basis) consumed x (1 - ADC DM)] + AFW (DM basis) as a model to estimate total solid wastes (TSW) from aquaculture facilities. Where: DM=Dry matter, ADC= Apparent digestibility coefficient, and AFW = Apparent feed waste. Considering ADC=82% (Kaushik et al., in press) and AFW=2% (Franco-Nava et al., unpublished) for the same type of feed and fish, NSP by small fish (192 g-DM kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>) is close to calculated TSW by this model (180 g-DM kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>). Conversely, NSP by big fish (290 g-DM kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>) was largely higher than calculated TSW. Thus, estimates of ADC or AFW are not adequate with calculated TSW within low feed rations (big fish) using Cho and Bureau (2001) model which don't consider both fish size and water flow rate. Observed differences in NSP per kg of feed between small and big fish could be explained by a low ADC for the big fish, mainly due to their size (>500g). ADC of the same feed for big fish may be lower than the estimated 80%, but this hypothesis was not verified on this study.

Regarding NSP as a function of water flow rate, results confirm that proper sizing of experimental facilities is adequate to have a maximal evacuation of particulate matter from rearing tanks during tested rearing conditions (from 35.11 to 94.89 l h<sup>-1</sup> kg<sub>fish</sub><sup>-1</sup>). Only lower flow rates (21-35 l h<sup>-1</sup> kg<sub>fish</sub><sup>-1</sup>) accumulated significant particulate wastes compared to maximal evacuation observed in other flow rates. Considering the range of water flow rates, fish density and solid evacuation devices used for this experiment is a minimum of 35 l h<sup>-1</sup> kg<sub>fish</sub><sup>-1</sup> was required in order to evacuate a maximum of particulate waste from the rearing tank and treatment loop.

### Solid evacuations

In this study, particle trap efficiency (Settled solids from NSP) was 17% lower than the estimated trap efficiency (64%) reported by some authors (Ulgenes and Eikebrokk, 1994; Lekang et al., 2000; Wong and Piedrahita, 2000). This difference could be due to operating differences between particle traps. Published estimations consider that 6-10% of the rearing tank flow passing through particle traps concentrate 80% of produced solids. In our study (regarding 3 highest flow rates), an average of 28% of rearing tank flow passed through the particle traps with only 61% of NSP. During the lowest flow trial ( $1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  through rearing tank), the high solids drain concentrated up to 87% of NSP resulting in a PTE up to 70% of Settled solids from NSP. Reduction in water flow rate through the rearing the tank did not affect the flow velocity of  $36.9 \pm 3.2 \text{ cm min}^{-1}$  through the particle traps (t-test,  $p > 0.2$ ). Therefore, PTE increased as inlet loading increased, as previously demonstrated.

On the other hand, Losordo and Hobbs (2000) suggested 50% as a factor for particle trap efficiency in their model for water flow and biofilter sizing in recirculating systems. This value is based on results obtained by Twarowska et al., (1997) for Tilapia, which are similar to the average 47% (settled solids) obtained in this study, within the three highest flow rates, for both fish sizes.

Water flow rate did not adversely affect DFE and large variability in measurements lets us suppose some effect of screen clogging as reported by (Langer et al., 1996). Observed drum filter efficiency (carbon basis) is in agreement with reported data by several authors 40-60% for total suspended solids (Bergheim et al., 1998; Kang et al., 1998; Palacios and Timmons, 2001). Nevertheless, it is possible to have a low efficiency, mainly affected by the consistency of particulate matter. Langer et al. (1996) reported only 9.6-18.4% for an eel culture unit. In our study, removal efficiency of the drum filter allows evacuation of 65-74% of total suspended solids while carbon removal efficiency was only around of 60%. This difference highlights the importance of carbon measurements in order to get accurate data on potentially degradable organic matter that arrives to the treatment loop (Table 5.).

### Treatment loop and mass balance

Mass balance (carbon basis) on rearing tanks showed a deficit of 151 and 72  $\text{g-C kg}_{\text{feed}}^{-1}$ , with respect to ingested carbon in feed for the rearing tanks of small and big fish respectively (Table 6). A part of this carbon could be leached from feces and lost in dissolved fraction (non-measured in this study). Another part was probably accumulated in zones of low velocity, where in normal operating conditions they are evacuated by purge. Finally, an under estimation of suspended solids should be considered assuming that the number of large particles in suspension is low, thus the probability to take them into the filters is low, but their mass (carbon content) is considerably high (McMillan et al., 2003).

Mass balance on treatment loop shows a wide range of “new” particulate matter (34-67% of Total  $R_{\text{NSP}}$ ), mixed with recirculated particles, entering the treatment loop. The fractions of fresh degradable matter from the rearing tank ( $C-R_{\text{NSP}}$ ) were  $0.48 \pm 0.07$  and  $0.38 \pm 0.08$  for shared measurements of small and big fish respectively (t-test,  $p < 0.01$ ). However, this difference did not affect net particulate carbon consumption within treatment loop ( $6.55 \pm 4.15$  and  $5.46 \pm 4.88 \text{ g-C kg}_{\text{feed}}^{-1}$  respectively), conversely these quantities represent 32 and 14% of particulate carbon entering the treatment loop for small and big fish. Therefore, it seems that as the fresh fraction of particulate carbon increases at the inlet of the treatment loop, the

fraction of consumed particulate carbon increases too. This observation is very important for the management of particulate carbon before the treatment loop, an essential factor for the control of undesirable effects on biofilter performance, oxygen consumption and solids accumulation within the treatment loop.

Retention of incoming particles suggests a combination of settling in the pumping tank and a slight clogging of biofilter as main causes of particle consumption by the treatment loop. This consumption is a function of the hydraulic regime and the fraction of “fresh” waste entering the treatment loop. Regarding water flow regime: a minimal flow through biofilter of  $14.22 \pm 0.45 \text{ m h}^{-1}$  (with a hydraulic retention time of  $6.46 \pm 0.21 \text{ min.}$ ) and a maximum hydraulic retention time of 18.5 min in the treatment loop (total volume =  $2 \text{ m}^3$ ) were required in order to obtain a proper nitrification rate and a minimal particulate consumption. On the other hand, proportions of «fresh» fractions of particulate matter entering the treatment loop are a function of fish digestion (fish size in this study).

Replacement water ratio ( $\text{m}^3 \text{ new water kg}_{\text{feed}}^{-1}$ ) is the main factor that determines dissolved and particulate matter accumulation in recirculated systems (Leonard et al., 2002). Long term operation of closed recirculating systems was not evaluated, but an estimation of the dilution effects could be made, based on reported data considering models of bacterial biomass production (Leonard, 2000).

## CONCLUSIONS

Net solid production from rearing tanks is not equivalent to total waste from intake feed. This results in accumulation of particulate waste in the rearing tank and hydraulic loop with low energy. In general, two zones were identified where particulate and dissolved matters could be stocked and/or transformed: the rearing tank and the treatment loop.

The rearing tank stocks/transforms (out of fish growth and respiration) 33 to 16% of the particulate carbon from ingested feed when small and big fish respectively are reared. On the other hand, the treatment loop consumes 32 and 14% of particulate carbon that arrives from a same group of sizes.

Water flow rates through rearing tanks affect fish activity and solid evacuation, increasing retention of particles and modifying water quality due to a decrease in the hydraulic regime. Regarding treatment loop, a minimal flow through biofilter of  $14.22 \pm 0.45 \text{ m h}^{-1}$  (with a hydraulic retention time of  $6.46 \pm 0.21 \text{ min.}$ ) and a maximum hydraulic retention time of 18.5 min in the treatment loop were required in order to obtain a proper nitrification rate and a minimal particulate carbon consumption.

The fish size affects solid waste production corresponding to a metabolic adaptation of fish to age. This adaptation confers chemical and reological characteristics on solid wastes which indirectly affect the performance of solid control devices.

Dynamics between dissolved and particle materials depend on the fish reared and the management of treatment devices that comprise the RAS. Proper evacuation of solids from the rearing tank and high performance of control devices before the treatment loop are necessary to reduce solid recycling within the rearing system.

## Acknowledgements

The work reported in this publication was supported by the IFREMER (France) and by a doctoral scholarship to M.A.F.N. at ENSAR (France) from Secretaría de Educación Pública, México. (SEP-COSNET-DGECyTM, 99271P and ITMAR, Mazatlán).

## References

- Avnimelech, Y., Mozares, N., Shaher, D., Kochba, M., 1995. Rates of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. *Aquaculture*, 134:211-216.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., 1996. Growth, body composition and nutrient retention efficiency of growing seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed fish oil or fatty acid Ca salts. *Aquaculture*, 139(1-2):99-107.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'Agaro, E., Mion, A., 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 2-3(127):197-206.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'Agaro, E., 1998. Performance, nutrient retention efficiency, total ammonia and reactive phosphorus excretion of growing European seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.) as affected by diet processing and feeding level. *Aquaculture*, 161:55-65.
- Benner, R., Biddana, B., Black, B., McCarthy, M., 1997. Abundance, size distribution, and stable carbon and nitrogen isotopic composition of marine organic matter isolated by tangential-flow ultrafiltration. *Marine chemistry*, 57:243-263.
- Bergheim, A., Sanni, S., Indrevik, G., Hoelland, P., 1993. Sludge removal from salmonid tank effluent using rotating micro sieves. *Aquacultural engineering*, 2(12):97-109.
- Bergheim, A., Cripps, A., Liltved, H., 1998. A system for the treatment of sludge from land-based fish farms. *Aquatic Living Resources*, 11(4):279-287.
- Blancheton, J.P., 2000. Developments in recirculating systems for Mediterranean fish species, *Aquacultural engineering*, 22:17-31.
- Blancheton, J.P., Canaguier, B., 1995. Bacterial and particulate materials in recirculating seabass (*Dicentrarchus labrax*) production system. *Aquaculture*, 133:215-224.
- Chen, S., Stechey, D., Malone, R.F., 1994. Suspended solids control in recirculating aquaculture systems. In: Timmons, M.B., Losordo, T.M. (Eds.), *Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management*. Development in Aquaculture and Fisheries Sciences, vol. 27. Elsevier, Amsterdam, 61-100.
- Chen, Y.-S., Beveridge, M.C.M., Telfer, T.C., Roy, W.J., 2003. Nutrient leaching and settling rate characteristics of the faeces of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) and the implications for modeling of solid waste dispersion. *J. Appl. Ichthyol.*, 19 :114-117.
- Cho, C.Y., Bureau, D.P., 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*, s1(32):349-360.
- Corin, N., Backlund, P., Wiklund, T., 1998. Bacterial growth in humic waters exposed to UV-radiation and simulated sunlight. *Chemosphere*, 36(9):1947-1958.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way to avoiding feed wastage in European seabass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquatic Living Resources*, 11(6):395-401.
- Cripps, S., 1995. Serial particle size fractionation and characterization of an aquacultural effluent. *Aquaculture*, 133:323-339.
- Danovaro, R., Dell'Anno, A., Pusceddu, A., Marrale, D., Della Croce, N., Fabiano, M., Tselepides, A., 2000. Biochemical composition of pico-, nano- and micro-particulate organic matter and bacterioplankton biomass in the oligotrophic Cretan Sea (NE Mediterranean). *Progress in Oceanography*, 46 :279-310.

- Dias, J., Alvarez, M.J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M., Kaushik, S.J., 1998. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 161:169–186.
- Dosdat, A., Servais, F., Metailler, R., Huelvan, C., Desbruyeres, E., 1996. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture*, 1-2(141):107-127.
- Green, J., Brannon, E., Hardy, R., 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Production-scale study. *Aquaculture Nutrition*, 4(8):291-298.
- Hedges, J.I., Stern, J.H., 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate containing solids. *Limnology and Oceanography*, 29:657-663.
- Hennessy, M., De Pauw, N., Joyce, J., 1991. The efficiency of two aquacultural effluent treatment systems in use in Scotland. *Aquaculture and the environment. Special Publication. EAS*, 14 :142-143.
- Kang, J.-C., Park, S.-I., Kim, S.-G., 1998. The development of filter for environmental improvement in land based seawater fish farm: 2. Purification efficacy of inlet and outlet seawater by filter. *Journal of Korean Fisheries Society*, 6(31):914-919.
- Kaushik, S.J., Covès, D., Dutto, G., Blanc, D. \_\_\_\_\_. Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diets of marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, In press.
- Lanari, D., Poli, B.M., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'Arigo, E., Mecatti, M., 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European seabass (*Dicentrarchus labrax*/ L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture*, 179:351–364.
- Langer, J., Efthimiou, S., Rosenthal, H., Bronzi, P., 1996. Drum filter performance in a recirculating eel culture unit. *Journal of applied ichthyology*, 1(12):61-65.
- Lauff, R.F., Wood, C.H., 1996. Respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology B*, 166:501–509.
- Lekang, O.-I., Bergheim, A., Dalen, H., 2000. An integrated wastewater treatment system for land-based fish-farming. *Aquacultural Engineering*, 22:199–211.
- Lemarie, G., Gasset, E., Cam, D., de La Fonchais, E., 1992. Modélisation de la consommation en oxygène du loup (*Dicentrarchus labrax* L.) et de la daurade (*Sparus aurata* L.). *Ichthyophysiological Acta*, 15:55-68.
- Leonard, N., 2000. Recherche et élimination des facteurs inhibiteurs de croissance dans les élevages piscicoles en circuit fermé. Thèse de doctorat, Université Montpellier I. 165 p.
- Leonard, N., Guiraud, J.P., Gasset, E., Cailleres, J.P., Blancheton, J.P., 2002. Bacteria and nutrients -nitrogen and carbon- in a recirculating system for seabass production. *Aquacultural Engineering*, 26:111-127.
- Losordo, T.M., Hobbs, A.O., 2000. Using computer spreadsheets for water flow and biofilter sizing in recirculating aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering*, 23:95–102.
- Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D., 2003. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture*, 225:175–189.
- McMillan, J.D., Wheaton, F.W., Hochheimer, J.N., Soares, J., 2003. Pumping effect on particle sizes in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural engineering*, 1(27):53-59.
- Pagand, P., Blancheton, J.P., Casellas, C., 2000. A model for predicting the quantities of dissolved inorganic nitrogen released in effluents from a seabass (*Dicentrarchus labrax*) recirculating water system. *Aquacultural engineering*, 22:137-153.
- Palacios, G.L., Timmons, M.B., 2001. Determining design parameters for recovery of aquaculture wastewater using sand beds. *Aquacultural Engineering*, 4(24):289-299.

- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2003. The effect of dietary ribonucleic acid incorporation in performance of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 215: 245–253.
- Sanni, S., Forsberg, O.I., 1996. Modeling pH and carbon dioxide in single-pass sea-water aquaculture systems. *Aquacultural engineering*, 2(15):91-110.
- Sastry, B.N., DeLosReyes, A.A.Jr., Rusch, K.A., Malone, R.F., 1999. Nitrification performance of a bubble-washed bead filter for combined solids removal and biological filtration in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 19:105–117.
- Tanguy, R., Le Grel, L., 1989. Projet d'élevage du loup en mer: étude technico-économique du pré grossissement et du grossissement. Rapport Internes de la Direction des Ressources Vivantes, DRV-89.021-RA:SDA PALAVAS, 91 pp
- Todgham, A.E., Anderson, P.M., Wright, P., 2001. Effects of exercise on nitrogen excretion, carbamoyl phosphate synthetase III activity and related urea cycle enzymes in muscle and liver tissues of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A.*, 129 :527-539.
- Treguer, P., Le Corre, P., 1974. Manual d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'auto-analyseur II, Technicon ® , Université de Bretagne Occidentale (Publisher), Brest, France, 110 p.
- Twarowska, J.G., Westerman, P.W., Losordo, T.M., 1997. Water treatment and waste characterization evaluation of an intensive recirculating fish production system. *Aquacultural Engineering*, 3(16):133-147.
- Ulgenes, Y., Eikebrokk, B., 1994. Fish farm effluent treatment by microstrainers and a particle trap. EIFAC Workshop, Univ. of Stirling, Scotland, June 1994.
- Vouvé, F., Guiraud, G., Marol, Ch., Girard, M., Richard, P. Laima, M.J.C., 2000. NH<sup>4</sup> turnover in intertidal sediments of Marennes-Oléron Bay (France): effect of sediment temperature. *Oceanologica Acta*, 5(23):575–584.
- Wik, T., 1999. Adsorption and denitrification in nitrifying trickling filters. *Water Resources*, 6(33):1500-1508.
- Wong, K.B., Piedrahita, R.H., 2000. Settling velocity characterization of aquacultural solids. *Aquacultural Engineering*, 21:233–246.

Table 1. Experimental water flow rates through components of RAS. Water flow rates are in  $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$  per element of RAS.

Experiment	RAS's component	Water flow rate ( $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ )	Stabilization Time (hours)
1	Rearing tank	1.00	72
	Particle trap	0.56	
	Drum filter	0.87	
	Treatment loop	2.00	
2	Rearing tank	1.75	72
	Particle trap	0.56	
	Drum filter	2.36	
	Treatment loop	3.50	
3	Rearing tank	2.50	36
	Particle trap	0.56	
	Drum filter	3.86	
	Treatment loop	6.50	
4	Rearing tank	2.75	36
	Particle trap	0.69	
	Drum filter	4.13	
	Treatment loop	8.50	

Table 2. Rearing conditions during the rearing of two sizes of seabass (*Dicentrarchus labrax*) in a recirculating system: mean values $\pm$ s.d.(n).

Size group	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Salinity (‰)	$\text{O}_2$ (mg/l)	pH
SMALL (64-93 g fish $^{-1}$ )	24.7 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup> (28)	34.0 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup> (28)	8.0 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup> (20)	7.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup> (8)
BIG (512-591 g fish $^{-1}$ )	21.8 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (25)	31.0 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup> (20)	8.6 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup> (25)	7.1 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup> (8)

Means within the same column not sharing a common letter are significantly different (t-test,  $p < 0.001$ )

Table 3. Growth and feed efficiency of seabass at two size of fish (SMALL and BIG), means values  $\pm$  s.d.(n).

	Size group	
	SMALL	BIG
Feed ration <sup>1</sup> (% LW)		
Initial average individual weight (g)	1.65 $\pm$ 0.04(8)b	0.64 $\pm$ 0.09(8)a
Final average individual weight (g)	64.28 $\pm$ 6.97(19)	512.20 $\pm$ 50.76(56)
Initial fish density (kg m <sup>-3</sup> )	92.83 $\pm$ 8.99(19)	591.10 $\pm$ 64.04(56)
Final fish density (kg m <sup>-3</sup> )	17.93 $\pm$ 1.21(2)	14.34 $\pm$ 0.40(2)
SGR <sup>2</sup>	24.92 $\pm$ 0.45(2)	16.55 $\pm$ 0.54(2)
FCE <sup>3</sup>	1.05 $\pm$ 0.11(19)b	0.41 $\pm$ 0.04(56)a
GCE <sup>4</sup> (%)	0.69 $\pm$ 0.05(19)a	0.65 $\pm$ 0.17(56)a
GNE <sup>5</sup> (%)	31.39 $\pm$ 2.25(19)a	28.25 $\pm$ 2.65(56)a

<sup>1</sup>Feed ration was calculated as: g diet x (100g fish live weight (LW))<sup>-1</sup>

<sup>2</sup>Specific growth rate calculated as:

$$\text{SGR} = (\ln \text{ final weight (g)} - \ln \text{ initial weight (g)}) \times 100 \times \text{days}^{-1}$$

<sup>3</sup>Feed conversion ratio calculated as: FCE= (fish weight gain, g)x(feed intake, g)<sup>-1</sup>

<sup>4</sup>Gross carbon efficiency: GCE=(fish carbon gain, g) x 100 x (carbon intake, g)<sup>-1</sup>

<sup>5</sup>Gross nitrogen efficiency: GNE=(fish nitrogen gain, g) x 100 x (nitrogen intake, g)<sup>-1</sup>

Means within the same row not sharing a common letter are significantly different (t-test, p<0.001)

Table 4, Distribution of evacuated and remaining wastes of two range of size (SMALL=60-100g; BIG=500-600g) of seabass (*Dicentrarchus labrax*) reared in a recirculating aquaculture system at different water flow rates (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>, and B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Average  $\pm$  s.d. in g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>

		Size range												
		SMALL						BIG						
		Water flow rate						Water flow rate						
		A			B			A			B			
		average	s.d.	n	average	s.d.	n	average	s.d.	n	average	s.d.	n	
<b>Net solids production (NSP)</b>		total	148.1	9.8	6	192.5	30.2	18	200.4	34.2	6	290.1	35.3	16
	C	37.8	1.3	6	40.8	3.3	18	38.8	8.0	6	56.0	6.5	16	
	N	5.6	0.3	6	6.0	0.9	18	4.8	0.9	6	6.3	1.2	16	
	C/N	6.8			6.8			8.2			8.9			
<b>Settable</b>		total	105.39	3.53	2	91.19	8.89	6	135.16	23.77	2	136.21	25.95	6
	C	27.54	0.60	6	24.05	2.53	8	24.26	6.76	6	23.65	6.31	8	
	N	3.88	0.10	6	3.38	0.36	8	2.61	0.81	6	2.56	0.74	8	
	C/N	7.10			7.11			9.30			9.24			
<b>Suspended</b>														
	<b>Filtered</b> total	11.91	3.06	4	49.86	26.34	12	21.78	6.89	4	73.87	38.87	12	
	C	2.82	0.38	4	7.13	2.43	4	4.34	0.98	4	13.80	3.88	4	
	N	1.58	0.18	4	1.75	0.57	4	2.20	0.36	4	4.76	1.40	4	
	C/N	1.79			4.07			1.98			2.90			
	<b>Remaining</b>													
	<b>R<sub>NSP</sub></b> total	30.82	8.28	6	51.40	16.28	18	43.48	15.13	6	86.34	25.25	16	
	C	7.48	0.82	6	9.62	2.46	18	10.19	1.80	6	18.60	3.41	16	
	N	1.30	0.19	6	1.48	0.44	18	1.56	0.38	6	2.45	0.77	16	
	C/N	5.76			6.49			6.55			7.59			

NSP=PT + SS<sub>out</sub> - SS<sub>in</sub>, where PT is daily-trapped particles (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>), SS<sub>out</sub> is the flux of suspended solids in the outlet of rearing tank (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>); SS<sub>in</sub> is the flux of suspended solids in the inlet of rearing tank (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>).

R<sub>NSP</sub>=NSP - PT - [(NSP-PT)\*(DFE/100)\*FRTF], where DFE=drum filter efficiency and FRTF= Fraction of rearing tank flow passing through the drum filter.

Table 5. Performance of particle control devices on solid wastes from of two range of size (SMALL=60-100g; BIG=500-600g) of seabass (*Dicentrarchus labrax*) reared in a recirculating aquaculture system at different water flow rates (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>, and B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Average and s.d. in % of total solids (Total) and particulate carbon (C).

		Size range											
		SMALL Water flow rate						BIG Water flow rate					
		A			B			A			B		
		average	s.d.	n	Average	s.d.	n	average	s.d.	n	average	s.d.	n
<b>PTE (%)</b>	Total	71,41	4,65	6	48,58	9,84	18	67,71	7,47	6	45,00	13,06	16
	C	72,82	2,35	6	59,11	6,07	18	61,95	6,74	6	42,17	9,76	16
<b>DFE (%)</b>	Total	71,21	3,29	6	74,19	10,78	18	63,65	9,48	6	71,01	9,56	16
	C	62,76	2,48	6	57,05	14,15	18	68,21	4,43	6	58,17	9,02	16

PTE (%)=PT/NSP×100, where PT is daily-trapped particles (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>) and NSP is the net solids production by rearing tanks (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>).

DFE(%)=(SS<sub>DFI</sub>-SS<sub>DFO</sub>)/SS<sub>DFI</sub>×100, Where SS<sub>DFI</sub> is the flux of suspended solids in the inlet of drum filter (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>); SS<sub>DFO</sub> is the flux of suspended solids in the outlet of drum filter (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>).

Table 6, Mass balance on the rearing tank for total solids, particulate carbon and nitrogen wastes of two size ranges (SMALL=60-100g; BIG=500-600g) of seabass (*Dicentrarchus labrax*) reared in a recirculating aquaculture system at different water flow rates (A=1m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>, and B=1,75-2,5m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>). Average ± s.d. in g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>

		Size range											
		SMALL						BIG					
		Water flow rate						Water flow rate					
		A			B			A			B		
		average	s.d.	n	Average	s.d.	n	average	s.d.	n	average	s.d.	n
<b>Feed intake</b> g total	1000.0	1000.0						1000.0					
	DM	900.0	72.0	10	900.0	72.0	10	900.0	81.0	10	900.0	81.0	10
	C	452.9	25.9	5	452.9	25.9	5	463.2	26.5	5	463.2	26.5	5
	N	72.1	5.6	5	72.1	5.6	5	72.1	5.6	5	72.1	5.6	5
	C/N	6.3			6.3			6.4			6.4		
<b>Growth</b>	total	659.0	63.0	26	659.0	63.0	26	648.0	62.0	54	648.0	62.0	54
	C	136.2	0.7	5	136.2	0.7	5	134.0	0.7	5	134.0	0.7	5
	N	16.6	13.2	5	16.6	13.2	5	16.3	13.0	5	16.3	13.0	5
	C/N	8.2			8.2			8.2			8.2		
Particulate wastes (NSP)	total	148.1	9.8	6	192.5	30.2	18	200.4	34.2	6	290.1	35.3	16
	C	37.8	1.3	6	40.8	3.3	18	38.8	8.0	6	56.0	6.5	16
	N	5.6	0.3	6	6.0	0.9	18	4.8	0.9	6	6.3	1.2	16
	C/N	6.8			6.8			8.2			8.9		
<b>Non particulate wastes</b>													
	C-CO <sub>2</sub>	123.9	11.9	2	123.9	11.9	2	201.1	19.2	2	201.1	19.2	2
	N-TAN	19.0	2.1	8	26.5	2.9	24	15.4	3.4	8	29.7	6.5	20
	N-Urea	2.2	0.2	8	3.1	0.3	24	2.0	0.6	8	4.9	1.4	20

NSP=PT + SS<sub>out</sub> - SS<sub>in</sub>, where PT is daily-trapped particles (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>), SS<sub>out</sub> is the flux of suspended solids in the outlet of rearing tank (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>); SS<sub>in</sub> is the flux of suspended solids in the inlet of rearing tank (g kg<sub>feed</sub><sup>-1</sup>).

- Figure 1. Experimental recirculating aquaculture system comprised of: (1) Two self-cleaning tanks (only one is shown). Particle control devices, (2) Drum screen filter, (3) Particle trap. Water treatment loop (4) Pumping tank where pH control and temperature are regulated; (5) Pump, (6) UV disinfection unit, (7) Submerged nitrifying biofilter, (8) Degassing unit, (9) Oxygenation device and (10) Self-feeding system. Sampling points are shown ( ★ ).
- Figure 2. Production of N-urea and TAN ( $\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4$ ) by rearing tanks of a RAS for two sizes of seabass (64-93g-○ and 512-591g-●) as function of water flow rates.
- Figure 3. Net solids production (NSP) per rearing tank of an RAS for two sizes of seabass (64-93g-○ and 512-591g-●) as a function of water flow rates.
- Figure 4. Particle trap efficiency and solids collected (average $\pm$ s.d.) as a function of water flow rates through rearing tanks of an RAS for two sizes of seabass (64-93g-○ and 512-591g-●).
- Figure 5. Drum filter efficiency and evacuated matter (average $\pm$ s.d.) as a function of water flow rates through filter of an RAS for two sizes of seabass (64-93g-○ and 512-591g-●).
- Figure 6. Biofilter performance ( $\Delta$  TAN) and accumulated particulate carbon within treatment loop (% , respect to incoming matter) as function of water flow rate. Average  $\pm$  d.s. during a seabass culture in an RAS for two sizes of fish (64-93g-○ and 512-591g-●).

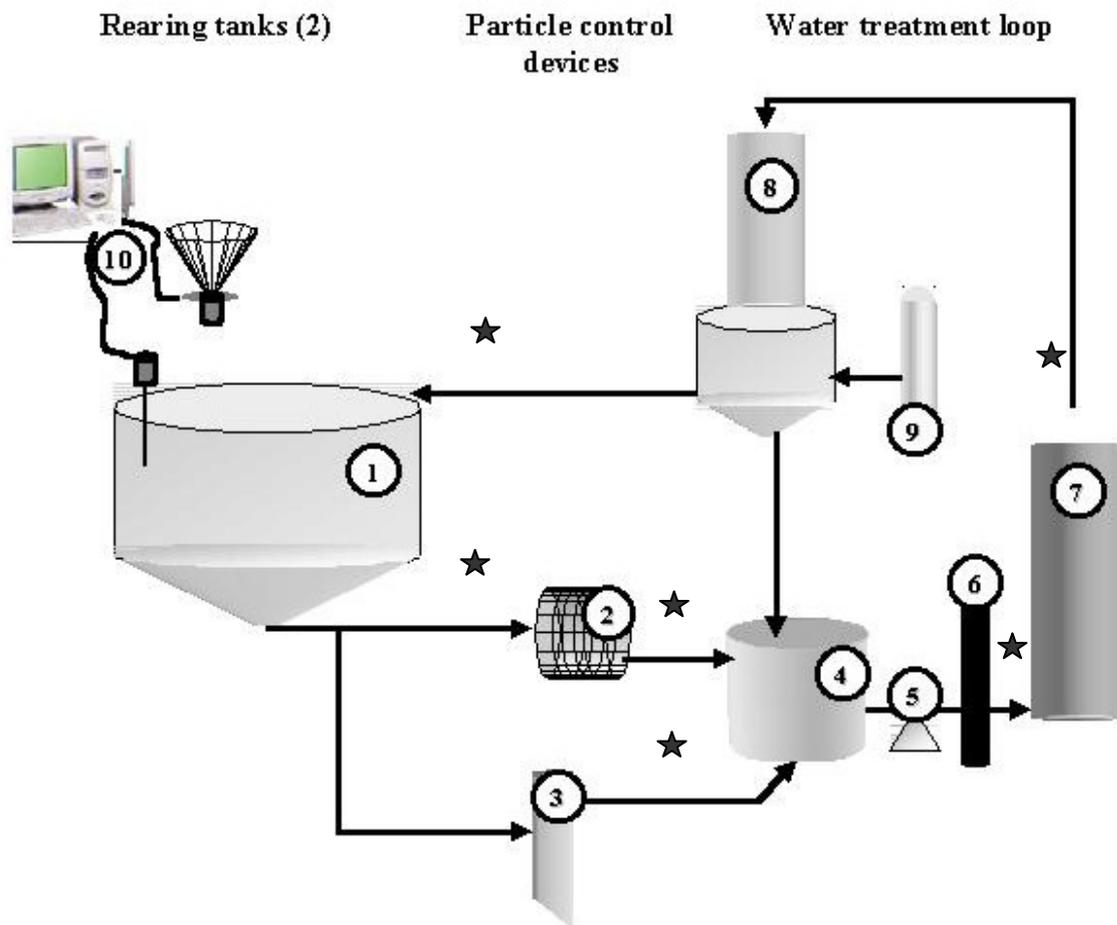


Figure 1.

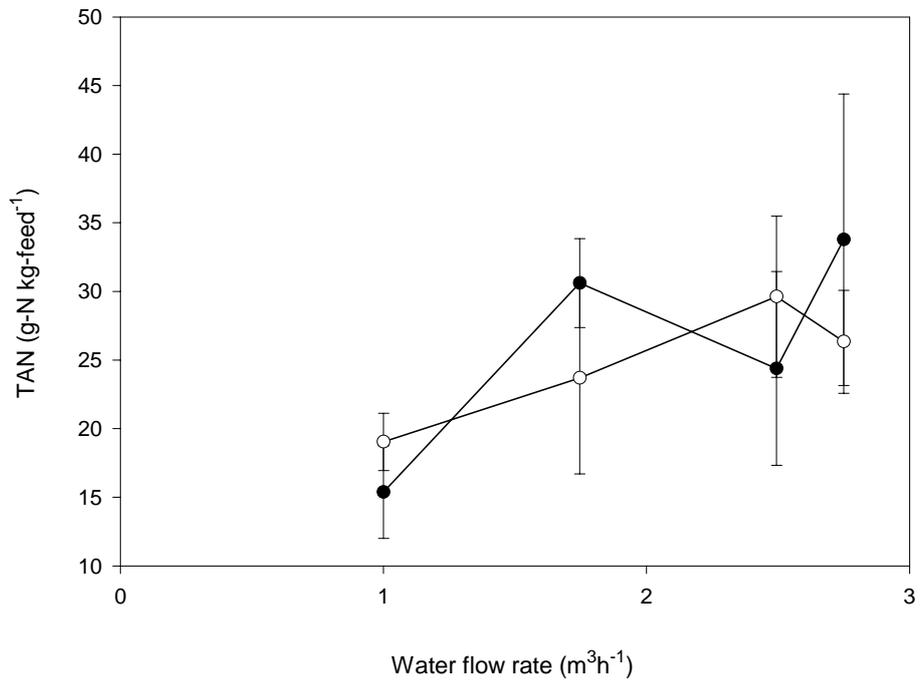
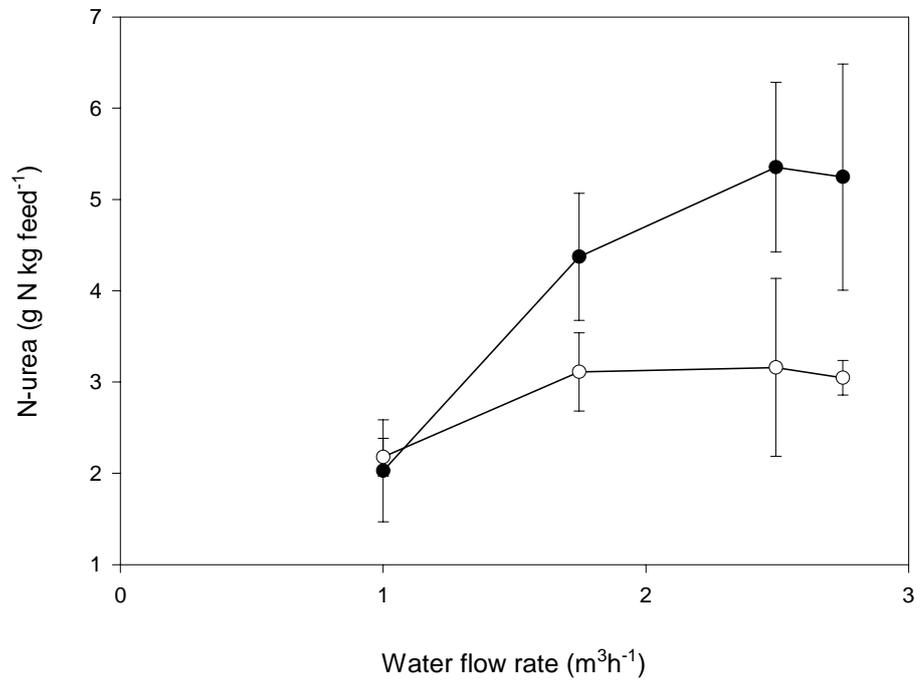


Figure 2.

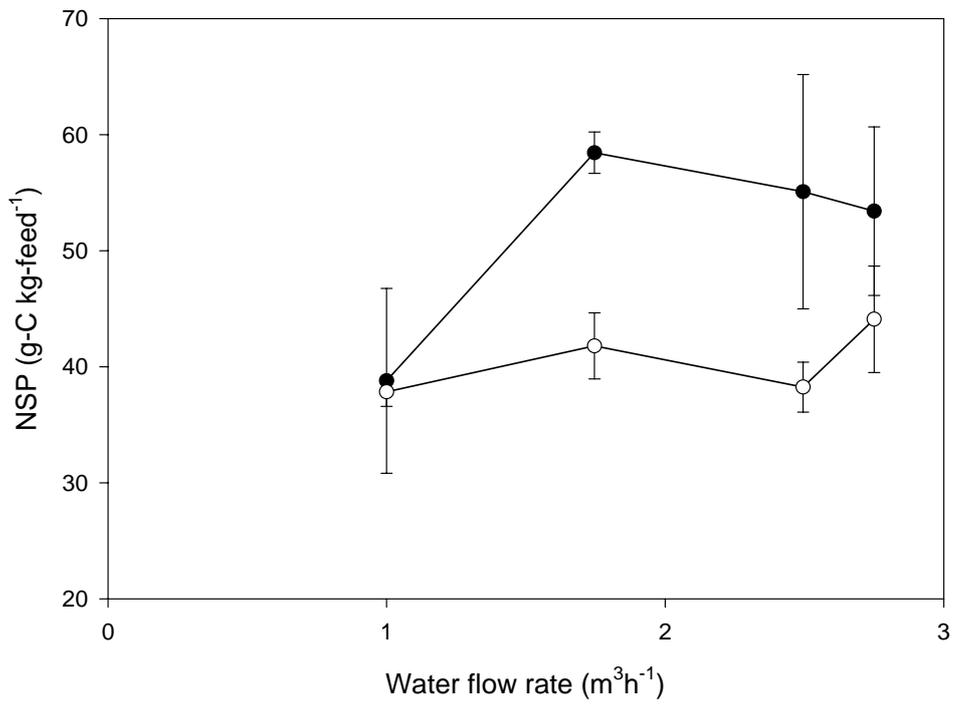


Figure 3.

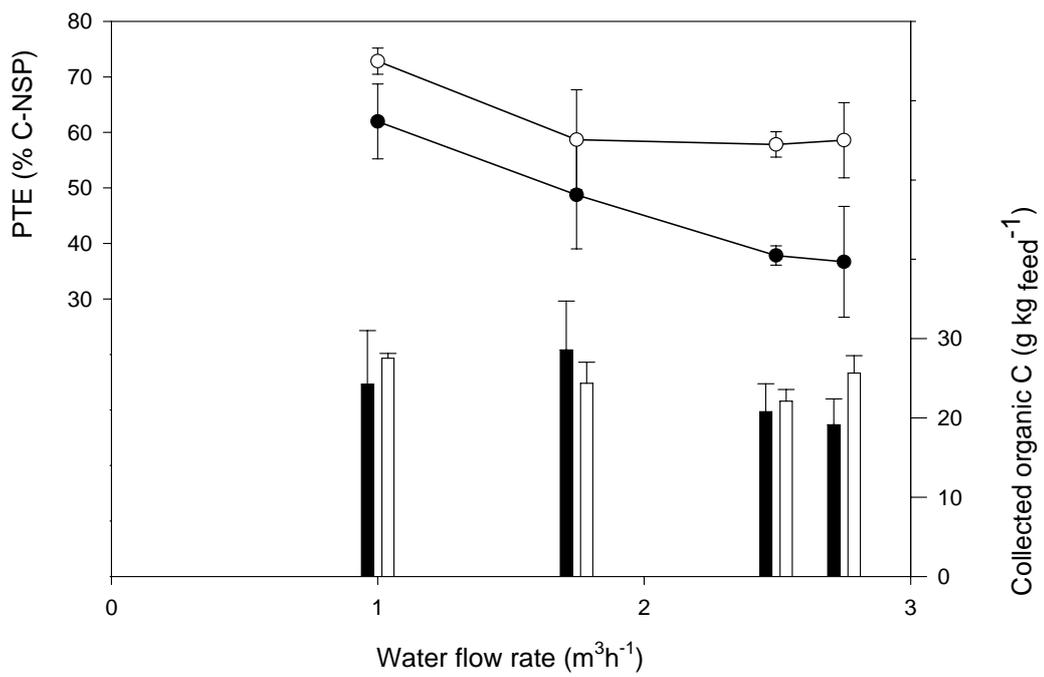


Figure 4.

Figure 5.

Figure 6.



## ANNEXE C (Liste de Publications et communications)

### Articles dans revue à comité de lecture

**Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Deviller, G., Le-Gall, J.Y., \_\_\_\_\_. Organic matter dynamics and transformations in a recirculating aquaculture system: Application of stable isotope tracers in a sea bass rearing. *Aquacultural Engineering*. (soumis)

**Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Charrier, A., Deviller, G., Le-Gall, J.Y., \_\_\_\_\_. Effect of fish size and hydraulic regime on particulate organic matter dynamics in a recirculating aquaculture system: Elemental carbon and nitrogen approach. *Aquaculture* (soumis)

Deville, G., Alliaume, C., **Franco-Nava, M.A.**, Casellas, C., Blancheton, J.P. \_\_\_\_\_. High rate algae pond treatment for water reuse in an integrated marine fish recirculating system. (soumis)

Deville, G., Palluel, O., Aliaume, C., Asanthi, H., Sanchez, W., **Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Casellas, C. \_\_\_\_\_. Impact assessment of various rearing systems on fish health using multi biomarker response and metal accumulation

### Articles dans revue sans comité de lecture

Deville, G., **Franco-Nava, M.A.** et Blancheton, J.P. 2000. Sea and brackish water Recirculation Systems for Round and flat Fish Production, Part II : Water Treatment and Utilization of by-products. *Global Aquaculture Advocate*, **3**(6):57.

### Communications pour colloque ou groupe de travail

**Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Charrier, A., Deddouche, J., Deviller, G. 2003. Particulate organic matter and biofiltration performance in recirculating aquaculture systems with high rate algal pond treatment. *Aquaculture Europe 2003, Beyond Monoculture, Extended abstracts and short communications*. European aquaculture society, special publication, 33 :190-191.

Deville, G., Blancheton, J.P., **Franco-Nava, M.A.**, Breuil, G. 2003. Fish susceptibility to nodavirus in various intensive (integrated, recirculating and flow through) marine rearing systems: Preliminary results. *Aquaculture Europe 2003, Beyond Monoculture, Extended abstracts and short communications*. European aquaculture society, special publication, 33 :164-165.

Michaud L., **Franco-Nava, M.A.**, Charrier, A., Blancheton, J.P., 2002. The influence of C/N ratio on the growth of fixed bacterial biofilm and Total Ammonia Nitrogen (TAN) removal rate. Abstracts of 8th Symposium on aquatic microbial ecology (SAME), October 25-30, 2002, Taormina, Italy, PS2.51.

- Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Deviller, G., Le Gall, J.Y. 2002. Using stable isotopes to trace particulate organic matter transformations in a recirculating aquaculture system. Aquaculture Europe 2002, Seafarming today and tomorrow, Extended abstracts and short communications. European aquaculture society, special publication, 32 :242-243.
- Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Rotureau, A., Deviller, G. 2002. Organic carbon management and biofiltration in a marine fish recirculating aquaculture system. Book of abstracts, World aquaculture 2002, international aquaculture conference & exposition, April 23-27, Beijing, China. World aquaculture society, CD-ROM World aquaculture 2002 abstracts:233.
- Deville, G., Blancheton, J.P., **Franco-Nava, M.A.** et Claude Casellas. 2002. High rate algae pond treatment for water reuse in a marine fish recirculating system, Book of abstracts, World aquaculture 2002, international aquaculture conference & exposition, April 23-27, Beijing, China. World aquaculture society, CD-ROM World aquaculture 2002 abstracts:180.
- Blancheton, J.P., Gasset, E., Léonard, N., Quezada Jimenez, L., **Franco, M.** 2001. Biofiltration of effluents from intensive sea fish production : long term operation and prospects for improvement. Aquacultural engineering society proceedings, 2001 AES issues forum, November 11-14, 2001, Shepherdstown, West Virginia (USA), Edited by Steven T. Summerfelt, Barnaby J. Watten, Michael B. Timmons. Aquacultural engineering society, Shepherdstown, West Virginia (USA), p. 237-253
- Franco-Nava, M.A.**, Blancheton, J.P., Rotureau, A. et Deviller, G. 2001. Effets de l'azote particulaire dans les eaux recyclées en pisciculture intensive du Loup (*Dicentrarchus labrax*). Ecole Thématique « le cycle de l'azote dans les écosystèmes terrestres et aquatiques » CNRS, 20-23 novembre, Carry-le-Rouet, France.