

Titre: Influence de la micro et mésafaune aquatiques sur les flux de phosphore au sein d'élevages piscicoles en étang
Title: phosphore au sein d'élevages piscicoles en étang

Auteur: Marie-Laure De Boutray
Author:

Date: 2009

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: De Boutray, M.-L. (2009). Influence de la micro et mésafaune aquatiques sur les flux de phosphore au sein d'élevages piscicoles en étang [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/8487/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/8487/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Yves Comeau, Jaume Puigagut, & Florent Chazarenc
Advisors:

Programme: Non spécifié
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

INFLUENCE DE LA MICRO ET MÉSOFAUNE AQUATIQUES SUR LES FLUX
DE PHOSPHORE AU SEIN D'ÉLEVAGES PISCICOLES EN ÉTANGS

MARIE-LAURE DE BOUTRAY
DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GEOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
AOÛT 2009



Library and Archives
Canada

Published Heritage
Branch

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Direction du
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence
ISBN: 978-0-494-57244-3
Our file Notre référence
ISBN: 978-0-494-57244-3

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

**
Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

INFLUENCE DE LA MICRO ET MÉSOFAUNE AQUATIQUES SUR LES FLUX
DE PHOSPHORE AU SEIN D'ÉLEVAGES PISCICOLES EN ÉTANGS

présenté par : de BOUTRAY Marie-Laure
en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées
a été accepté par le jury d'examen constitué de :

M. BARBEAU Benoit, Ph.D., président
M. COMEAU Yves, Ph.D., membre et directeur de recherche
M. PUIGAGUT Jaume, Ph.D., membre et codirecteur de recherche
M. CHAZARENC Florent, Ph.D., membre et codirecteur de recherche
M. LAREAU Sylvain, Ph.D., membre

DÉDICACE

« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme »

Rabelais, XVI^{ème} siècle

« Le savoir scientifique n'est pas absolu, mais socialement, culturellement, technologiquement et historiquement marqué, donc provisoire. »

Steven Rose, XX^{ème} siècle

« Quand on observe la Nature, on y découvre les plisanteries d'une ironie supérieure »

Honoré de Balzac, XIX^{ème} siècle

« Il n'est scientifiquement pas prouvé que le poisson développe l'intelligence, mais il stimule incontestablement l'imagination des pêcheurs »

Anonyme

Je dédie ce mémoire à Alain Lehman, Guillermo Pieli et Jocelyn Forget, 3 anciens professeurs, qui m'ont fortement encouragée à poursuivre une carrière scientifique

Je dédie aussi ce travail à toute ma famille, en particulier à mes parents qui m'ont épaulée depuis le début de ce projet. Merci pour vos nombreuses prières

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Yves Comeau pour m'avoir donné l'opportunité d'intégrer son équipe de recherche et pour avoir accepter de diriger ce mémoire.

J'exprime toute ma reconnaissance à Jaume Puigagut et Florent Chazarenc pour leur soutien, les conseils qu'ils m'ont prodigués et les discussions constructives que nous avons eues au cours de ce projet.

Je souhaite aussi remercier Benoit Barbeau d'avoir accepté la présidence de mon jury ainsi que Sylvain Lareau et Serge Parent d'avoir accepté d'en être les examinateurs externes.

Je remercie vivement Denis Bouchard, Mélanie Bolduc, Sébastien Houle et Caroline St-Pierre pour toute l'aide apporté concernant les analyses de mes échantillons et les nombreux conseils forts utiles.

Je remercie également Bernadette Pinel-Alloul, de l'Université de Montréal, pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, ainsi que Ginette Méthot pour son aide concernant la culture d'algues et Catherine Blanchet pour avoir assurer la réalisation des analyses de chlorophylle a.

Je ne saurai oublier Serge Gilbert et Brigitte Martel qui ont accepté ce projet à leur pisciculture et qui m'ont aidé lorsque des difficultés se présentaient.

Mes remerciements s'adressent également à Guy Ouellet, Dominic Marcotte, Daniel Gagnon et Valérie Gagnon pour leur soutien, leurs commentaires constructifs et leur aide technique.

Je remercie Daniel Proulx pour m'avoir envoyé de nombreux articles bien utiles.

Merci à Bernard Clément de son aide pour l'analyse statistique de mes données.

Merci de nouveau à Jaume Puigagut et Serge Parent pour les nombreuses corrections apportées à mon article.

Je tiens également à remercier le CRSNG, la SORDAC, le RAQ, Arcelor Mittal et MultiServ pour leur appui financier tout au long de ce projet de maîtrise.

Je remercie aussi les divers partenaires qui m'ont accompagné au cours de cette recherche : le MAPAQ, le MDDEP, l'IRBV de l'Université de Montréal, le Biodôme de Montréal et la Pisciculture Gilbert Inc.

Mes remerciements vont également à l'École des Mines de Nantes qui m'a accueillie dans son département de Systèmes Energétiques et Environnement pour un stage à l'hiver 2009.

Finalement je tiens à remercier ma famille et mes amis pour leur support moral, leurs encouragements, leur bonne humeur et leur enthousiasme. Vous m'avez soutenu jusqu'au bout et je vous en suis très reconnaissante. Soyez assurés de ma profonde gratitude.

RÉSUMÉ

Afin de moderniser les entreprises piscicoles québécoises et de les engager dans la voie du développement durable, un plan nommé : stratégie de développement durable de l'aquaculture en eau douce du Québec (STRADDAQ) a été élaboré. Celui-ci vise l'atteinte d'ici 2014 d'une norme de rejet en phosphore (P) fixée à 4,2 kg P /tonne de poisson produit, ce qui équivaut à réduire d'environ 40% les rejets des entreprises par rapport à 2002. Peu de solutions proposant un traitement biologique des effluents ont été envisagées. En outre, peu d'information sur la dynamique biologique des étangs piscicoles est disponible.

Le but de ce projet est de caractériser la densité et la diversité des microorganismes dans la colonne d'eau et dans les boues d'une pisciculture en étangs afin d'en étudier l'impact sur les flux de phosphore.

Pour cette étude quatre étangs provenant d'une même pisciculture québécoise ont été sélectionnés. L'eau et la boue accumulée au fond de ces étangs ont été analysées entre juillet 2008 et janvier 2009 au cours de 9 campagnes d'échantillonnage. L'objectif était de déterminer l'effet (a) de la nature du fond, (b) du temps de rétention hydraulique (TRH) (c) de l'absence de poissons (d) de l'âge des boues et (e) de la saison sur la densité et la diversité des microorganismes. Il était également prévu d'évaluer la contribution des microorganismes sur l'enlèvement du P au sein des boues.

Les résultats ont permis de montrer que les microorganismes sont plus abondants dans l'eau que dans les boues. Les chironomides sont le groupe qui a le plus fort potentiel de relargage de phosphore. L'abondance des microorganismes est plus faible dans les boues jeunes que dans les boues âgées qui s'accumulent tout au long de l'année dans l'étang d'où l'intérêt d'enlever périodiquement les boues accumulées.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	IV
REMERCIEMENTS.....	V
RÉSUMÉ.....	VII
TABLE DES MATIÈRES	VIII
LISTE DES TABLEAUX	XII
LISTE DES FIGURES.....	XIV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	XVI
LISTE DES ANNEXES	XIX
CHAPITRE 1: INTRODUCTION	1
1.1 Portrait de l'aquaculture dans le monde	1
1.2 Activités aquacoles du Canada et du Québec	2
1.3 STRADDAQ	5
1.4 Techniques de réduction des rejets de phosphore	7
1.5 Objectifs	10
1.6 Hypothèses	10
CHAPITRE 2: REVUE DE LITTÉRATURE.....	14
2.1 Les microorganismes du milieu aquatique	14
2.1.1 Terminologie	14
2.1.2 Relation entre les microorganismes	19
2.2 Le phosphore dans l'environnement	20
2.2.1 Processus physiques de rétention du phosphore	21
2.2.2 Processus chimiques de rétention du phosphore	23
2.2.3 Processus biologiques de rétention du phosphore.....	27
2.3 Le cycle du phosphore et ses différentes formes.....	30

2.3.1 Cycle biogéochimique du phosphore	30
2.3.2 Formes de phosphore	34
2.4 Eutrophisation du milieu aquatique	36
2.4.1 Phénomène d'eutrophisation	36
2.4.2 Définition des termes	38
2.4.3 Causes de l'eutrophisation	38
2.4.4 Conséquences de l'eutrophisation	39
CHAPITRE 3: MATÉRIEL ET MÉTHODES	42
3.1 Description du site étudié	42
3.2 Activités réalisées sur le terrain.....	49
3.2.1 Fréquence d'échantillonnage.....	50
3.2.2 Méthode d'échantillonnage de l'eau	51
3.2.3 Méthode d'échantillonnage de la boue et du sol.....	52
3.3 Analyses effectuées sur les échantillons de terrain	54
3.3.1 Analyses effectuées sur les échantillons de boue et de sol	55
3.3.2 Analyses effectuées sur les échantillons d'eau	60
CHAPITRE 4: POTENTIAL CONTRIBUTIONOF MICRO- AND MESOFAUNA TO PHOSPHORUS RELEASE FROM FISH FARM SLUDGE	61
4.1 Abstract.....	62
4.2 Introduction	63
4.2 Materials and methods.....	65
4.2.1 Site and pond description	65
4.2.2 Water samples	66
4.2.3 Sludge samples.....	67
4.2.4 Physico-chemical analyses	67
4.2.5 Microfauna analysis	68
4.2.6 Mesofauna analysis	69
4.2.7 Statistical analysis	69

4.3 Results	69
4.3.1 Characterization of the pond water and sludges.....	69
4.3.2 Biological composition of the pond water and sludges	71
4.3.3 Potential phosphorus release by micro and mesofauna groups.....	72
4.4 Discussion.....	74
4.4.1 Micro and mesofauna communities	74
4.4.2 Contribution to P release by microorganisms	76
4.4.3 Pond operational strategies to reduce the potential contribution of fauna to P release	77
4.5 Conclusion.....	78
4.6 Acknowledgements	79
4.7 References	79
CHAPITRE 5: RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES.....	87
5.1 Abondance et relargage de phosphore.....	88
5.2 Influence du TRH	90
5.2.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang 12.....	90
5.2.2 Communauté faunistique et TRH.....	91
5.3 Influence de la saison	92
5.4 Influence de l'âge des boues.....	92
5.4.1 Comparaison entre les boues du fond et celles du cône de l'étang 8	92
5.4.2 Communauté faunistique et âge des boues	94
5.5 Influence du type de fond	95
5.5.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang 6.....	95
5.5.2 Communauté faunistique et nature du fond	96
5.6 Effet de la présence des poissons	96
5.6.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang de sédimentation.....	96
5.6.2 Communauté faunistique et présence de poissons	97
5.7 Discussion générale	97

CHAPITRE 6: CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS.....	99
6.1 Conclusions	99
6.2 Recommandations	100
RÉFÉRENCES.....	101
ANNEXES.....	114

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1: Caractéristiques des étangs.....	46
Tableau 3.2 : Analyses effectuées sur les différents échantillons	55
Tableau 3.3 : Facteurs de conversion pour la microfaune étudiée	59
Table 4.1 : Characterization of the water and sludges of the fish pond	70
Table 4.2 : Abundance and biomass for the biological groups in each habitat (Water, BS or CS) during the sampling period (Mean ± SD, n=4)	71
Table 4.3 : Abundance, maximum o-PO ₄ -P excretion rate, potential P release, potential P mobilization and required days for P mobilization at the bottom of the earthen pond (BS).....	72
Table 4.4 : Abundance, maximum o-PO ₄ -P excretion rate, potential P release, potential P mobilization and required days for P mobilization in a cone sludge (CS)	73
Table 4.5 : Shape, mean biovolume, conversion factor for transforming wet weight to dry weight, dry weight (DW) and reference dry weight in natural environment.....	76
Tableau 5.1 : Récapitulatif des comparaisons entre chaque bassin.....	87
Tableau 5.2 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 8	88
Tableau 5.3 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 12	88
Tableau 5.4 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue du cône de l'étang 8.....	89
Tableau 5.5 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 6	89

Tableau 5.6 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang de sédimentation	89
Tableau 5.7 : Caractéristiques biologiques et physico-chimiques dans l'eau de l'étang 8	93

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Production mondiale (millions de tonnes), pêche de capture et aquaculture (FAO)	2
Figure 1.2 : Aquaculture en eau douce : répartition des ventes selon l'espèce en 2005	3
Figure 1.3 : Production piscicole au Québec (Morin, 2007)	4
Figure 1.4 : Stratégie d'adaptation du développement durable, processus global (TFAED, 2003)	6
Figure 1.5 : Relation entre le temps de renouvellement des eaux et la charge de phosphore en sortie de plusieurs étangs d'élevage (adapté de Ouellet <i>et al.</i> 2007)	9
Figure 1.6 : Relation entre le temps de rétention des rejets solubles et la charge de phosphore en sortie de plusieurs étangs d'élevage	9
Figure 2.1 : Flagellé, observation en contraste de phase, grossissement 400X	15
Figure 2.2 : Cilié, observation en contraste de phase, grossissement 400X	16
Figure 2.3 : Métazoaires – (A) vers microscopique de type oligochète, (B) tardigrade, observations sous lumière directe, grossissement 100X	16
Figure 2.4 : Nématode, observation sous lumière directe, grossissement 100X	17
Figure 2.5 : Rotifère, observation sous lumière directe, grossissement 100X	17
Figure 2.6 : Oligochètes de type <i>Tubifex sp.</i> (www.allabout-aquariumfish.blogs)	18
Figure 2.7 : Chironomide – (A) mâle adulte, (B) larve	18
Figure 2.8 : Relation entre les principales espèces étudiées et le phosphore	19
Figure 2.9 : Solubilité des phosphates de calcium, fer et aluminium. Dicalcium de phosphate anhydre (CaHPO ₄), dicalcium de phosphate dihydraté (CaHPO ₄ -	

2H ₂ O), octocalcium de phosphate (Ca ₄ H(PO ₄) ₃ , hydroxyapatite (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂), fluor-apatite Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (F) ₂ , β-phosphate de calcium tribasique (β-Ca ₃ PO ₄) ₂ variscite (AlPO ₄), strengite (FePO ₄).....	25
Figure 2.10 : Cycle biogéochimique du phosphore (adapté de www.previmer.org) ..	33
Figure 2.11 : Formes de phosphore en fonction de la méthode utilisée pour sa détermination (APHA, 2005).....	35
Figure 3.1: Configuration de la pisciculture.....	45
Figure 3.2 : Cône de sédimentation et son emplacement dans le bassin 8.....	47
Figure 3.3 : Bassins à l'étude	48
Figure 3.4 : Activités d'échantillonnage sur le terrain	49
Figure 3.5 : Présentation des points d'échantillonnage des boues et de la colonne d'eau dans un bassin type	51
Figure 3.6 : Échantillonnage de l'eau, de la boue et du sol du bassin 8.....	52
Figure 3.7 : Échantillonnage du sol avec la sonde Multisampler de Eijkelkamp	53
Figure 3.8 : Échantillonnage de la boue et de l'eau dans le bassin bétonné	54

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

- AAQ Association des Aquaculteurs du Québec
- Al Aluminium
- C Carbone
- Ca Calcium
- CaCO₃ Carbonate de calcium
- CER Cible environnementale de rejet
- Chl *a* Chlorophylle *a*
- Cond. Conductivité
- DIP Phosphore inorganique dissous (*dissolved inorganic phosphorus*)
- DOP Phosphore organique dissous (*dissolved organic phosphorus*)
- DRP Phosphore réactif dissous (*dissolved reactive phosphorus*)
- FAO Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (*Food and Agriculture Organization*)
- FC Facteur de conversion (*conversion factor*)
- Fe Fer
- HRT Temps de rétention hydraulique (h) (*hydraulic retention time*)
- MAPAQ Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
- MDDEP Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec
- MES Matières en suspension
- MFI Matières filtrables inertes
- MFT Matières filtrables totales
- MFV Matières filtrables volatiles
- Mg Magnésium

• MH	Masse humide (<i>fresh weight</i>)
• MIES	Matières inertes en suspension
• MIT	Matières inertes totales (mg/L ou mg/g)
• Mn	Manganèse
• MO	Matière organique
• MPO	Ministère des Pêches et Océans Canada
• MRC	Municipalité régionale de comté
• MRNF	Ministère de Ressources naturelles et de la Faune
• MS	Masse sèche (<i>dry weight</i>)
• MT	Matières totales (mg/L ou mg/g)
• MVES	Matières volatiles en suspension
• MVT	Matières volatiles totales (mg/L ou mg/g)
• NH ₄	Ammoniaque
• NO _x	Nitrates et nitrites
• OD	Oxygène dissous (mg/L)
• OER	Objectifs environnementaux de rejets
• o-PO ₄	Orthophosphates (mg P/L)
• p	Phosphore (kg P)
• PIP	Phosphore inorganique particulaire
• POP	Phosphore organique particulaire
• PT	Phosphore total (<i>total phosphorus</i>)
• RAQ	Réseau Aquaculture Québec
• rpm	révolutions par minute
• S _{max}	Sorption maximale du P
• STRADDAQ	Stratégie de développement durable de l'aquaculture en eau douce au Québec
• t	Tonne
• T°	Température

- TFAEDQ Table filière de l'aquaculture en eau douce du Québec
- TOC Carbone organique totale (*total organic carbon*)
- TRH Temps de rétention hydraulique
- TRMD Temps de résidence des matières dissoutes
- TS Matières totales (*total solids*)
- TSS Matières totales en suspension (*total suspended solids*)
- VS Matières volatiles (g VS/g échantillon) (*volatile solids*)

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1. Méthodologie pour échantillonnage avec la sonde Multisampler de Eijkelkemp.....	115
ANNEXE 2. Résumé de Puigagut <i>et al.</i> (2009)	121
ANNEXE 3. Analyse de la concentration de chlorophylle- α par spectrophotométrie	126
ANNEXE 4. Compilation des données des boues du bassin 8	127
ANNEXE 5. Compilation des données de l'eau du bassin 8	127
ANNEXE 6. Compilation des données des boues cône du bassin 8	127
ANNEXE 7. Compilation des données des boues du bassin 6	127
ANNEXE 8. Compilation des données de l'eau du bassin 6	127
ANNEXE 9. Compilation des données des boues du bassin de sédimentation	127
ANNEXE 10. Compilation des données de l'eau du bassin de sédimentation	127
ANNEXE 11. Compilation des données des boues du bassin 12	127
ANNEXE 12. Compilation des données de l'eau du bassin 12	127
ANNEXE 13. Moyenne des paramètres des boues en fonction de la saison	127
ANNEXE 14. Moyenne des paramètres de l'eau en fonction de la saison	127
ANNEXE 15. Moyenne des paramètres des boues	127
ANNEXE 16. Moyenne des paramètres de l'eau	127

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

« Science: procédé de recherche qui consiste à aboutir à la vérité par la négation de toutes les hypothèses que le raisonnement ou l'expérience ne permettent pas d'admettre ». André Lalande, XX^{ème} siècle

1.1 Portrait de l'aquaculture dans le monde

L'industrie de l'aquaculture est en pleine croissance (figure 1.1). C'est actuellement le secteur agroalimentaire qui prend le plus d'expansion à travers le monde. Avec un taux de progression annuel de 7%, elle offre un immense potentiel de développement économique et permet la création de nombreux emplois dans le monde (FAO, 2008). Son essor est plus rapide que celui de tous les autres secteurs de production alimentaire d'origine animale et a dépassé la croissance démographique mondiale. D'ailleurs, selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), près de la moitié du poisson consommé provient de l'aquaculture. La forte augmentation de l'aquaculture est une conséquence directe de l'augmentation de la demande mondiale de poisson et de fruits de mer ainsi que de la diminution de la plupart des stocks sauvages (MPO, 2008).

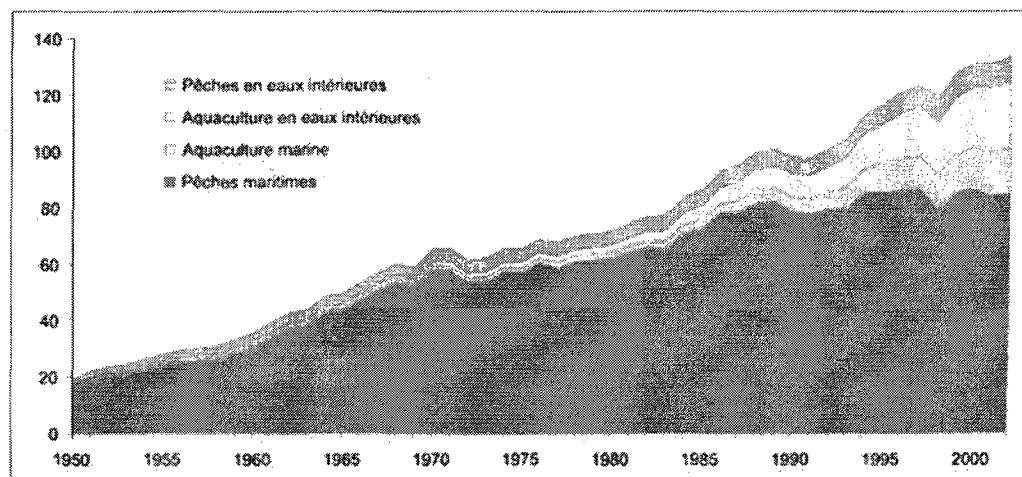


Figure 1.1 : Production mondiale (millions de tonnes), pêche de capture et aquaculture (FAO)

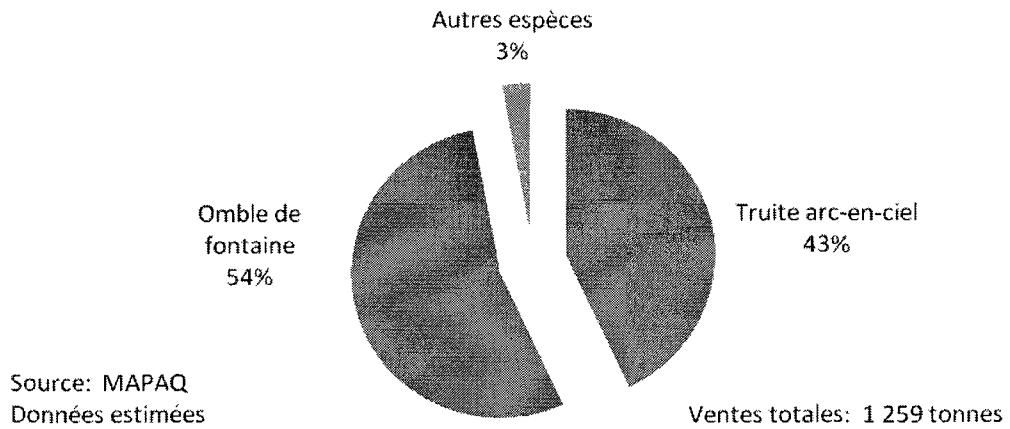
En excluant la Chine - qui représente le tiers de la production mondiale - l'ensemble des activités aquacoles représentent 51,7 millions de tonnes de poissons, mollusques et crustacés pour une valeur de 79 milliards de dollars (FAO, 2008).

1.2 Activités aquacoles du Canada et du Québec

En 2002, le Canada se classait 22^{ème} parmi les pays qui pratiquent l'aquaculture. Toutefois sa production comptait pour moins de un tiers de un pour cent de la production mondiale de poissons et de fruits de mer (MPO, 2008).

Au Québec, l'aquaculture commerciale et les pêcheries constituent un pilier important pour l'économie des régions maritimes. Ce secteur contribue à la création d'environ 8000 emplois et génèrent des revenus de près de 300M de dollars canadiens (MAPAQ, 2007). On différencie deux (2) types d'aquacultures : l'aquaculture en eau douce (i.e. activité dulcicole, dulciculture) et l'aquaculture en eau salée (i.e. activité maricole, mariculture). Ce sont les salmonidés qui constituent la majorité des

élevages dulcicoles québécois, en particulier la truite arc-en-ciel et l'omble de fontaine (figure 1.2).



**Figure 1.2 : Aquaculture en eau douce : répartition des ventes selon l'espèce en 2005
(MAPAQ, 2008)**

La production piscicole du Québec s'écoule sur les marchés de l'ensemencement, la pêche sportive et le marché de la table, le premier constituant pas moins de 75% des ventes totales de la dulciculture québécoise pour un total de 8,3 M de dollars en 2005 (MAPAQ, 2008).

Les premières activités dulcicoles ont commencé en 1857, mais ce n'est qu'à partir de 1980 que l'aquaculture en eau douce prend réellement son essor au Québec, grâce aux investissements financiers du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), pour atteindre un sommet en 1999 avec une production de 2 411 tonnes (Morin, 2007). Cependant, depuis les années 2000, la production dulcicole a progressivement diminué suite à la fermeture, pour des raisons environnementales et économiques, de quelques entreprises importantes. (MAPAQ, 2008; Lareau, 2009) (figure 1.3). L'émergence d'inquiétudes environnementales et la mise en place de directives beaucoup plus sévères de la part du Ministère du

Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs (MDDEP) n'ont pas favorisé la reprise de développement dans ce secteur.

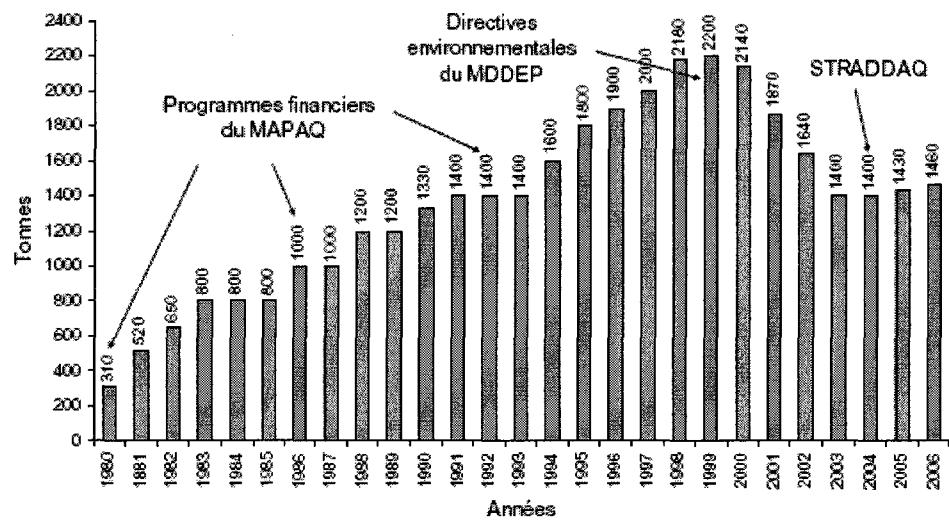


Figure 1.3 : Production piscicole au Québec (Morin, 2007)

La production piscicole peut entraîner des modifications du milieu aquatique, lorsque le milieu récepteur est inappropriate. Les principaux bouleversements sont : une augmentation des composés liés au métabolisme des poissons (déchets organiques, composés azotés, phosphore), un changement de la température de l'eau, un changement de pH selon le métabolisme du poisson et de la capacité tampon de l'eau ainsi qu'une augmentation de solides en suspension, de solides sédimentables et de phosphore lié aux aliments non ingérés (AAQ *et al.*, 2003), dont les impacts sont potentiellement nocifs pour l'environnement (Sara, 2007; Zhang and Fang, 2006). En effet, ces changements peuvent entraîner une eutrophisation¹ du milieu et une croissance excessive d'algues et de plantes aquatiques. À cet égard, il est impératif de

¹ Dégradation d'un milieu aquatique lié, en général, à un apport important de substances nutritives (azote, phosphore), qui augmente la production d'algues et de plantes aquatiques.

choisir les nouveaux sites de production piscicole en tenant compte de la capacité du milieu récepteur à absorber les rejets, sans impacts excessifs pour l'environnement.

1.3 STRADDAQ

Parmi les modifications ci-haut mentionnées, le rejet de phosphore dans l'environnement est la principale préoccupation du gouvernement, de l'industrie et du public. En effet, le phosphore contribue de façon significative à l'eutrophisation du milieu récepteur. La Table de la filière de l'aquaculture en eau douce (TFAED) s'est donc chargée de développer une stratégie d'adaptation afin de moderniser les entreprises piscicoles, de mettre à niveau les systèmes de traitement des rejets et d'engager les aquaculteurs dans la voie du développement durable. Le résultat de cette concertation est rapporté dans la Stratégie de développement durable de l'aquaculture en eau douce au Québec (STRADDAQ).

La STRADDAQ est un plan conçu entre un ensemble de partenaires affiliés à la TFAED dont le principal est l'association des aquaculteurs du Québec (AAQ). Il y a aussi le MDDEP et le MAPAQ. Ce partenariat tient compte de chacun des maillons de la filière aquacole du Québec. La stratégie proposée est un virage vers une aquaculture durable et viable. Elle s'articule principalement autour d'un objectif précis en matière de performance environnementale : l'atteinte d'ici 2014 d'une norme de rejet de phosphore (P) établit à 4,2 kg de P par tonne (t) de production. Les piscicultures qui décident d'adhérer, sur une base volontaire, à la STRADDAQ s'engagent donc à diminuer leurs rejets moyens annuels, estimés de 7,2 kg de P, afin de respecter cette nouvelle limite, ce qui équivaut à une diminution globale de 40 % de la quantité de P rejetée dans les milieux récepteurs (AAQ *et al.*, 2003). Cette stratégie permet de protéger le milieu aquatique, d'améliorer les performances environnementales des piscicultures québécoises, d'assurer la compétitivité de celles-

ci sur le marché et de préserver les emplois en aval, dont ceux liés à la transformation des produits piscicoles (TFAED, 2003).

La mise en application de la STRADDAQ est graduelle et comporte trois (3) phases étalées entre 2004 et 2014 (figure 1.4)

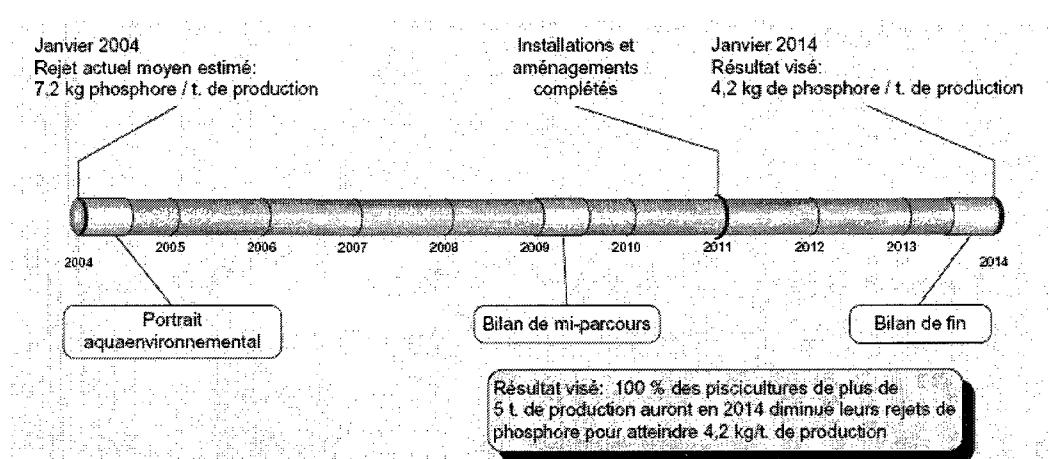


Figure 1.4 : Stratégie d'adaptation du développement durable, processus global (TFAED, 2003)

Les piscicultures visées par la STRADDAQ sont celles ayant une production de plus de 5 t par an. Entre 2004 et 2005, un portrait aquaenvironnemental a été établi dans 67 piscicultures ayant adhéré au projet de la TFAED. Cette étape constitue la première phase de la STRADDAQ. Elle sert principalement à caractériser les piscicultures afin de connaître la production actuelle de chaque entreprise et à acquérir une meilleure connaissance de l'équipement et des pratiques piscicoles des entreprises pour établir leur impact sur l'environnement (MAPAQ, 2008). Grâce aux données recueillies, une cible environnementale de rejet (CER) est établie pour chaque pisciculture. En adhérant à la STRADDAQ, le pisciculteur bénéficie de l'expertise du MAPAQ pour l'orienter dans ses choix quant au type d'aliment à utiliser et sur le système de traitement à installer pour atteindre sa CER. Le pisciculteur a jusqu'en 2010 pour modifier les installations physiques de son

entreprise et adopter, si nécessaire, de nouvelles pratiques de gestion lui permettant d'atteindre sa cible. À partir de la fin de ses travaux, le pisciculteur bénéficie d'un délai variant entre trois (3) et cinq (5) ans pour atteindre sa CER, c'est-à-dire un rejet moyen annuel de 4,2 kg de P par t de production (TFAED, 2003). Lorsque la CER est atteinte, le pisciculteur peut obtenir une augmentation de sa production.

1.4 Techniques de réduction des rejets de phosphore

Afin d'atteindre leur CER, diverses solutions sont proposées aux pisciculteurs. Un ensemble de techniques réduisant l'émission de polluants en optimisant chaque étape de la production piscicole a été compilé dans un concept appelé « *best management practice* » (BMP) développé par Boyd *et al.* à l'université d'Auburn (Alabama, USA) en 2001.

L'optimisation du contenu en P de la moulée servant à l'alimentation des poissons est une des techniques permettant de réduire les rejets de P dans l'environnement. Cette technique est celle qui a le plus d'impact sur la concentration de P dans les rejets; elle est donc la première étape parmi toutes les techniques proposées. Celle-ci permet d'atteindre des rejets avant traitement inférieurs à 5,0 kg de P par t de production (MAPAQ, 2006). Les nouvelles générations de moulée contiennent moins de P, sont plus facilement assimilables par les poissons, et offrent une meilleure cohésion des fèces ce qui favorise leur décantation (Brinker *et al.*, 2005). L'optimisation de l'alimentation des poissons, par une meilleure gestion de la quantité de moulée donnée aux poissons et de la fréquence de distribution de celle-ci, permet également de limiter la quantité de P introduit dans la pisciculture.

Une autre technique pour réduire les rejets de P à l'effluent est le nettoyage des bassins et l'enlèvement des boues accumulées au fond par vidange complète des

étangs. La vidange annuelle des boues d'un étang permet de récupérer entre 5 et 19% du P ajouté par la moulée (Sanchez, 2008) dans cet étang. L'utilisation de systèmes de filtration et de sédimentation des boues permet également la rétention de matière particulaire, laquelle peut contenir entre 30 et 85% du P total (Cripps and Bergheim, 2000).

Afin de proposer des solutions performantes aux pisciculteurs pour atteindre leur CER, une connaissance approfondie des flux de phosphore en pisciculture est essentielle. La caractérisation physique du phosphore en étang est déjà bien établie (Yoo *et al.*, 2006). Plusieurs solutions basées sur des traitements physiques (filtration, sédimentation, vidange) ont été proposées pour réduire les rejets de P des effluents piscicoles. Toutefois, peu de solutions proposant un traitement biologique des effluents n'ont encore été envisagées. En outre, peu d'information sur la dynamique biologique en étangs piscicoles est disponible.

Certaines données présentées dans le rapport du portrait aquaenvironnemental (Ouellet et Simard, 2007), indiquent que les étangs d'élevage ne sont pas tous égaux quant à l'accumulation de P dans les boues et la nécessité d'exporter celles-ci pour respecter l'exigence de la STRADDAQ qui est de rejeter un rejet maximum de 4,2 kg de P par tonne de poissons produits. Il semblerait qu'à production piscicole égale, les étangs d'élevage dont le temps de renouvellement des eaux est plus long (conséquence d'un faible débit et/ou d'un grand volume d'étang) relarguent moins de phosphore total (figure 1.5 et 1.6; la figure 1.6 est une mise à jour de la figure 1.5).

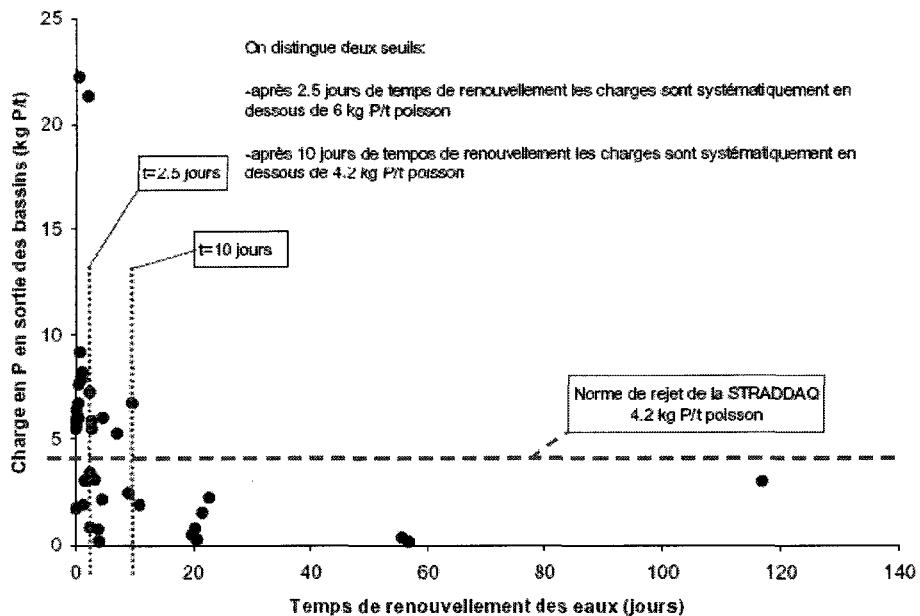


Figure 1.5 : Relation entre le temps de renouvellement des eaux et la charge de phosphore en sortie de plusieurs étangs d'élevage (adapté de Ouellet *et al.* 2007)

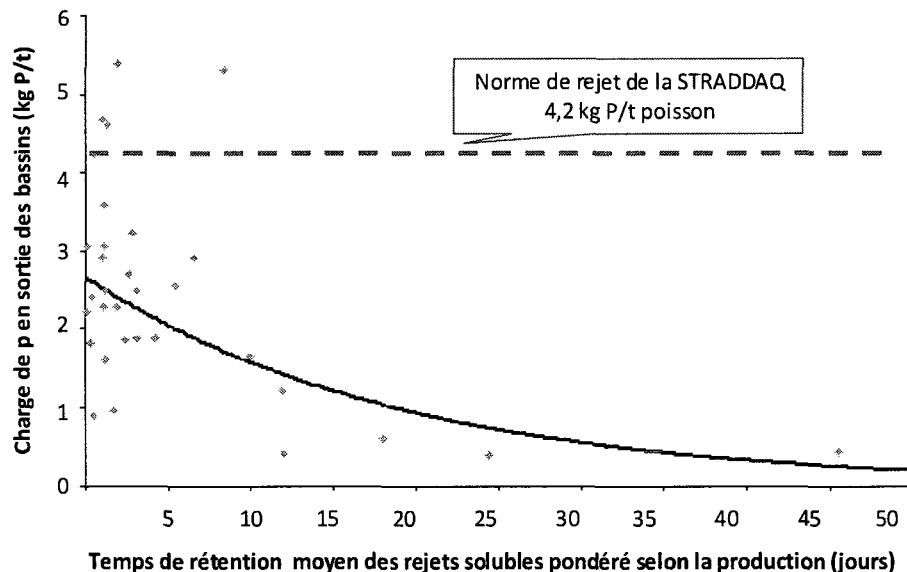


Figure 1.6 : Relation entre le temps de rétention des rejets solubles et la charge de phosphore en sortie de plusieurs étangs d'élevage (adapté de données préliminaires, Comité technique, STRADDAQ, 2009)

Un facteur clé à l'origine de ce phénomène serait possiblement associé au développement d'une flore (micro- et macro-algues) et d'une microfaune semblables à celles que l'on retrouve parfois dans le traitement des eaux (Porello *et al.*, 2003a, 2003b).

1.5 Objectifs

L'objectif de ce projet est de caractériser la densité, et la diversité des microorganismes dans la colonne d'eau et dans les boues d'une pisciculture en étangs afin d'en étudier l'impact sur les flux de phosphore. Une meilleure connaissance de la biologie des boues permettrait d'identifier les facteurs favorisant la rétention du P et d'en spécifier les meilleures modalités d'enlèvement.

1. Déterminer l'effet, (a) du temps de rétention hydraulique (TRH), (b) de la saison, (c) de l'âge des boues, (d) nature du fond (bétonné, non-bétonné) et (e) de la présence de poissons sur la densité et la diversité des microorganismes ainsi que la rétention du P en pisciculture.
2. Évaluer la contribution des microorganismes à l'enlèvement du P au sein des boues.

1.6 Hypothèses

L'hypothèse centrale de ce projet est que les étangs les plus extensifs favorisent la production primaire (algues) laquelle permet le développement d'une microfaune supérieure (rotifères et vers), ce processus biologique permet une rétention de phosphore (P) ce qui réduit alors les rejets dans le milieu récepteur. Cette hypothèse

est vérifiée par une analyse macroscopique et microscopique des boues accumulées au fond des étangs ainsi que de la colonne d'eau.

Les sous-hypothèses de recherche sont les suivantes :

- 1a. Les bassins piscicoles ayant un TRH plus long favorisent le développement de microorganismes supérieurs.

L'originalité de cette sous-hypothèse est basée sur le fait que le développement des microorganismes en fonction du TRH n'a jamais été étudié dans une petite pisciculture en étangs. La sous-hypothèse sera rejetée si les bassins ayant un TRH plus long ne présentent pas une microfaune plus développée que les bassins ayant un TRH plus court.

- 1b. Une saison plus chaude et plus ensoleillée (été) favorise la présence de micro-algues, laquelle permet le développement de microorganismes supérieurs tels que les métazoaires dans une truiticulture en étangs.

L'originalité de cette sous-hypothèse réside dans le fait que la caractérisation de la succession des microorganismes en fonction des saisons n'a pas été réalisée pour une truiticulture en étangs. La sous-hypothèse sera rejetée si les bassins à l'étude ne présentent pas une abondance plus importante d'algues et une microfaune plus développée à l'été, qu'au printemps ou à l'automne.

- 1c. Des boues piscicoles plus âgées permettent une diversité faunistique plus marquée comprenant des micro-organismes supérieurs, tels que des vers.

L'originalité de cette sous-hypothèse est basée sur le fait que le développement des vers au sein des boues de pisciculture n'a encore jamais été étudié. La sous-

hypothèse sera rejetée si des boues plus âgées ne présentent pas une communauté plus diversifiée.

- 1d. Dans les bassins d'élevage, un fond en terre permet une plus grande diversification des microorganismes comparativement à un fond bétonné.

L'originalité de cette sous-hypothèse réside dans le fait que la caractérisation des boues piscicoles d'une truiticulture en béton n'a encore jamais été élaborée. La sous-hypothèse sera rejetée si les bassins en terre de la pisciculture à l'étude ne présentent pas une communauté plus diversifiée que ceux ayant un fond en béton.

- 1e. En présence de poissons, la quantité de zooplancton sera plus faible et la quantité de phytoplancton plus élevée à cause de la prédatation.

L'originalité de cette sous-hypothèse est basée sur le fait que le lien entre la présence de truites en bassin piscicoles et la caractérisation des microorganismes des bassins n'a pas été établi. La sous-hypothèse sera rejetée si la quantité de zooplancton est plus élevée et la quantité de phytoplancton moins élevée dans le bassin ayant des truites que dans le bassin de sédimentation.

- 2a. Les microorganismes contribuent de façon importante à l'enlèvement du phosphore.

L'originalité de cette sous-hypothèse réside dans le fait que la contribution des microorganismes à l'enlèvement du phosphore n'a jamais été établie pour une pisciculture. La sous-hypothèse sera rejetée si la contribution des microorganismes n'est pas significative.

Le projet de recherche tel que défini précédemment dépasse le cadre de la maîtrise en terme de budget et de temps disponible. Le présent projet de maîtrise propose donc de traiter une partie seulement des objectifs ci-haut mentionnés.

L'échantillonnage, les analyses de terrain, les analyses de laboratoires et la compilation des données ont été effectuées pour l'ensemble du projet. Toutefois, seuls les résultats concernant l'effet de l'âge des boues (objectif 1c) et l'évaluation de la contribution des microorganismes à l'enlèvement du P (2a) seront présentés en détails dans le chapitre 4 sous la forme d'un article soumis à la revue *Aquaculture*. Les résultats concernant les autres objectifs seront présentés superficiellement dans la partie résultats complémentaires.

CHAPITRE 2

REVUE DE LITTÉRATURE

« *On voyage autour du monde à la recherche de quelque chose et on rentre chez soi pour le trouver* ». George Moore, XX^{ème} siècle

2.1 Les microorganismes du milieu aquatique

2.1.1 Terminologie

La terminologie employée pour désigner les microorganismes n'est pas uniforme au sein du milieu scientifique. La présente section indiquera donc la définition des principaux termes employés tel qu'ils sont utilisés dans cet ouvrage. La section suivante proposera quant à elle une schématisation des liens entre les différents organismes.

Microorganismes: organismes vivants de petites tailles qui ne peuvent être observés qu'à l'aide d'un microscope

Microfaune: ensemble des espèces animales <0,5 mm

Microflore: ensemble des espèces végétales <0,1 mm

Pérophyton: ensemble de la microfaune et de la microflore qui se développe sur des surfaces immergées (plantes, roches, sol) de la plupart des écosystèmes aquatiques.

Benthos ou organismes benthiques: ensemble des organismes aquatiques vivant dans et/ou sur le sol (macrobenthos : >1mm; méiobenthos : <1 mm >0,063 mm; microbenthos : <0,063 mm)

Mésofaune: ensemble des espèces animales de > 0,5 mm vivant sur ou dans le sol.

Plancton: ensemble des microorganismes vivant dans l'eau

Zooplancton: ensemble des espèces animales du plancton

Phytoplancton: ensembles des espèces végétales du plancton

Protozoaire: organisme animal, unicellulaire, mobile ou fixé, généralement hétérotrophe

Flagellé: protozoaire possédant généralement un ou plusieurs flagelles (taille : 4-60 µm)

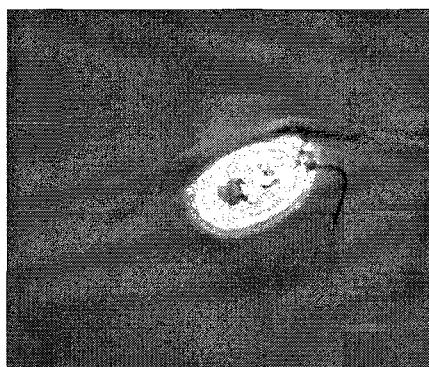


Figure 2.1 : Flagellé, observation en contraste de phase, grossissement 400X

Cilié: protozoaire possédant des cils vibratiles sur leur surface (taille : 20-100 µm)

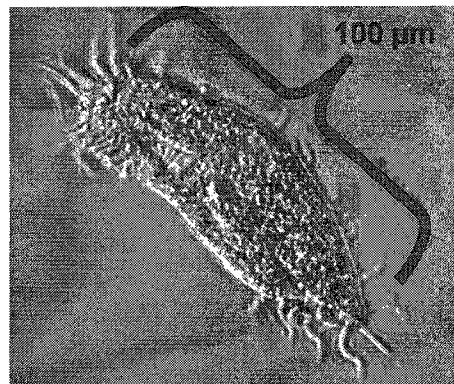


Figure 2.2 : Cilié, observation en contraste de phase, grossissement 400X

Métazoaire: organisme animal, pluricellulaire, mobile et hétérotrophe

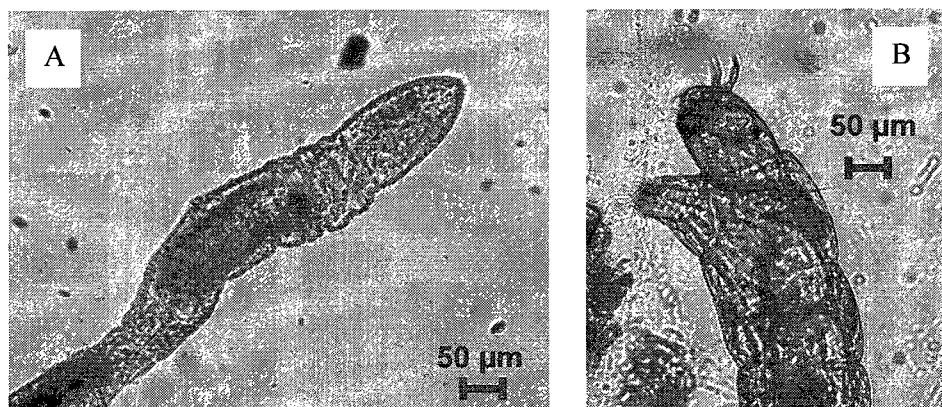


Figure 2.3 : Métazoaires – (A) vers microscopique de type oligochète, (B) tardigrade, observations sous lumière directe, grossissement 100X

Nématode : métazoaire, microscopique et hétérotrophe; vers non segmenté (taille : 200 µm - 1mm)



Figure 2.4 : Nématode, observation sous lumière directe, grossissement 100X

Rotifère : métazoaire, microscopique et hétérotrophe en forme de trompette (taille : 300 et 700 µm)

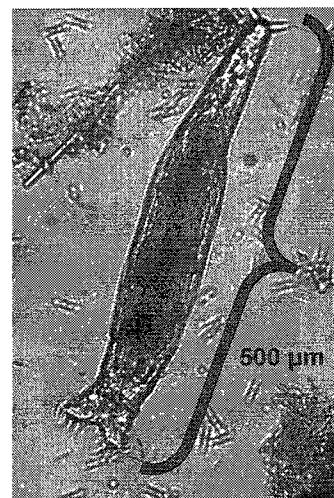


Figure 2.5 : Rotifère, observation sous lumière directe, grossissement 100X

Oligochètes : Vers annelé, très fin, dont le corps est rose ou rougeâtre, (longueur 2-6 cm, largeur 0,1-1mm)

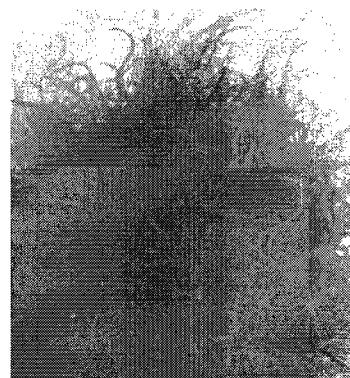


Figure 2.6 : Oligochètes de type *Tubifex sp.* (www.allabout-aquariumfish.blogs)

Chironomides: insecte de petite taille semblable au moustique dont le stade larvaire est aquatique (longueur : 2-3 cm, largeur : 1-2 mm)

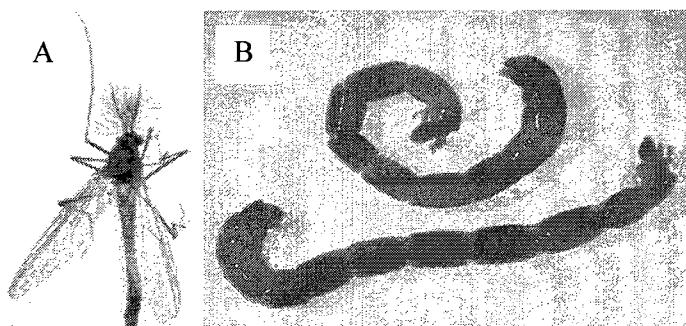


Figure 2.7 : Chironomide – (A) mâle adulte, (B) larve

Photo A : www.lesinsectesduquebec.com, Photo B : www.aquamerik.com

2.1.2 Relation entre les microorganismes

Les microorganismes aquatiques sont très diversifiés et varient en fonction du type d'habitat et des conditions du milieu. La pollution d'un milieu aquatique entraîne généralement une augmentation d'organismes opportunistes de petites tailles (Pearson and Rosenberg, 1978). Toutefois, il y a une diminution globale de la biodiversité (Khan et Ansari, 2002).

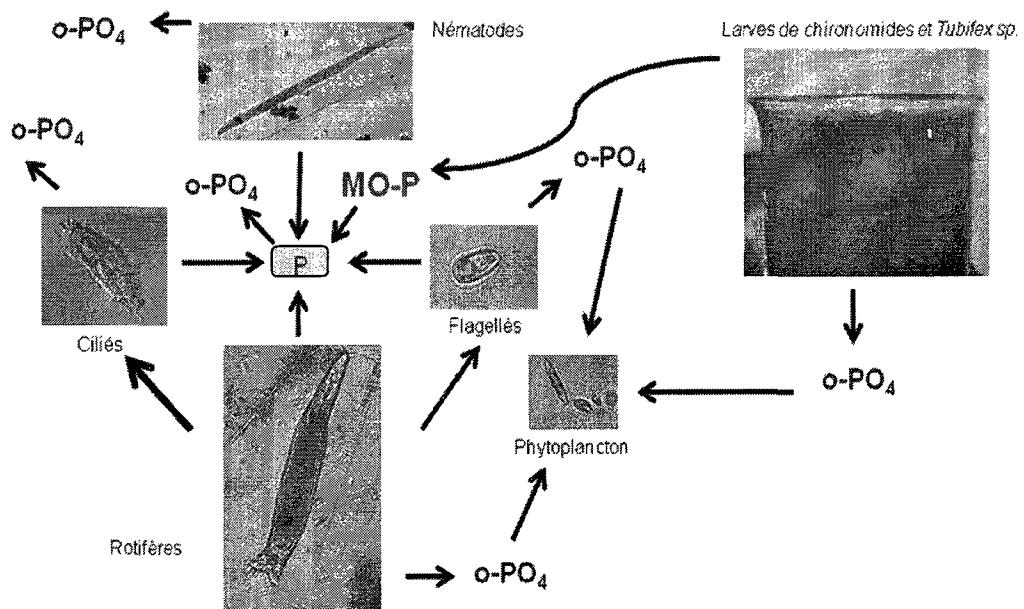


Figure 2.8 : Relation entre les principales espèces étudiées et le phosphore

Dans un étang piscicole, le P entre principalement avec la matière organique (MO-P). Les bactéries dégradent la MO et assimilent une partie du P pour leurs besoins métaboliques. Elles rejettent le surplus de P sous forme d'orthophosphates (o-PO_4 ; phosphore soluble). Dans certaines conditions elles peuvent accumuler le P à l'intérieur de leur cellule. (Sommariva, 1997). Les flagellés, les ciliés et les nématodes se nourrissent de bactéries. Ils utilisent une partie du P accumulé à l'intérieur des bactéries ingérées pour leurs propres besoins métaboliques et rejettent

le reste sous forme d'orthophosphates. Les rotifères se nourrissent principalement de protozoaires tels que les ciliés et les flagellés. Ils peuvent, à l'occasion, ingérer directement des bactéries. Ils utilisent, eux aussi, le P accumulé dans leur proies pour leurs besoins métaboliques et rejettent le surplus de P sous forme d'orthophosphates. Les oligochaetes et les chironomidae se nourrissent directement à partir de la matière organique. Ils assimilent une partie du P de la MO et excrètent le reste sous forme d'orthophosphates. Les microorganismes, ci-haut mentionnés, métabolisent le P. Le phytoplancton, quant à lui, assimile les orthophosphates dans ses tissus. On parle alors de microorganisme accumulateur de P. Les bactéries qui peuvent jouer les 2 rôles sont à la fois des excrétrices de P et des accumulatrices de P, sous certaines conditions. Les relations décrites sont illustrées à la figure 2.8.

Les bactéries ont déjà fait l'objet de nombreuses études. Elles ne seront donc pas abordées dans le présent projet. Cette recherche aborde tous les autres microorganismes susmentionnés et met l'emphase sur le rôle des chironomides dans les flux de P.

2.2 Le phosphore dans l'environnement

Le phosphore est un élément majeur des cycles biogéochimiques qui maintiennent l'environnement en équilibre. La charge en P que peut recevoir un écosystème aquatique, sans le perturber, dépend de sa capacité de rétention, celle-ci étant définie comme la capacité à enlever le P de la colonne d'eau par des processus physiques, chimiques et biologiques et le retenir sous une forme non bio-disponible en conditions normales (Reddy *et al.*, 1999).

2.2.1 Processus physiques de rétention du phosphore

Les principaux processus physiques qui gèrent la mobilité du phosphore entre le sol et la colonne d'eau sont l'advection, la dispersion, la diffusion, l'infiltration, la sédimentation, la resuspension et la bioturbation (Lijklema, 1993).

En milieu naturel, le phosphore entre principalement dans un étang par la source d'eau qui alimente le bassin. C'est un transport advectif et horizontal. Le courant dispersif est contrôlé par la vitesse d'écoulement de l'eau et la rugosité de la trajectoire d'écoulement (Kadlec, 1987). Une faible vitesse d'écoulement et une rugosité de trajectoire importante augmentent le temps de rétention hydraulique (TRH) accroissant par le fait même le temps de résidence du P avant son rejet à la sortie de l'étang. À l'échelle microscopique, les forces de dispersion affectent la couche limite des sédiments et des surfaces végétales. Si le débit est important l'épaisseur de la couche limite est réduite augmentant la diffusion des solutés, notamment le P, des sédiments et des végétaux vers la colonne d'eau. De plus, un débit important renouvelle constamment l'apport en phosphore et maintient ainsi un gradient de concentration qui favorise la diffusion du P du sol (Reddy *et al.*, 1999).

L'eau souterraine est une source non négligeable de nutriments entrant dans le bassin (Stanford et Ward, 1988). En effet, elle apporte de nombreux éléments dissous. Les processus d'advection et de dispersion de l'infiltration créent un gradient de concentration qui favorise le déplacement descendant de l'oxygène dissous, des cations et du P du sol, augmentant ainsi la capacité de rétention de ce dernier (Reddy *et al.*, 1999). Les flux verticaux (ascendants et descendants) de l'eau dans le sol sont assurés par la gravité et l'absorption, au niveau des racines, par les plantes afin de supporter leurs besoins métaboliques.

Le transfert du phosphore du ou vers le sol se produit principalement par la décantation ou la resuspension des matières particulières. La sédimentation est l'ensemble des processus par lesquels les particules en suspension (organiques et inorganiques) s'accumulent sur le sol. Les sédiments déposés à la surface du sol peuvent être organiques ou minéraux dépendamment du couvert végétal et/ou forestier avoisinant l'étang, de la géologie du bassin versant et des conditions hydrologiques dudit étang (Reddy *et al.*, 1999). La matière organique provient, notamment, de la fragmentation et de la décomposition des tissus détritiques des macrophytes. La microflore et la microfaune meurent et sédimentent en laissant de microdétritus tels que des exosquelettes et des débris algaux.

Le transport des sédiments est contrôlé par la vélocité du courant qui définit les forces de cisaillement et la capacité d'entraînement des particules (Reddy *et al.*, 1999). Il y a entraînement quand la force du courant est suffisante pour emporter le P soluble et particulaire. Lorsque le débit d'eau est faible, le système agit comme une trappe à sédiments en allouant assez de temps à la décantation des particules et se comporte ainsi comme un filtre pour la matière en suspension. Cependant, lorsque le débit d'eau est fort, le système devient érosif provoquant alors la resuspension des particules déposées. Dorioz *et al.* (1989) ont rapporté qu'il y avait accumulation de P dans les sédiments d'un bassin naturel lorsque le débit était $< 0,7 \text{ m}^3/\text{s}^{-1}$. À long terme, les sédiments peuvent devenir un puits pour le phosphore et les autres nutriments. En effet, une étude de Fenessey *et al.* (1994) a démontré qu'un marais de 2,3 hectares pouvait accumuler $7,5 \text{ g P/m}^2$, pendant la saison de croissance, basée sur des mesures de P à l'entrée et à la sortie du marais.

Le brassage lié à la bioturbation² contribue d'une part, à augmenter la disponibilité du P soluble à l'interface eau/sol et d'autre part, à favoriser la resuspension du P particulaire dans la colonne d'eau (Lijklema, 1993). Dans un système où l'activité macro benthique est importante, le brassage physique augmente de façon importante l'oxydation des couches superficielles de sédiments à l'interface eau/sol accroissant par le fait même la rétention du phosphore à l'intérieur du sol.

2.2.2 Processus chimiques de rétention du phosphore

Sur une base journalière, la photosynthèse et la respiration des plantes peuvent initier des changements significatifs dans le pH et le CO₂ de la colonne d'eau d'un étang (Reddy *et al.*, 1999). Durant la journée, ces processus augmentent le pH et favorisent une précipitation significative de phosphates de calcium dans un milieu où le Ca dissous est biodisponible. Toutefois, pendant la nuit, la plupart de ce phosphore (75 à 90%) est resolubilisé lorsque le niveau de pH baisse en dessous de 8 à cause d'une augmentation du CO₂ dissous suite au ralentissement de la respiration des plantes (Diaz *et al.*, 1994). La rétention du P par ces processus sera élevée dans une eau alcaline où la concentration de Ca dissous est élevée et non significative dans une eau dont la capacité tampon est faible. En effet, dans une eau peu tamponnée le pH variera beaucoup ce qui ne favorisera pas la rétention du P.

Dans la colonne d'eau d'un marais, les réactions chimiques associées à la solubilité du P sont principalement régulées par le fer (Fe) et le Ca dissous (Reddy *et al.*, 1999). Dans le sol, les processus chimiques qui gèrent la biodisponibilité du P sont plus complexes.

² Phénomène de mélange actif des couches de sol ou d'eau par les espèces vivantes, principalement animales.

Les interactions à l'interface eau/sol constituent un des principaux facteurs qui gère la production d'un système aquatique. La capacité de rétention de P d'un marais naturel dépend grandement des caractéristiques physico-chimiques de son sol (Reddy *et al.*, 1999). Lorsque la concentration de phosphore inorganique dans l'eau est supérieure, à celles retrouvées dans le sol et dans les eaux interstitielles des fonds sédimentaires, le P inorganique du sol est retenu par les oxydes et hydroxydes de fer et d'aluminium ainsi que par le carbonate de calcium (CaCO_3) présents dans le sol (voir section 2.3 *le cycle du phosphore*). Lorsque la charge en P d'un système est faible, le sol d'un étang relargue du P plutôt qu'il n'en retient (Khalil *et al.*, 1977; Logan, 1982; Richardson, 1985).

La sorption est un terme englobant à la fois l'absorption, caractérisée par la fixation (par diffusion) et la transformation chimique d'une molécule (gazeuse ou aqueuse) à l'intérieur d'un composé solide, et l'adsorption, caractérisée par la fixation d'une molécule à la surface d'un composé solide. La molécule fixée est alors non biodisponible. La désorption est le processus inverse par lequel les molécules se détachent du substrat. La sorption est généralement perçue comme un processus à deux étapes avec une première phase rapide correspondant à la rétention de la molécule sur la surface solide et une deuxième phase plus lente correspondant à sa diffusion à l'intérieur de l'élément solide (Barrow, 1983; Portielje et Lijklema, 1993).

La sorption du P soluble sur des particules de matière en suspension contribue de manière significative au transport du P dans les zones affectées par l'agriculture (Sharpley *et al.*, 1981) et l'aquaculture.

De part la complexité du sol, il n'est pas possible d'attribuer la rétention du P dans le sol à un minéral en particulier. De nombreuses études (Syers *et al.*, 1973; Berkheiser *et al.*, 1980; Bostrom *et al.*, 1982; Logan, 1982; Sonzogni *et al.*, 1982; Froelich, 1988; Sanyal et DeDatta, 1991) s'entendent pour dire que de plusieurs phosphates

minéraux tel que l'apatite, l'hydroxyapatite, la fluorapatite, et la variscite participent à la solubilité du P dissous à l'interface eau/sol (voir figure 2.1.2.1). Les conclusions générales des études précédemment mentionnées soutiennent que (1) dans un sol acide le P est principalement fixé sous forme de phosphate d'aluminium et de phosphate ferrique si la présence de ces cations est importante (2) dans un sol alcalin la fixation du P est principalement régulé par la présence de Ca et Mg, (3) la disponibilité du P est plus grande sur un sol dont le pH varie de légèrement acide à neutre (Reddy *et al.*, 1999).

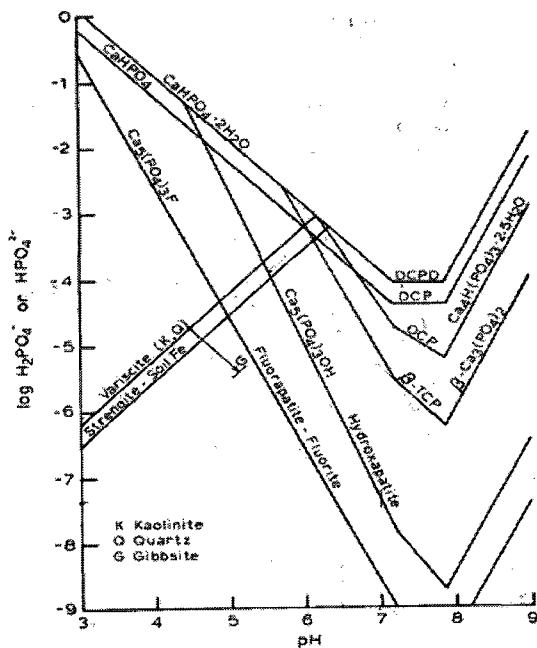


Figure 2.9 : Solubilité des phosphates de calcium, fer et aluminium. Dicalcium de phosphate anhydre (CaHPO_4), dicalcium de phosphate dihydraté ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), octocalcium de phosphate ($\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$), hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), fluorapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$, β -phosphate de calcium tribasique ($\beta\text{-Ca}_3\text{PO}_4)_2$ variscite (AlPO_4), strengite (FePO_4)
 (Tiré de l'Institut agronomique et vétérinaire Hassan II : www.iav.ac.ma/agro/dss/chimiesol/chap3.htm)

La mobilité du phosphore dans le sol dépend du pouvoir tampon de celui-ci et de sa capacité à retenir le phosphore. La capacité de rétention du phosphore fait référence

au nombre maximal de sites disponibles dans le sol pour lier le P et le rendre non labile³. Elle est également désignée dans certains articles comme « capacité tampon du sol pour le P », analogue au pouvoir tampon du pH (Froelich, 1988). La capacité maximale de rétention du P est atteinte lorsqu'il y a saturation des sites de sorption. Les sols ayant peu d'ions de Fe et Al atteignent rapidement la capacité maximale de rétention du P. De plus, la corrélation significative ($p<0,01$) et positive entre S_{max} (sorption maximale du P) et TOC (carbone organique total) suggère un effet indirect de la matière organique liée aux particules de Fe et d'Al sur la sorption du P (Syers *et al.*, 1973). La réduction du fer en composés d'hydroxyde ferreux - résultat de l'utilisation par les microorganismes du sol des composés ferriques comme accepteurs d'électrons pour leurs besoins métaboliques en absence d'oxygène – augmente le nombre de sites disponibles pour la chélation⁴ du P. Cependant, même si la réduction du fer entraîne une hausse de surfaces disponibles pour la sorption du P, l'énergie de liaison associée à la sorption est faible et le risque de désorption élevé (Patrick et Khalid, 1974). En condition oxydée, la capacité de sorption est réduite (moins de sites disponibles), mais le P lié au sol est attaché plus solidement qu'en condition réduite. Dans un étang, le P de la colonne d'eau doit diffuser dans le sol avant de pouvoir être fixé par celui-ci. Ce processus se produit uniquement lorsque la concentration en P de la couche interstitielle entre le sol et la colonne d'eau est plus élevée que la concentration de P dans le sol (Reddy *et al.*, 1999).

L'oxydation des couches supérieures du sol est influencé par (1) la demande en oxygène des microorganismes du sol (taux de consommation de l'oxygène) et (2) la production d'oxygène par les algues du périphyton (Reddy *et al.*, 1999). Les fluctuations d'oxygène couplées à la présence d'ions ferriques régissent les échanges de P soluble entre le sol et l'eau de la couche interstitielle. La couche oxydée du sol

³ Synonyme: non mobile

⁴ Processus physico-chimique au cours duquel est formé un complexe, le chélate, entre un ligand, dit chélateur (ou chélatant), et un cation métallique, alors complexé, dit chélaté.

fonctionne comme un puits potentiel pour le P des couches inférieures réduites diffusant vers le haut ainsi que pour le P de la colonne d'eau diffusant verticalement vers le sol (Sundby *et al.*, 1992; Moore et Reddy, 1994; Scinto et Reddy, 1995).

2.2.3 Processus biologiques de rétention du phosphore

La végétation submergée (macrophyte) peut altérer les conditions physico-chimiques qui prévalent dans un étang causant alors une précipitation chimique (Reddy *et al.*, 1987). L'absorption de P par les plantes est minimale en rivière, toutefois les plantes peuvent jouer un rôle important dans la fixation du P et son stockage dans un marais.

Même si le P de la colonne d'eau n'est pas directement assimilé par les plantes, une absorption active au niveau des racines du sol favorise la création d'un gradient de concentration de l'eau interstitielle vers le sol, augmentant ainsi la rétention du P dans le sol (Davis, 1982).

La végétation émergente fourni un stockage à court terme du P en absorbant celui du sol au niveau des racines et en le stockant dans les feuilles. Celui-ci est alors non biodisponible. À l'automne les parties mortes tombent et se déposent au fond des bassins. Ces débris végétaux sont sujets à une décomposition aérobie et/ou anaérobiose, dépendamment de la géologie et de l'hydrologie du sol ainsi que des sources alternatives d'accepteurs d'électrons que l'on y trouve (D'Angelo et Reddy, 1994 a, b). La décomposition des tissus végétaux morts par les microorganismes du sol retourne le P dans la colonne d'eau. Celui-ci est alors de nouveau biodisponible. Dans un système où la charge en nutriments est élevée, jusqu'à 80% du P accumulé dans les macrophytes est relargué dans la colonne d'eau suite au lessivage et à la décomposition des tissus morts (Reddy *et al.*, 1995). Cependant, avant la sénescence de l'automne une partie importante des nutriments de la plante est déplacée des

feuilles vers les racines pour y être stockée. Le P absorbé par la plante n'est donc pas entièrement retourné dans la colonne d'eau. Suite à la décomposition des racines mortes, le P est stocké dans le sol.

Le périphyton⁵ peut jouer un rôle majeur dans la régulation des concentrations du P de la colonne d'eau (Reddy *et al.*, 1999). Le périphyton absorbe à la fois du phosphore en provenance du sol et de la colonne d'eau (Hansson, 1989) autant sous forme organique, qu'inorganique (Bentzen *et al.*, 1992). Le périphyton peut induire des changements marqués au niveau du pH et de la concentration d'oxygène dissous dans la colonne d'eau et à l'interface eau/sol (Carlton et Wetzel, 1998). Ces changements peuvent potentiellement influencer la solubilité du P.

Le périphyton est reconnu pour participer à la précipitation du CaCO₃ (Gleason, 1972) et pour co-précipiter le P (Otsuki et Wetzel, 1972). Dans un système où l'activité du Ca²⁺ est importante, les changements de pH induits par le périphyton favorisent la co-précipitation du P associé au CaCO₃ à l'intérieur de l'entrelacs du périphyton. Le complexe Ca-P est éventuellement incorporé au sol tel que le suggère la corrélation linéaire entre l'accumulation à long terme de P et de Ca (Reddy *et al.*, 1993).

Une étude (Scinto et Reddy, 1995) sur les Everglades de Floride rapporte que moins de 20% du P du périphyton est associé aux ions Ca et Mg. Le reste se trouve sous forme organique ce, qui suggère une assimilation active du P par le périphyton.

⁵ Ensemble de microorganismes aquatiques qui vivent attachés sur un substrat immergé. Certains auteurs utilisent ce terme pour désigner uniquement les algues, les cyanobactéries et diverses autres bactéries tandis que d'autres auteurs l'utilisent en faisant référence à l'ensemble de la microflore et de la microfaune attaché sur un substrat. Dans ce cas-là le mot est synonyme de *benthos*.

Dans un étang où l'activité du périphyton est importante, la plupart du P de la colonne d'eau est recyclé dans le compartiment périphytique du système (Wetzel, 1990). Dans ces conditions, peu de P provenant de la colonne d'eau est assimilé par les macrophytes. En effet, le périphyton formant un réseau dense absorbe et relargue le P de la colonne d'eau empêchant celui-ci de diffuser librement dans le sol. De plus, les flux de P du sol vers la colonne d'eau sont aussi influencés par la présence du périphyton car celui-ci incorpore la majeure partie du P se trouvant à l'interface eau/sol. Le P relâché par la décomposition des débris cellulaires végétaux accumulés sur le sol est activement absorbé par la masse de périphyton (Carlton et Wetzel, 1988).

Le phytoplancton pélagique permet, lui aussi, de stocker une certaine quantité de P soluble dans la colonne d'eau (Smith, 1990). En assimilant le P minéral, le phytoplancton contribue à diminuer la concentration d'orthophosphates de l'eau. Lorsque les conditions sont propices à son développement (bloom phytoplanctonique) le temps de division des cellules phytoplanctonique et d'environ 3 heures ce qui permet d'augmenter massivement le nombre de cellules présentes dans un plan d'eau et par le fait même l'assimilation du P (Holtan *et al.*, 1988; Lareau, 2009). Toutefois, si le débit est important, le phytoplancton en suspension dans la colonne d'eau sera emporté à l'effluent, contribuant à augmenter la concentration de P total des rejets. Néanmoins ce P se trouvant à l'intérieur des cellules phytoplanctonique, celui-ci est non-biodisponible pour le milieu récepteur.

Le rôle des microorganismes dans la transformation du P organique en P minéral est reconnu depuis longtemps. Les microorganismes (bactéries principalement) catalysent la minéralisation du P organique et stockent de façon transitoire le P dans leur biomasse pendant leur période de croissance. Dans les sédiments, la concentration de P de la biomasse bactérienne est fortement corrélée à la production primaire et la vitesse de décantation de la matière organique (Gachter et Meyer, 1993). Même si de façon générale les bactéries sont considérées comme des décomposeurs,

elles peuvent également réguler les flux de P à l'interface eau/sol (Kleeberg et Schlungbaum, 1993) et participer à l'enfouissement du P par la production de composés de P non labiles (Gatcher et Meyer, 1993). La formation de composés de polyphosphates dans leurs tissus, permettent aux bactéries de survivre dans un environnement où s'alternent des conditions d'oxydation et de réduction (Davelaar, 1993). Cette formation de polyphosphates peut influencer significativement les concentrations de P de la colonne d'eau en fixant le P lorsque les concentrations sont élevées et en relarguent le P lorsque les concentrations sont faibles. Des études (Elwood *et al.*, 1981; Newbold *et al.*, 1983) ont démontré que dans un cours d'eau forestier entre 80 et 91% du P retenu était attribuable à une assimilation par les microorganismes, le reste étant retenu par des processus abiotiques. De même, près de 60% du P retenu est attribuable aux microorganismes dans un système de traitement par marais (Lee *et al.*, 1975; Sloey *et al.*, 1978).

2.3 Le cycle du phosphore et ses différentes formes

2.3.1 Cycle biogéochimique du phosphore

La transformation du phosphore organique en phosphore minéral (inorganique) est assurée par des bactéries (*Eubacillus* et *Bacillus*) et des champignons (*Saccharomyces* et *Penicillium*). C'est principalement dans le sol qu'à lieu cette transformation, car c'est là qu'on y trouve la plus grande concentration de ces organismes; le sol servant de substrat pour leur développement. L'activité catabolique des bactéries et des champignons dégrade les composés organiques complexes en plus petites unités jusqu'à la production de phosphore minéral ($H_2PO_4^-$ et $H_3PO_4^{2-}$). Le P inorganique ainsi produit s'associe à des formes amorphes et cristallines de Fe, Al, Ca et Mg du sol (Reddy *et al.*, 1999). Le P minéral se fossilise pour devenir de

l'apatite (Holtan,, 1988). C'est le processus de diagénèse⁶. Les apatites forment une famille de phosphates hexagonaux dont la composition est très variable. Les plus répandus sont les hydroxyapatites, les chloroapatites et les fluoroapatites : $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH ou Cl ou Fe})$. La concentration de phosphates dans le sol varie entre 0,02 et 0,1 mg P/cm³ (Lafforgue, 1998). Si la couche supérieure du sol est bien oxydée, notamment grâce à la bioturbation, alors le fer de cette zone se retrouve à l'état d'oxyde ferrique (FeO_3) et d'hydroxyde ferrique (H_3FeO_3) et il fixe très fortement le P inorganique par sorption ou complexation, ce qui rend celui-ci non biodisponible et l'empêche de retourner dans la colonne d'eau (Bourque, 2009). L'oxyde ferrique et l'hydroxyde ferrique étant insolubles ils précipitent le P et le fixent sous forme particulaire dans le sol. Il y a ainsi enfouissement du P. Par contre, si la couche superficielle du sol devient anaérobiose (manque d' O_2), les hydroxydes ferriques sont réduits par les microorganismes (Bourque, 2009). Le fer devient bivalent⁷ et se retrouve sous la forme d'oxyde ferreux (FeO), d'hydroxyde ferreux (Fe(OH)_2), de carbonate ferreux (FeCO_3), de bicarbonate ferreux ($\text{Fe}(\text{CO}_3\text{H})_2$) ou de sulfure de fer (FeS). Il libère alors le phosphore auquel il était lié. Toutes ces formes étant insolubles, le Fe et le P dissous diffusent librement du sol vers la colonne d'eau (Bourque, 2009). Les hydroxydes de manganèse (Mn) étant réduits avant les hydroxydes ferriques, l'apparition du Mn dans l'hypolimnion est un signe précurseur de l'apparition du Fe et du P (Bourque, 2009). Si la couche de sédiments à l'interface eau/sol est à nouveau bien oxygénée, le processus se répète.

La minéralisation du P dans le sol est abondante en surface et décroît en profondeur car l'oxygène s'y fait plus rare. De même, la concentration de P total est plus importante dans les couches superficielles du sol et décroît également en profondeur. Toutefois la concentration de P dissous est, quant à elle, faible à l'interface eau/sol et

⁶ Ensemble des processus physico-chimiques et biochimiques par lesquels les sédiments sont transformés en roche sédimentaires

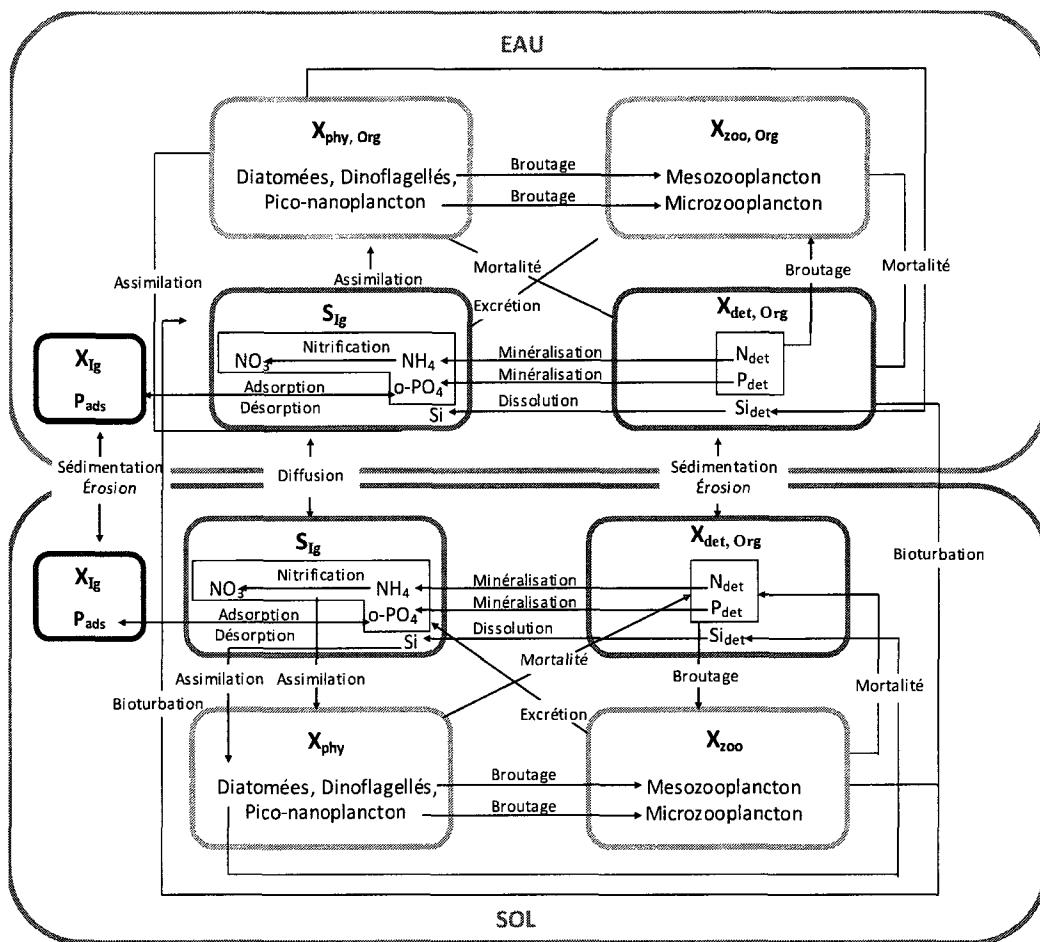
⁷ Bivalent: Fe^{2+} , trivalent : Fe^{3+}

plus importante en profondeur. En effet, le P dissous dépend grandement des propriétés physico-chimiques de la couche limite (Reddy *et al.*, 1999).

Le taux de minéralisation du P organique est régit par la disponibilité des éléments labiles et non labiles (ions, métaux, composés organiques et autres). L'équilibre entre les processus de minéralisation et d'immobilisation du P (séquestration du P dans la biomasse bactérienne) dépend du ratio C/P de la matière organique et du type d'accepteurs d'électrons impliqué dans la décomposition (aérobiose vs anaérobiose). En effet, le taux de minéralisation du P organique est approximativement trois (3) fois plus important dans un sol incubé en conditions aérobies que dans un sol incubé en conditions réduites en nitrate, sulfate et bicarbonate (Reddy et McLatchy, 1996). Ces trois dernières étant toutes des conditions anaérobies mais avec des accepteurs d'électrons différents.

La minéralisation du P est également affectée par la production d'enzymes extracellulaires tel que la phosphatase. Ainsi, la mesure de l'activité enzymatique donne une indication du potentiel de minéralisation du P (Golterman, 1984).

Les principales relations du cycle biogéochimique du P sont illustrées à la figure 2.10



Légende

X: particulaire

S: soluble

Det: détritus

Ads: adsorbé

Phy: phytoplankton

Zoo: zooplankton

Org: organique

NB: S_{Org} est négligeable

Figure 2.10 : Cycle biogéochimique du phosphore (adapté de www.previmer.org)

2.3.2 Formes de phosphore

Dans un système aquatique on retrouve le phosphore sous quatre formes :

DIP : P inorganique dissous (<i>dissolved inorganic phosphorus</i>)	}	biodisponible
DOP : P organique dissous (<i>dissolved organic phosphorus</i>)	}	non-biodisponible
PIP: P inorganique particulaire (<i>particulate inorganic phosphorus</i>)		
POP : P organique particulaire (<i>particulate organic phosphorus</i>)		

Dans la plupart des cas, pour être assimilable par les microorganismes, le phosphore particulaire doit être transformé en phosphore dissous et le P organique doit être transformé en P inorganique. Le DIP est généralement considéré comme biodisponible.

Le phosphore organique est associé à la matière provenant d'organismes vivants. Il peut être facilement biodégradable (DOP_r: *rapidly biodegradable P*), c'est ce qu'on appelle également le phosphore labile, ou au contraire lentement biodégradable (DOPs : *slowly biodegradable P*), c'est ce qu'on appelle le phosphore réfractaire. La partie facilement biodégradable du P est constituée d'acides nucléiques, de phospholipides et de sucres phosphatés. La partie lentement biodégradable du P est constituée de composés plus complexes tels que les phosphates-phytine inositol (Reddy *et al.*, 1999; Tchobanoglous, 2002).

En milieu naturel, le sol des marais est généralement caractérisé par un contenu en matière organique élevé. La MO représente environ 40% (entre 10 et 90%) du P total (Swift et Posner, 1972; Brammon and Sommers, 1985). La MO associée au phosphore est principalement composée d'acides fulviques et humiques. La plupart des études se concentrent sur les formes inorganiques de P, considérant les sources de P organique moins importantes puisque la majorité sont lentement biodégradables en

condition anaérobie. Étant donné la prédominance du P organique dans le sol, la minéralisation du P joue un rôle majeur dans la formation d'un bassin de P biodisponible.

Certains auteurs proposent un fractionnement du phosphore en fonction de la méthode utilisée pour sa détermination (voir figure 2.11).

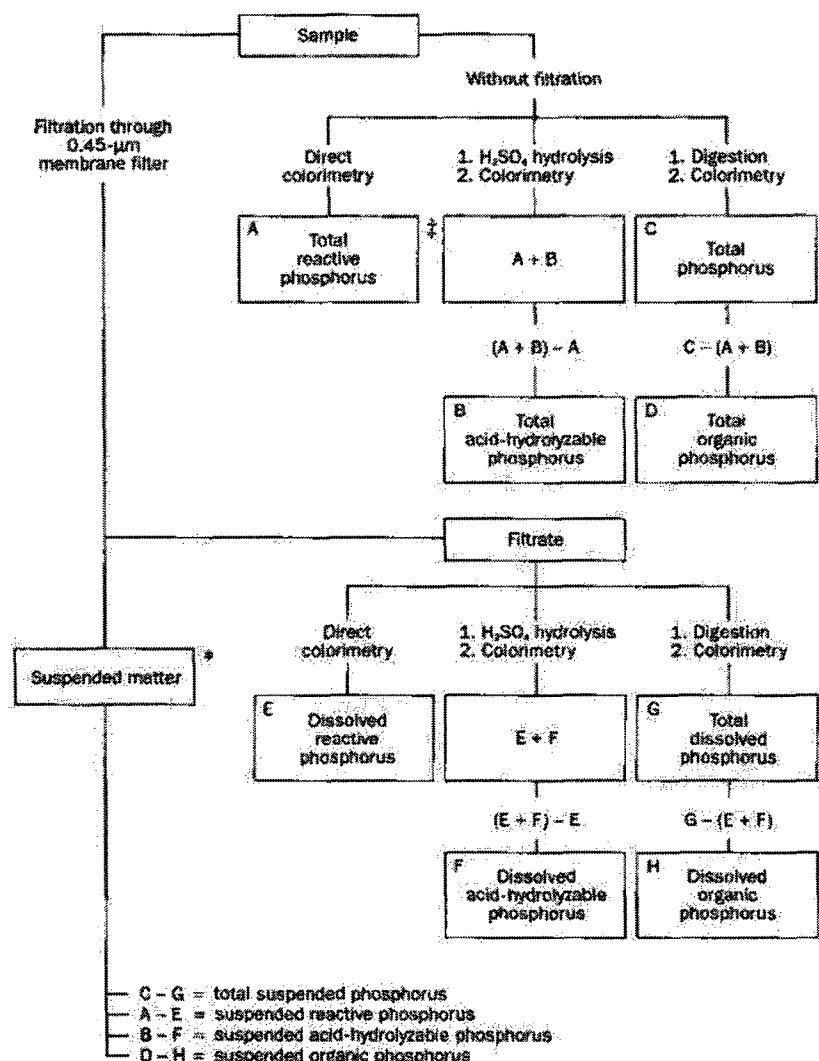


Figure 2.11 : Formes de phosphore en fonction de la méthode utilisée pour sa détermination
(APHA, 2005)

Le phosphore réactif dissous (DRP : *dissolved reactive phosphorus*) est principalement composé de P inorganique dissous. En effet, le P organique dissous étant majoritairement formé de composés lentement biodégradable, celui-ci est peu réactif. Afin de simplifier la présente étude, on assumera donc que DRP = DIP. Le DIP est mesuré par la concentration des orthophosphates du filtrat.

2.4 Eutrophisation du milieu aquatique

2.4.1 Phénomène d'eutrophisation

Le principal problème causé par le phosphore est l'eutrophisation des milieux aquatiques. L'apport excessif de nutriments (et particulièrement de P) conduit à une hyper fertilisation du milieu ce qui augmente la production primaire (Khan et Ansari, 2002). En effet, la croissance des végétaux est généralement limitée par la présence de P. Une plus grande disponibilité de P favorise donc leur développement. Pour les eaux de surface une concentration excédant 0,05 mg P/L est synonyme d'eutrophisation (Hinesly et Jones, 1990).

Au Québec, le critère pour la prévention de l'eutrophisation des cours d'eau est fixé à 0,03 mg P/L. Toutefois, la majorité des rivières (15 sur les 27 étudiées) ont une concentration en P total supérieure à la limite établie par le MDDEP (Gangbazo, 2005). Dans certaines rivières, la concentration est de deux (2) à six (6) fois supérieure au critère (Gangbazo, 2005)

Le développement des microorganismes aquatiques est largement influencé par le ratio C-N-P présent dans leur environnement, également appelé rapport de Redfield. Le phytoplancton est généralement composé d'un ratio N/P de 16/1. Sa croissance est

donc favorisée dans un milieu où les ratios N sont élevés. Dans l'élevage du doré, par exemple, on utilise un ratio N/P de 20/1 afin de stimuler la croissance du plancton. Toutefois ce rapport est toxique pour la plupart des plantes aquatiques (Lareau, 2009). Les rejets piscicoles ont un ratio N/P d'environ 2/1 ce qui favorise certaines plantes aquatiques et cyanobactéries.

Le développement végétal en présence d'un excès de P constitue un bloom phytoplanctonique⁸, conduisant à un bloom zooplanctonique⁹. L'hypercroissance de cette biomasse algale forme une couche verdâtre à la surface des eaux ce qui empêche la lumière de pénétrer et restreint la réoxygénération de l'eau par courant d'air (Beeby, 1995; Rao, 1998). La diffusion de l'oxygène de la surface vers le sol est arrêtée par la couche phytoplanctonique. À leur mort, ces organismes sédimentent et sont minéralisés par les bactéries du sol (Khan et Ansari, 2002). Plus l'efflorescence est importante et plus la demande en O₂ sera importante pour les phénomènes de respiration et de minéralisation. La consommation d'O₂ devient supérieure à la production O₂ ce qui entraîne une raréfaction d'oxygène et à moyen terme l'anoxie du milieu ainsi que la perte de biodiversité (Beeby, 1995). À cela s'ajoute la libération du P par le sol. En effet, en absence de O₂ le fer réduit ne peut plus se complexer avec le P présent et libère le P initialement stocké. Le plan d'eau reçoit alors un apport supplémentaire de P dissous qui ne fait qu'alimenter le phénomène d'eutrophisation.

⁸ Phytoplancton : ensemble des organismes autotrophes par rapport au carbone (végétaux + certaines bactéries telles les cyanobactéries) vivant en suspension dans un milieu aquatique. C'est la base de la chaîne alimentaire.

⁹ Zooplancton : ensemble de la microfaune (organismes animaux) vivant en suspension dans un milieu aquatique et se nourrissant de phytoplancton.

2.4.2 Définition des termes

Un plan d'eau oligotrophe¹⁰ est caractérisé par des concentrations entre 5-10 µg/L de phosphore, des concentrations d'azote entre 250-500 µg N/L et des concentrations de chlorophylle a (chl a) entre 1-3 µg/L (MDDEP, 2009). La production primaire moyenne d'un lac oligotrophe se situe entre 50-300 mg C/m²/jour. Un plan d'eau mésotrophe est, quant à lui, caractérisé par des concentrations en phosphore entre 10-30 µg P/L, des concentrations d'azote entre 500-600 µg/L et des concentrations de chl a entre 3-8 µg/L (MDDEP, 2009). La production primaire d'un lac mésotrophe se situe entre 300 et 1000 mg C/m²/jour (Parent, 2009). Finalement, un plan d'eau légèrement eutrophe, présente des concentrations de phosphore variant entre 10 et 30 µg P/L, des concentrations d'azote de 600-1100 µg N/L et des concentration de chl a supérieures à 8 µg/L. La production primaire d'un lac eutrophe se situe, quant à elle, au dessus de 1 g C/ m² jour (Likens et al., 1997).

2.4.3 Causes de l'eutrophisation

La principale cause de l'eutrophisation d'un plan d'eau est l'apport excessif en nutriments et particulièrement en phosphore. Les sources de phosphore sont multiples. Certaines sont naturelles, d'autres anthropiques¹¹.

L'élevage de bovidés, les porcheries, les laiteries, les fermes, les papetières et les terrains de golfs sont parmi les sources de phosphate les plus communes (Khan et Ansari, 2001; Lareau, 2009). Le phosphore contenu dans les excréments d'animaux

¹⁰ Se dit d'un milieu, généralement une masse d'eau, clair, pauvre en nutriments et en humus. On y trouve peu de matière organique et une forte teneur en oxygène dissous

¹¹ Relatif à l'activité humaine. Qualifie tout élément provoqué directement ou indirectement par l'action de l'homme.

est répandu comme fertilisant sur les terres et se dissous avec les eaux de ruissellement pour aboutir dans un cours d'eau. Les rejets liquides sont quant à eux, directement déversés dans le cours d'eau et peuvent contenir d'importantes concentrations de P. L'extraction et la transformation minière sont une autre source de P pour les rivières et les plans d'eau proches de ces activités (Khan et Ansari, 2001). Les eaux usées municipales et industrielles contiennent des concentrations en phosphate élevées dont 50% provient des déchets humains et 20-30% des détergents. L'épandage d'engrais agricoles et l'utilisation de pesticides sont aussi une source non-négligeable d'apport en phosphore et autres nutriments.

De manière naturelle, les principales sources de P sont l'érosion des roches, le lessivage des sols, les feux de forêts, la pluie et la décomposition de la matière organique (Khan et Ansari, 2001).

Pour l'industrie piscicole l'apport principal de P provient de la moulée donnée en nourriture aux poissons. Dans une moindre mesure, les sources d'eaux de surface, l'infiltration souterraine des bassins piscicoles et l'érosion du sol des bassins causée par la turbulence des poissons et les systèmes d'aération des étangs sont également des voies d'introduction de P dans la pisciculture.

2.4.4 Conséquences de l'eutrophisation

Les changements de conditions qui entraînent l'eutrophisation d'un plan d'eau se reflètent dans la densité, la diversité et le modèle de distribution des communautés biotiques (Tiwari, 1998).

Lors d'un bloom phytoplanctonique, la plus grande partie de la lumière est absorbée par la masse algale développée, ce qui cause un déclin au niveau des macrophytes

immergés. En effet, il n'y a plus assez de lumière qui pénètre au fond pour assurer la photosynthèse des plantes. La présence d'espèces végétales rares décroît et les espèces mésoeutrophes et hypereutrophes croissent rapidement (Van Dam et Mertens, 1993). Les marais dont les concentrations en nutriments sont importantes sont caractérisés par une diversité plus faible de plantes vasculaires et une augmentation des concentrations d'algues filamenteuses (Thiebaut et Muller, 1998). Certaines plantes comme *Potamogetum maackianus* ont développé une stratégie d'adaptation face à ce stress de lumière qui consiste à accélérer l'elongation des pousses centrales et latérales afin d'aller chercher un maximum de lumière en hauteur (Ni *et al.*, 2000)

L'eutrophisation conduit à un taux de mortalité précoce et rapide des poissons (Khan et Ansari, 2002). En effet, les faibles concentrations d'oxygène dissous, résultant de son utilisation par la biomasse bactérienne dégradant les débris cellulaires déposés sur le fond, ne sont pas suffisantes à la respiration des poissons, causant leur mort de façon massive (Murphy, 2002) et modifiant le ratio prédateur : proie des poissons.

L'augmentation du P favorise également la production des diatomées¹² (Foy *et al.*, 2003) lesquelles sont souvent employées comme bioindicateur¹³ de pollution.

La croissance excessive d'algues rend l'eau inapte à la baignade dans les lacs et les rivières, réduit les possibilités de pêche sportive par manque de poisson, et nuit à la

¹² Algue unicellulaire microscopique de couleur brune, qui vit dans les eaux douces ou salées, et dont la membrane est entourée d'une coque siliceuse bivalve.

¹³ Indicateur constitué par une espèce végétale, fongique ou animale dont la présence ou l'état renseigne sur certaines caractéristiques physico-chimiques, micro-climatiques, biologiques et fonctionnelles de leur environnement ou sur l'incidence de certaines pratiques. Les effets sont observables au niveau de l'individu et se traduisent par des altérations morphologiques, comportementales, tissulaires ou physiologiques.

navigation des embarcations à moteur – les algues se coinçant régulièrement dans les hélices (Khan et Ansari, 2002).

L'eutrophisation des plans d'eau peut également favoriser le développement d'algues tel que les cyanobactéries (algues bleu-verte) dont certaines espèces produisent des toxines (Falconer, 1989).

Finalement, la présence d'une zone sans oxygène au fond des plans d'eau augmente la croissance de bactérie anaérobie causant, notamment des odeurs nauséabondes. D'ailleurs, certaines de ces bactéries peuvent aussi affecter la santé humaine (Falconer, 1989).

CHAPITRE 3

MATÉRIEL ET MÉTHODES

« *Avec de la méthode et de la logique on peut arriver à tout aussi bien qu'à rien* ».

Pierre Dac, XX^{ème} siècle

3.1 Description du site étudié

La pisciculture retenue pour ce projet est la pisciculture Gilbert Inc. Celle-ci est située à Ste-Marguerite-de-Lingwick, dans la municipalité régionale de comté (MRC) du Haut-Saint-François, en Estrie. La MRC du Haut Saint-François s'étend sur près de 2300 km carrés. L'agriculture demeure son activité principale. Aujourd'hui, on y trouve plus de 600 fermes. D'ailleurs, la pisciculture Gilbert est bordée par une ferme, en amont. Cette dernière peut, occasionnellement, contaminer les sources d'eaux qui alimentent la pisciculture. En effet, après un épandage d'engrais dans les champs, les nutriments en excès sont entraînés avec les eaux de ruissellement et se retrouvent dans les eaux souterraines qui alimentent les bassins de la pisciculture se trouvant en aval des champs.

La pisciculture Gilbert Inc. est dédiée exclusivement à la production de truites : la truite arc-en-ciel et la truite mouchetée. La pisciculture est configurée en bassins d'élevage avec un système ouvert pour la circulation de l'eau. Elle possède 13 bassins d'élevage, 2 bassins de sédimentation et un bassin de géniteurs (figure 3.1). Certains de ses bassins ont un fond en terre, d'autres sont bétonnées. Sa production annuelle est entre 5 et 25 tonnes. Selon les données du MAPAQ, son taux d'enlèvement du

phosphore est de plus de 50% et son temps de renouvellement des eaux de plus de 5 jours.

Au Québec, les piscicultures se caractérisent par une grande diversité au niveau de leur configuration. Les structures misent en place dépendent essentiellement des activités du pisciculteur, du degré d'intensification de la production et des espèces élevées. La majorité des installations sont constituées de bassins en terre (production plus ou moins extensive). On rencontre également des cages flottantes sur le littoral (production plus ou moins extensive), des enclos dans des lacs (production semi-intensive ou extensive) et des raceways (production plus ou moins intensive). Quelques piscicultures peuvent intégrer des bassins bétonnés ou des bassins rectangulaires en matériaux artificiels (salmoniculture plus ou moins extensive), ou encore des bassins circulaires pour la maintenance (sous bâtis ou en plein air). Certains éleveurs possèdent également une écloserie ou des bassins d'alevinage, ces installations sont la plupart du temps bétonnées, couvertes et parfois hors sol. Les piscicultures peuvent avoir un système clos avec une recirculation de l'eau, un système ouvert où l'eau ne passe qu'une fois dans les bassins, ou encore un système mixte combinant les deux précédant systèmes. De plus certaines piscicultures intègrent un bassin de sédimentation pour favoriser la décantation des rejets solides. De nombreux sites présentent une combinaison de structures.

La pisciculture Gibert Inc. est une pisciculture typique du Québec. En effet sa configuration en étangs et sa production extensive sont représentatives de la majorité des piscicultures québécoises. De plus, elle intègre à la fois des bassins en terre, bétonnés et de sédimentation ce qui permet d'étudier plusieurs caractéristiques différentes sans avoir à changer de site. Toutefois, les conditions d'élevage et la qualité de l'eau, variant beaucoup d'une entreprise à l'autre, il n'est pas nécessairement possible de transposer les résultats obtenus dans cette étude à l'ensemble des piscicultures du Québec. D'ailleurs, la pisciculture Gilbert Inc. se

distingue de certaines piscicultures québécoises avec, notamment, une température d'eau dans ses bassins sous les 15°C et aucun bloom algal l'été.

La présente étude porte sur quatre bassins : un petit bassin de terre, un grand bassin de terre, un bassin bétonné et un bassin de sédimentation, respectivement notés étang 8, 12, 6 et sédimentation #1 (figure 3.1).

Le schéma d'écoulement de la figure 3.1 permet de constater que les bassins étudiés ne sont pas des bassins de tête. L'eau qui alimente ces bassins est donc une eau usée dont la charge en nutriments dépend de la production en amont. Les concentrations de P total obtenues dans la boue et dans l'eau de ces bassins ne proviennent donc pas uniquement du P contenu dans la moulée distribuée aux poissons, mais également des concentrations en P de l'affluent. De plus, étant donné que les tuyaux qui relient les différents bassins entre eux sont enterrés et immergés, il n'est pas possible de caractériser avec exactitude les affluents et effluents des bassins. Il est probable de croire qu'à production égale, un bassin de tête ayant un affluent d'eau neuve aurait une charge en P plus faible qu'un bassin situé en aval de la pisciculture et recevant un affluent d'eau usée. Le bassin de sédimentation devrait également avoir une charge élevée en P puisqu'il reçoit les effluents de neufs bassins de production situés en amont. L'effet de la charge en P de l'affluent du bassin 12 sera réduit car les concentrations de P seront diluées dans ce bassin dont le volume est plus de 16 fois supérieure au bassin 8.

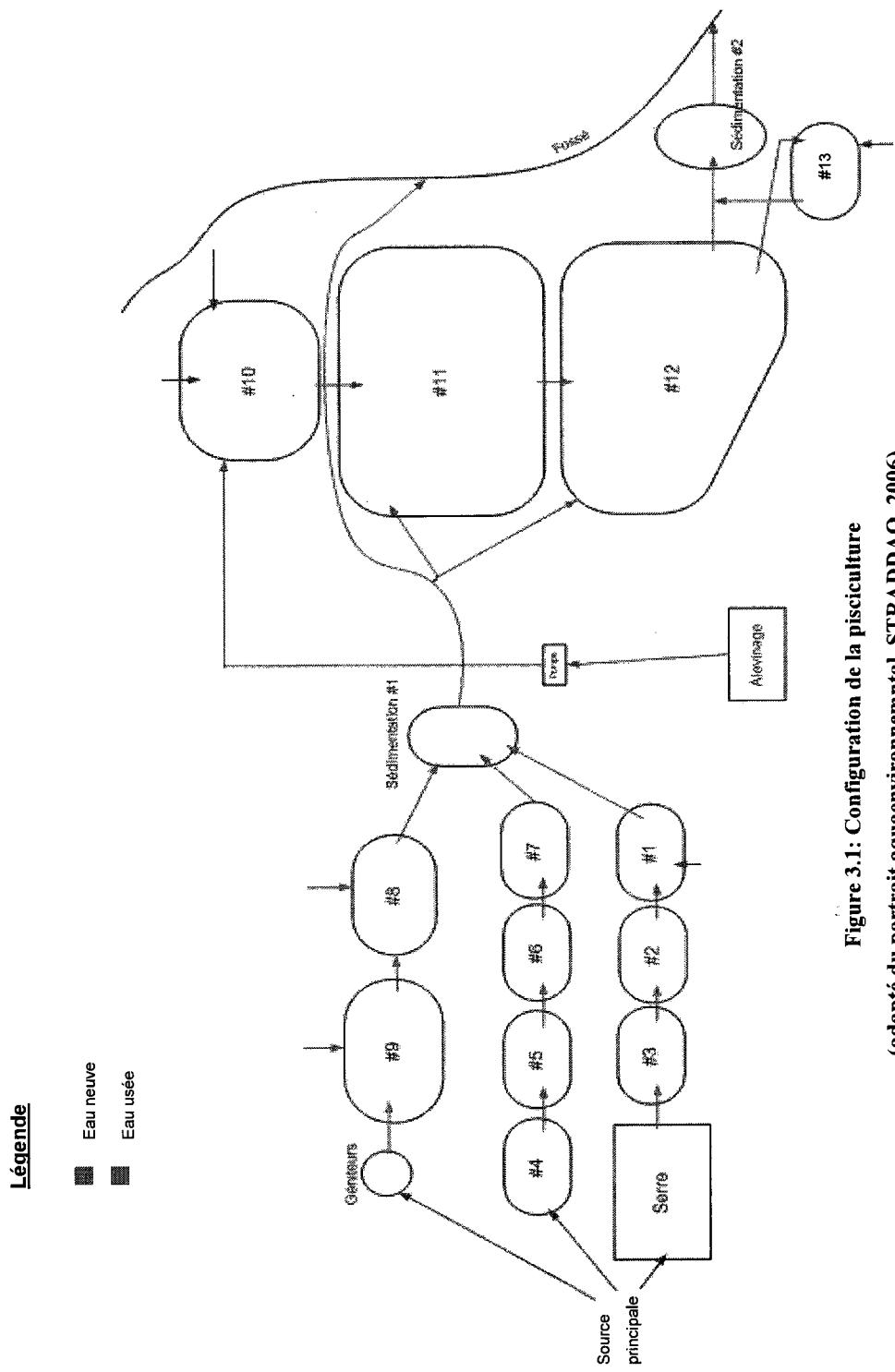


Figure 3.1: Configuration de la pisciculture
(adapté du portrait aquaenvironnemental, STRADDAQ, 2006)

Les bassins ont été sélectionnés en fonction de caractéristiques précises pour les différentes parties du projet (tableau 3.1).

Tableau 3.1: Caractéristiques des étangs

Nom des bassins	Nature du fond	Présence de poissons	Longueur m	Largeur m	Profondeur m	Volume m ³
6	Bétonné	Oui	14,2	7,2	1,45	148
8	Terre	Oui	26,5	6,1	1,52	245
12	Terre	Oui	45,4	38	2,4	4140
Sédimentation	Terre	Non	16,8	7,6	1,52	194

Le bassin 8 est un bassin artificiel en terre. Ce type de bassin est très commun dans les piscicultures québécoises. C'est ce qu'on appelle le bassin « standard ». Cet étang en terre présentait également la particularité d'avoir, en son centre, un cône de sédimentation placé pour évaluer l'efficacité d'un système de captage des matières décantables sur l'enlèvement du phosphore. Une partie des boues s'accumulait dans ce cône. Celles-ci étaient enlevées par pompage à chaque semaine. Le cône avait 1m de long, sur 1 m de large et 1m de profondeur. Il était placé dans le sol, au milieu du bassin, sous l'aérateur principal (figure 3.2). La présence de ce cône permet de comparer des boues relativement vieilles, qui s'accumulent tout au long de l'année, avec des boues jeunes qui s'accumulent pendant une semaine dans le cône.

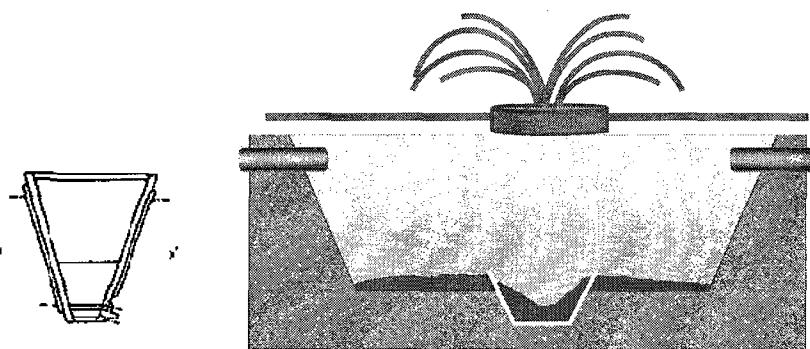


Figure 3.2 : Cône de sédimentation et son emplacement dans le bassin 8

Les bassins 8 et 6 sont de tailles et de volumes relativement semblables. La distinction principale entre ces deux bassins réside dans la nature du fond. Le bassin est 8 est en terre. Celle-ci est de type argileux sur les 30 premiers cm. Le bassin 6, quant à lui, possède un fond et des versants bétonnés. De plus, le bassin 8 est situé en aval d'un bassin de production et d'un bassin de stockage des géniteurs, tandis que le bassin 6 est situé en aval de deux bassins de production. Ces deux bassins sont positionnés en parallèle et leur effluent se jette dans le bassin de sédimentation. Le bassin 12 est un bassin en terre, toutefois à la différence du bassin 8, celui-ci est de taille et de volume beaucoup plus importants (volume bassin 8 : 245 m³; volume bassin 12 : 4140 m³). Le bassin 12 est situé presqu'à la fin de la pisciculture en aval de onze bassins de production, un bassin de géniteurs et un bassin de sédimentation. Finalement, le bassin de sédimentation #1, est un bassin en terre, de volume semblable au bassin 8 (194 m³). Il reçoit les effluents de neufs bassins de production, d'un bassin de géniteurs et d'une serre. Comme il ne contient pas de poissons, il n'y a pas de moulée qui est introduite dans ce bassin. Le P provient donc uniquement de ses divers affluents.

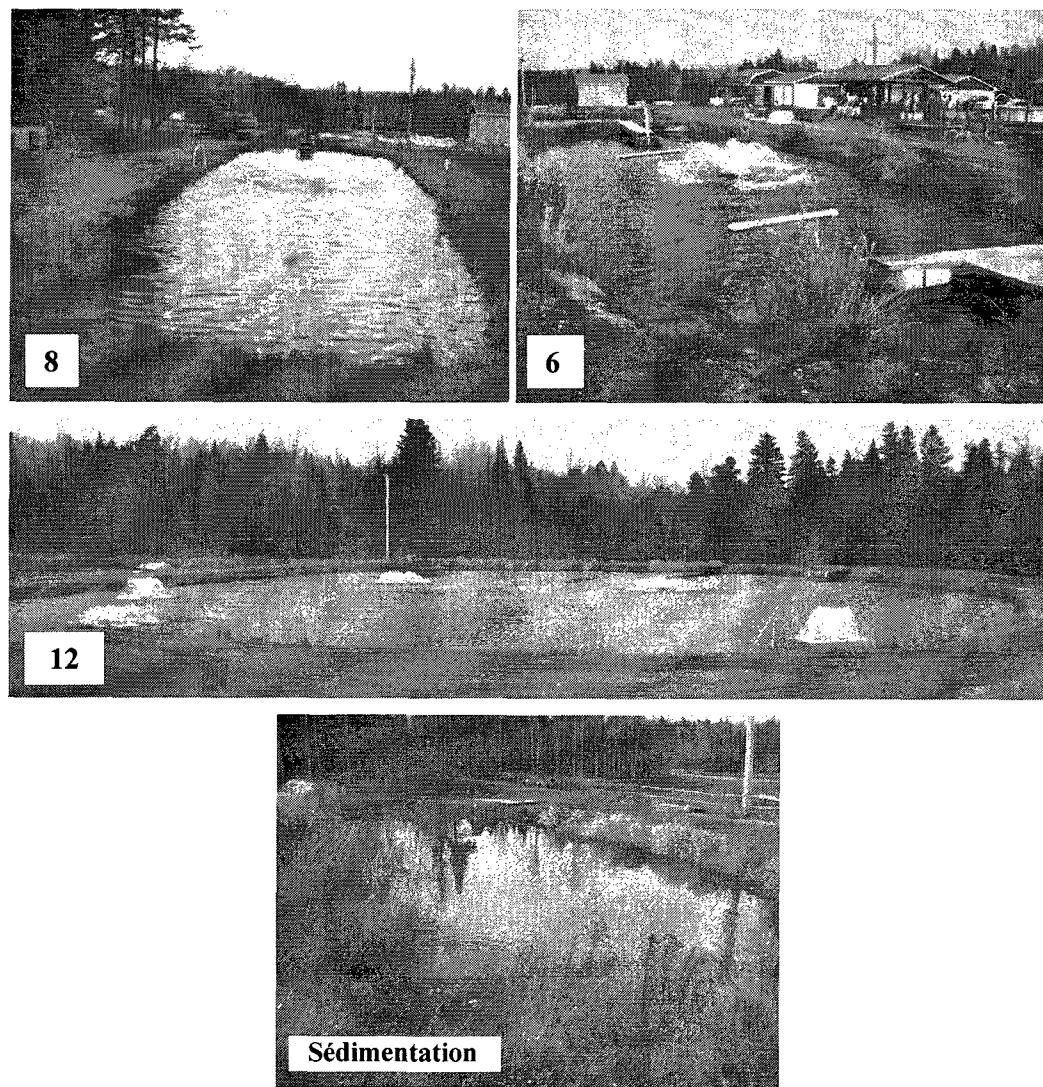


Figure 3.3 : Bassins à l'étude

8: petit bassin de terre; 6: bassin bétonné; 12: grand bassin en terre; D: bassin de sédimentation

Les comparaisons entre les différents bassins sont résumées ci-après :

- Fond du bassin 8 vs cône du bassin 8 : âge des boues
- Bassin 8 vs bassin 6 : nature du fond
- Bassin 8 vs bassin 12 : Temps de rétention hydraulique (TRH)
- Bassin 8 vs bassin de sédimentation : absence de poissons

3.2 Activités réalisées sur le terrain

La méthodologie du projet est principalement basée sur la prise d'échantillons *in situ* en pisciculture afin d'étudier divers paramètres physico-chimiques et caractériser la biomasse présente.

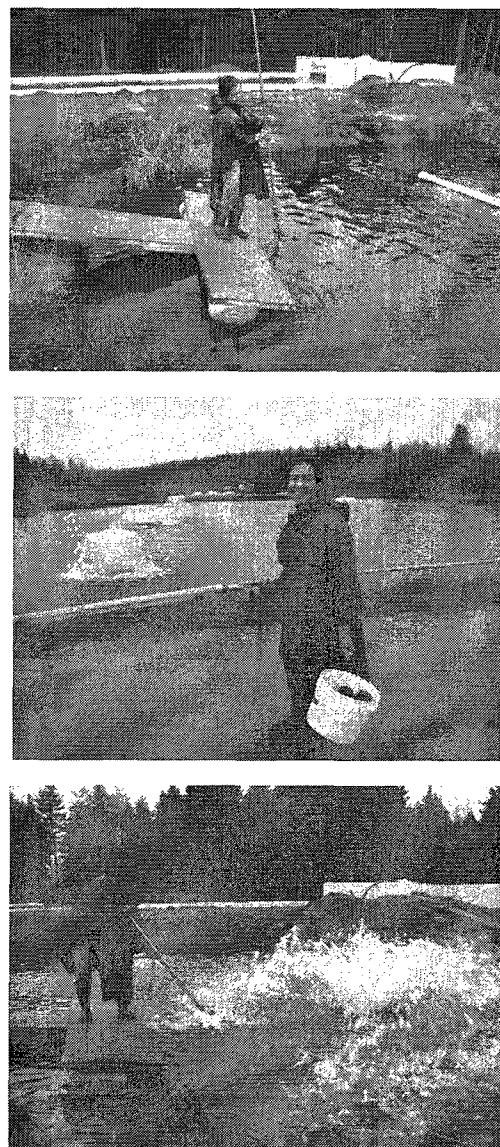


Figure 3.4 : Activités d'échantillonnage sur le terrain

3.2.1 Fréquence d'échantillonnage

La fréquence d'échantillonnage a été déterminée par quatre (4) critères :

- les pics de production de poissons durant lesquels on peut s'attendre à un rejet maximal de phosphore et donc à une activité importante des microorganismes associés
- la saison froide pendant laquelle il est généralement possible d'observer un relargage de P des boues accumulées
- la nécessité d'échantillonner sur plusieurs saisons afin d'en déterminer l'effet
- les difficultés inhérentes à l'échantillonnage d'hiver

Neuf campagnes d'échantillonnages ont été effectuées :

- Été : 29 juillet et 13 août 2008
- Automne : 26 août, 10 septembre, 24 septembre, 15 octobre 2008
- Hiver : 4 novembre, 25 novembre 2008, 28 janvier 2009

Plusieurs pré-campagnes ont été effectuées afin de valider la méthode utilisée pour le prélèvement des échantillons et les techniques d'analyses biologiques et physico-chimiques. Les analyses de chlorophylle *a* sont comptabilisées à partir du 22 juillet 2008 et les analyses de sol à partir du 25 juin 2008. Le bassin 8 a été échantillonné du 29 juillet 2008 au 10 septembre 2008 uniquement car l'étang a, par la suite, été vidé. Le bassin 12 a été échantillonné à partir du 15 octobre 2008 seulement car il ne contenait pas de poissons avant cette date.

3.2.2 Méthode d'échantillonnage de l'eau

Un échantillon d'eau a été prélevé à chaque campagne. L'eau a été prélevée en trois points (entrée d'eau, sous l'aérateur de surface et près de la sortie d'eau) sur trois hauteurs : 30 cm sous la surface, à mi-hauteur du bassin et 30 cm au dessus des boues (voir figure 3.4). L'eau a été échantillonnée avec une sonde Multisampler de Eijkelkamp selon les instructions du fabricant pour un média liquide (voir Annexe 2). Les neuf (9) prélèvements d'eau ont ensuite été mélangés ensemble dans une chaudière d'où a été tiré un échantillon composé variant entre un et deux L qui a servira aux analyses. Deux ou trois échantillons servant uniquement aux analyses de chlorophylle *a* sont tirés directement de la chaudière. Le processus a été répété dans chaque bassin. Étant donné les difficultés rencontrées lors de la campagne d'échantillonnage du 28 janvier 2009, l'eau a été prélevée à un seul point, dans chaque bassin.

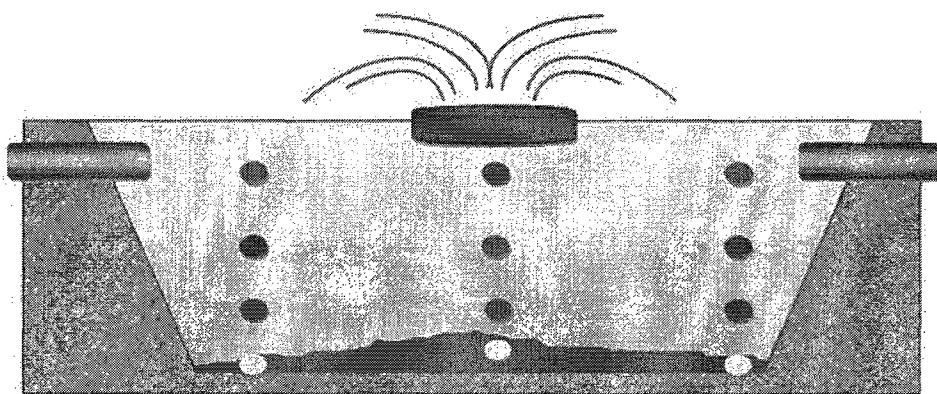


Figure 3.5 : Présentation des points d'échantillonnage des boues et de la colonne d'eau dans un bassin type

3.2.3 Méthode d'échantillonnage de la boue et du sol

Trois échantillons de boue et de sol ont été prélevés à chaque campagne (voir figure 3.5).

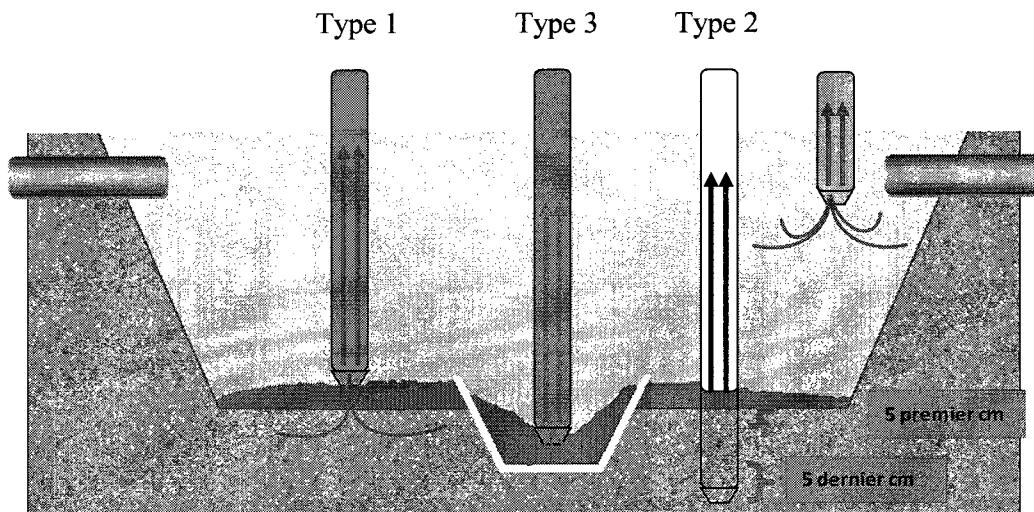


Figure 3.6 : Échantillonnage de l'eau, de la boue et du sol du bassin 8

Le premier échantillon (Type 1) a servi à caractériser les boues accumulées sur le sol des bassins. La boue étant très liquide, le premier échantillon a été prélevé avec la sonde Multisampler de Eijkelkamp configurée pour un média liquide (voir Annexe 2). La sonde a été introduite dans les boues accumulées sur le sol (environ 4-5 cm au dessus du sol). Un mélange composé principalement de boue mais également de particules de sol (argile) a été aspiré. Ce mélange a été prélevé en trois points distincts se situant généralement, près de l'entrée d'eau, sous l'aérateur de surface et près de la sortie d'eau. Ces trois prélèvements ont ensuite été mélangés ensemble dans une chaudière d'où a été tiré un échantillon composé de 500 mL qui a servi aux analyses.

Le deuxième échantillon (Type 2) a servi à établir un profil de sol. Le sol argileux

étant beaucoup plus dur que les boues, le deuxième échantillon a été prélevé avec la sonde Multisampler de Eijkelkamp configurée pour un média solide (voir Annexe 2) (figure 3.6). La sonde a été introduite à 30 cm sous la surface du sol. Une carotte représentant les 30 premiers cm de boue et de sol a été extraite. Les cinq premiers cm étaient généralement composés de boue, tandis que les 25 autres cm étaient principalement composés d'argile. Seuls les cinq premiers cm et les cinq derniers cm de la carotte ont été conservés pour analyses.

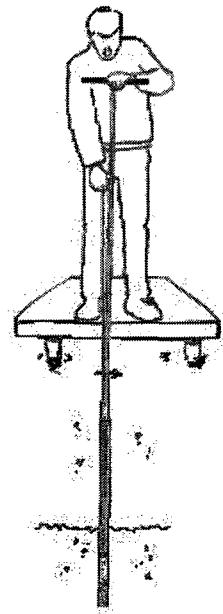


Figure 3.7 : Échantillonnage du sol avec la sonde Multisampler de Eijkelkamp

Le troisième échantillon (Type 3) a servi à caractériser les boues qui s'accumulaient dans le cône de sédimentation de l'étang 8. La sonde Multisampler de Eijkelkamp, configurée pour un média liquide, a été introduite dans le cône. Un prélèvement composé uniquement de boue a été aspiré.

Le processus d'échantillonnage des boues et du sol a été répété dans chaque bassin. Le bassin 8 étant le seul à avoir un cône de sédimentation l'échantillon type 3 n'a été prélevé que dans ce bassin (figure 3.5). Le bassin 6 étant bétonné, il n'y a qu'un

échantillon (type 1) qui y a été prélevé (figure 3.7). Celui-ci était entièrement composé de boue.

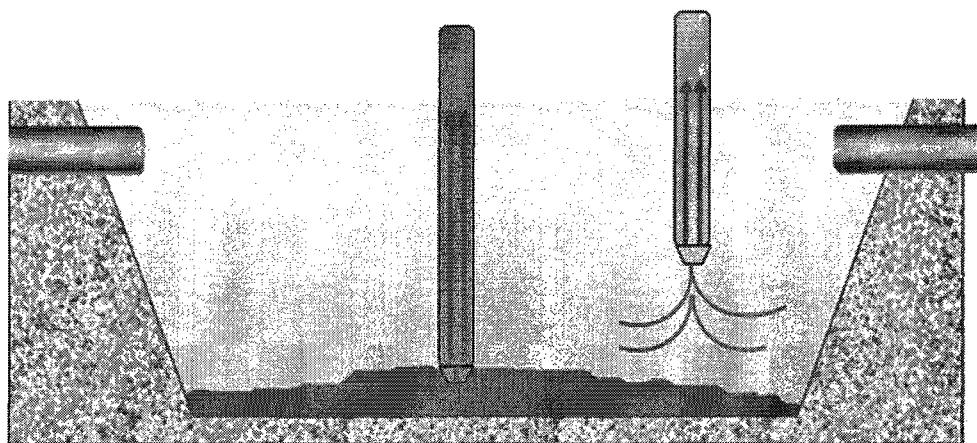


Figure 3.8 : Échantillonnage de la boue et de l'eau dans le bassin bétonné

Étant donné les difficultés rencontrées lors de la campagne d'échantillonnage du 28 janvier 2009, le premier échantillon a été prélevé à un seul point, dans chaque bassin. Le sol étant trop dur, le deuxième échantillon n'a pas été prélevé. Le cône ayant été enlevé du bassin 8 au mois d'août, il n'y a pas eu de troisième échantillon (type 3).

3.3 Analyses effectuées sur les échantillons de terrain

La température (T°), la conductivité et le pH ont été pris directement dans l'eau de chaque bassin par une multisonde Horiba 300.

Suite au prélèvement, les échantillons d'eau, de boue et de sol ont été rangés dans des glacières réfrigérées par des *ice-packs* jusqu'au retour au laboratoire. Ils ont alors été transférés dans des frigos et conservés au noir, à 4°C .

Les différentes analyses effectuées sont résumées dans le tableau 3.2

Tableau 3.2 : Analyses effectuées sur les différents échantillons

Analyses effectuées	eau	boue	sol	Méthode
Densité		x	}	Au labo
Cond., Temp., pH	x			} <i>In situ</i> avec une sonde
Phosphore (TP, o-PO ₄)	x	x		
Azote (TKN, NO _x , NH ₄)	x	x		
MT, MVT, MIT	x	x		
MES, MVES, MIES	x			
Chlorophylle a	x	x	}	ISO 10260
Microfaune	x	x		
Mésofaune		x		
Al, Ca			x}	Description détaillée ci-après Recommanded
Mg, Fe			x}	Methods for Manure Analysis (Sherry et al., 2003)

La filtration pour l'analyse des concentrations d'orthophosphates (o-PO₄), de nitrates/nitrites (NO_x), d'ammoniaque (NH₄) et de chlorophylle *a* (Chl *a*) a été effectuée dans les 24 heures suivant la prise de l'échantillon. Les analyses biologiques ont été effectuées dans les 96 heures. Toutes les autres analyses ont été effectuées entre deux et sept jours. Les analyses des concentrations de vers, de larves de chironomides, et de chlorophylle *a* ont été effectuées en duplicita. Toutes les autres analyses ont été effectuées en triplicata.

3.3.1 Analyses effectuées sur les échantillons de boue et de sol

La carotte de sol (Type 2) est analysée séparément des échantillons de boues et de sol (Type 1 et 3). Des analyses chimiques ont été effectuées sur les 5 premiers cm et les 5 derniers cm de la carotte pour déterminer les concentrations en P, Ca, Mg, Fe. Ces

analyses ont été effectuées par un laboratoire externe, suivant les procédures décrites dans le *Recommended Methods for Manure Analysis* (Sherry *et al.*, 2003).

Avant d'effectuer les analyses, les échantillons boue et de sol sont préparés comme suit :

1. Sédimentation des boues pendant 30 min dans un cône Imhof
2. Mesure du volume des boues sédimentées (pour déterminer la densité)
3. Enlèvement du surnageant
4. Récupération des boues sédimentées dans un bêcher

C'est sur ces boues sédimentées que seront effectuées la majorité des analyses physico-chimiques et biologiques.

Pour déterminer la concentration de P total et de TKN:

1. Placer le bêcher de boues sédimentées sur une plaque agitatrice à vitesse constante pour homogénéiser son contenu
2. Prélever 1 mL de boue et analyser suivant la procédure décrite dans le *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2005)

Pour déterminer la concentration en o-PO₄, NO_x et NH₄:

1. Prélever environ 30 mL de boues sédimentées
2. Centrifuger pendant 10 min, à 10 000 rpm et 20°C
3. Récupérer le surnageant et filtrer à 0,45 µm
4. Récupérer le filtrat et analyser suivant la procédure décrite dans le *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2005)

Pour déterminer les MT, MVT, MIT :

1. Analyser les boues sédimentées suivant la procédure décrite dans le *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (APHA et al., 2005)

Pour déterminer la teneur en chlorophylle *a* :

1. Selon la référence ISO 10260 (Voir annexe 4)

Pour identifier la mésofaune et déterminer sa biomasse:

2. Peser une coupelle vide
3. Déposer entre 5 et 20 g de boue sédimentée dans la coupelle
4. Peser à nouveau la coupelle (+ boue) pour déterminer précisément la masse de boue
5. Vider le contenu de la coupelle dans un bêcher de 40 mL
6. Rincer la coupelle à l'eau
7. Verser une goutte de boue du bêcher sur la coupelle nettoyée
8. Séparer les vers et les larves de chironomides de la boue avec une pincette
9. Déposer les vers dans une coupelle propre avec un peu d'eau
10. Faire de même avec les larves de chironomides dans une autre coupelle
11. Rincer la coupelle sale
12. Recommencer l'étape 8 jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de boue dans le bêcher
13. Les étapes 8 à 13 sont longues et fastidieuses. Elles peuvent demander plusieurs heures de travail.
14. Prendre 2 nouvelles coupelles et les identifier respectivement C (chironomides) et V (vers)
15. Mettre les coupelles au four à 105°C pendant 1 heure
16. Retirer les coupelles du four et les laisser refroidir pendant 20 min. au dessiccateur
17. Retirer les coupelles du dessiccateur et les peser
18. Prendre les vers de l'étape 10, un à un, avec une pincette

19. Déposer délicatement le vers sur du papier absorbant (papier brun) pour enlever l'excédent d'eau autour du vers
20. Reprendre le vers et le déposer dans la coupelle sèche identifiée V
21. Répéter l'étape 19 afin de sécher tous les vers et de les transférer dans la coupelle sèche.
22. Peser la coupelle avec les vers frais
23. Mettre la coupelle avec les vers frais au four à 105°C pendant toute une nuit
24. Retirer la coupelle du four et la laisser refroidir pendant 20 min au dessiccateur
25. Peser la coupelle avec les vers secs
26. Répéter le cycle à partir de l'étape 19 avec les chironomides (à l'étape 21, mettre les chironomides dans la coupelle identifié C)
27. La biomasse est exprimée en mg/g boue ou en mg/ml

Pour déterminer l'abondance de la mésofaune :

1. Déterminer la biomasse des *tubifex sp.* et des larves de chironomides
2. Déterminer la masse sèche (MS) d'un individu. Dans cette étude les valeurs ont été prises dans la littérature *Tubifex sp* : 130 µg/indiv. (Brinkhurst *et al.*, 1972), larves de chironomides : 200 µg/indiv. (Graneli, 1979)
3. Abondance = Biomasse ÷ (MS)

Pour identifier la microfaune et déterminer son abondance:

1. Verser l'échantillon de boue sédimentée à étudier dans un bécher et placer ce bécher sur une plaque agitatrice pour homogénéiser son contenu
2. Mettre une goutte de boue sur une lame de microscope
3. Si la boue est trop épaisse, faire une dilution 1:10
4. Poser une lamelle sur la goutte et presser très légèrement sur la lamelle avec un objet pointu tel un crayon pour expulser l'excédent d'air
5. Observer la lame au microscope à 4X, puis à 10X et 100X
6. Identifier la microfaune à l'aide d'une clé d'identification

7. Utiliser le contraste de phase pour voir plus précisément certains détails sur les microorganismes et faciliter leur identification.
8. Compter le nombre d'individus observés

Pour les besoins de cette étude, les microorganismes identifiés ont été regroupés en trois (3) grands groupes : flagellés, ciliés et métazoaires.

Afin d'éviter les trop grandes variations au niveau du volume de la goutte d'échantillon observée au microscope, la même pipette est utilisée pour toutes les observations et le volume moyen d'une goutte est mesuré à chaque campagne d'échantillonnage. Pour ce faire, 10 gouttes d'eau de ladite pipette sont pesées, une à une, afin d'obtenir la masse moyenne d'une goutte.

Pour déterminer la biomasse de la microfaune:

1. Prendre des photos des microorganismes à l'étude
2. Mesurer leur longueur et leur largeur
3. Déterminer le biovolume des microorganismes en leur assignant des formes géométriques simples (Elder, 1979).
4. Multiplier le biovolume par un facteur de conversion (FC) approprié pour déterminer la MS (tableau 3.3).
5. Biomasse = MS x Abondance

Tableau 3.3 : Facteurs de conversion pour la microfaune étudiée

Organismes	FC	Référence
Flagellés	0,17	Laybourn, 1976
Ciliés	0,17	Laybourn, 1976
Nématodes	0,24	Elsas, 1997
Rotifères	0,15	Pauli, 1979

3.3.2 Analyses effectuées sur les échantillons d'eau

Pour déterminer les concentrations de P total, TKN, o-PO₄, NO_x et NH₄ ainsi que les MT, MVT, MIT, MES, MVES, MIES :

1. suivre la procédure décrite dans le *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2005)

Pour déterminer la teneur en chlorophylle *a* :

1. Selon la référence ISO 10260 (Annexe 4)

Il n'y a pas d'analyses de vers et de chironomides dans les échantillons d'eau car ces organismes n'ont pas été observés dans les échantillons d'eau prélevés.

Pour identifier la microfaune et déterminer son abondance:

1. Suivre les étapes décrites à la section 3.3.1 *Identifier la microfaune et déterminer son abondance* en remplaçant laboue par l'échantillon d'eau
2. Omettre l'étape 3 décrite à la section 3.3.1 *Identifier la microfaune et déterminer son abondance*

Pour déterminer la biomasse de la microfaune:

1. Même procédure que pour les échantillons de boue

CHAPITRE 4

POTENTIAL CONTRIBUTION OF MICRO- AND MESOFAUNA TO PHOSPHORUS RELEASE FROM FISH FARM SLUDGE

“Un esprit est analytique s'il considère les choses dans leurs éléments, il est synthétique s'il les considère dans leur ensemble”. André Lalande, XX^{ème} siècle

Le chapitre suivant présente un article soumis à la revue *Aquaculture* sur la base des travaux réalisés dans le cadre de ce projet de maîtrise. Parmi les hypothèses de recherche présentées, l'hypothèse 1c portant sur l'effet de l'âge des boues est celle qui fait l'objet de cet article. Cette comparaison a donc été réalisée en comparant la diversité faunistique et les autres paramètres physico-chimiques de deux étangs dont un avait des boues stockées tout au long de la période d'élevage alors que l'autre avait des boues enlevées d'un cône de sédimentation régulièrement (à chaque une ou deux semaines).

Marie-Laure de Boutray¹, Jaume Puigagut^{1,2}, Florent Chazarenc³, Yves Comeau¹

¹ Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Ecole Polytechnique of Montreal, 2500, chemin de Polytechnique, Montreal, (Quebec) Canada H3T 1J4

² Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal, 4101 Sherbrooke Est, Montreal (Québec), Canada H1X 2B2

³ École des Mines de Nantes, 4, rue Alfred Kastler, La Chantrerie, B.P. 20722, F-44307 Nantes Cedex 3, France

4.1 Abstract

Microfauna (protozoans and small metazoans) and mesofauna (tubificids worms and chironomids larvae) living at the water/sludge interface directly influence phosphorus dynamics. This study reports experimental results from an earth pond system used to culture Brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Samples for biological and physical chemical analyses were taken from water, sludge accumulating at the bottom of the pond through the production season (BS) and sludge accumulating in a sludge collecting device (CS) (which is considered as “young” sludge since it was extracted every week). The pond was monitored during four months and abundances of organisms recorded were employed to calculate their potential contribution to phosphorus mobilization of fish farm sludge by using their phosphorus release capacity described in literature. Flagellates were the most abundant group in water and sludge (either BS or CS) and they represented the group with the highest biomass in BS (390 µg/g sludge). However, the most important biological group in terms of biomass for the CS was the chironomid larvae ($4.4 \cdot 10^5$ µg/g sludge). Flagellates and chironomids larvae showed the highest potential capacity for P release (3,23 and 515 mg P kg sludge⁻¹ d⁻¹, respectively), which implies that they might be able to mobilize the whole phosphorus content of BS (290 mg P/kg sludge) within less than one day.

and three months to the chironomids and flagellates, respectively. Results also evidence that the presence of microfauna and mesofauna communities is highly dependent on the type of sludge considered. Accordingly, CS (one-week-old sludge) has no presence of chironomids larvae, small metazoan or tubificid worms, and the abundances of ciliates and flagellates are much lower when compared to BS. Therefore, the periodical removal of sludge generated in a fish farm might contribute to reduce the phosphorus released by micro and mesofauna communities.

4.2 Introduction

Fish farm activities are recognized as a potential source for pollution, (Boaventura, 1996; True 2004) which results in significant changes in the physical, chemical and biological characteristics of the receiving streams (Delgado *et al.*, 1999; Lampadariou *et al.*, 2008). Nitrogen (N) and phosphorus (P) are the two main pollutants of aquaculture production (Reddy *et al.*, 1999). Phosphorus causes environmental concerns since excessive discharge of P to receiving waters leads to water quality degradation through eutrophication (Reddy *et al.*, 1999, True, 2004).

In Quebec (Canada), flow-through pond systems are the most common type of aquaculture facility (MAPAQ, 2009). Current legislation in Quebec regarding P discharge has led to a reduction of the provincial fish production during the last decade (MAPAQ, 2009). A strategy was developed by the Quebec government in 2003 to quantify and reduce P loadings to the aquatic environment (AAQ, 2003). It limits the P discharge of a fish farm to 4.2 kg of P released per ton of fish produced. Thus, reducing P discharge is essential for the continued environmental and economic sustainability of fish production.

Phosphorus in fish farms effluents is derived from feces, urine and waste feed (Ackefors and Enell, 1994; Cho et al., 1994; Bergheim, 2000; True, 2004) and is discharged in particulate and dissolved phases. Since 60 to 80% of P excreted by fish is solid matter (Foy and Rosell, 1991), sludge removal has been proposed as an efficient way to reduce P discharge in the environment from fish farm activities (Seo and Boyd, 2001; Cripps & Bergheim, 2000; Cao et al., 2007).

Phosphorus dynamics between sediment and overlaying water is a complex phenomena since it is governed by both physical-chemical and biological processes. Accordingly, interactions between phosphorus and soil on aquatic sediments have shown that sorption and precipitation influence phosphorus transfer from overlaying water to sediment (Bostrom, 1988; Evan, 2004). Furthermore, sediments with high specific surface area such as clay particles promote P sorption. Likewise, the sorption capacity of the sediments has been shown to be proportional to the iron and aluminum oxyhydroxides content of sediments (Golterman, 1998; McDowell et al. 2001; McGechan 2002). On the other hand, the accumulation of P bound organic matter (OM) over the bottom transforms the pond sediments. It stimulates microbial growth (Andersson; 1988; Bloem et al., 1989) and induces the proliferation of small-size opportunistic species (Pearson and Rosenberg, 1978). Futhermore, enthos and pelagic microorganisms also play a major role on phosphorus cycle in such scenario (Reddy et al., 1999; Lampardiou et al., 2008). They assimilate both organic and inorganic forms of P (Bentzen et al., 1992; Reddy et al., 1999) and promote P mineralization. They can also induce marked changes in pH and dissolved oxygen concentration of the water column (Carlton and Wetzel, 1988; Reddy et al., 1999). Bioturbation by oligochaetes and chironomids larvae also affects P fluxes at the water/sludge interface (Andersson, 1988). In spite of the potential role that micro and mesofauna may have on the phosphorus dynamics in aquaculture ponds, little information is published on the subject.

The objective of this study was to characterize microfaunal and mesofaunal communities in an earth pond devoted to trout production. Results on community characteristics (abundance and biomass) were used to assess the biological groups which might contribute to the greatest extent to P release based on P release data from literature. Pond operational strategies are also discussed in order decrease biological contribution for phosphorus release. The originality of this approach is that it characterizes micro- and mesofauna directly in the production pond and not downstream.

4.2 Materials and methods

4.2.1 Site and pond description

This study was carried in a flow-through pond fish farm located in south-eastern Quebec (Canada). The facility is entirely devoted to Brook trout production (*Salvelinus fontinalis*) like most of the fish farms in Quebec. The fish farm uses a few surface water sources, but relies mainly on ground water. Since most of the drainage area upstream the trout farm is agricultural land, the water sources are nitrogen and phosphorus enriched part of the year. The farm operates concrete and earth ponds. It has thirteen production basins, a spawner earth pond and two sedimentation ponds. The studied pond was dug in clay. It is 27 m long, 6 m wide and 1.5 m deep, with a total volume of 243 m³. Its sludge is shovelled out once a year. Two production ponds are located upstream the studied pond. At the beginning of the study period two water sources were discharged in the pond: ground water and the effluent of the upstream ponds. After a few weeks the effluent of the upstream ponds was blocked and the studied pond was only fed with ground water. Therefore, inflow varied from 140 to 335 m³/day throughout the study. The total production of the pond was 800 kg

of fresh weight for the study period. Furthermore, a sedimentation cone was placed in the surveyed pond to asses the efficiency of a solids collecting system on removing particulate phosphorus. Cone sludge was pumped out weekly. The efficiency of the cone on collecting solids generated during fish production is out of the scope of the present paper and is described somewhere else (Le François et al., 2009).

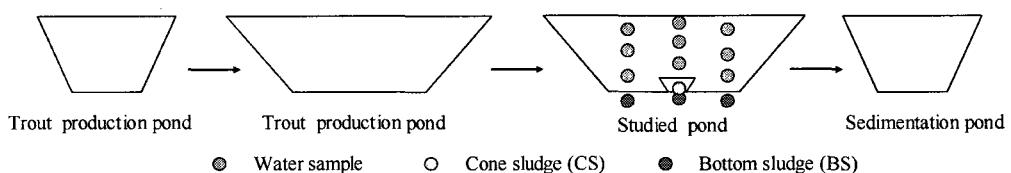


Figure 1. Fish farm configuration and sampling methodology

4.2.2 Water samples

Water samples were collected four times between July and September 2008 using an Eijkenkamp multisampler (core sampler) set to collect water samples. Samples were taken at three depths (30 cm from the surface, mid-depth and 30 cm above the bottom) at three sampling spots along the length of the pond (inlet, mid-section and outlet) (Figure 1). Water samples were then combined and treated as a composite sample representative of the pond water. The composite sample was preserved in a cooler for transport. At the lab facility, it was divided in two subsamples one of which was filtered over a 0.45 µm nitrocellulose membrane filter (Millipore). Both subsamples were then stored in the dark at 4 °C. Lab analyses were carried out within one week.

4.2.3 Sludge samples

Two types of pond sludge samples were collected: bottom sludge (BS) and cone sludge (CS). Bottom sludge (BS) was collected using the Eijkelkamp multisampler set to collect solid samples at three points along the length of the pond main axis: inlet, mid-section and outlet (Figure 1). The sampling device was introduced just above the surface of the clay bottom (first 5 cm). A mixture of soil and sludge (faeces and uneaten food) was therefore collected at each sampling point. BS samples were then mixed and treated as a composite sample representative of the solids accumulated at the bottom of the pond. Cone sludge (CS) consisted of sludge that accumulated during the week in the sedimentation cone located in the middle of the pond just under the surface aerator. The multisampler was introduced in the cone and a representative sample of the sludge that accumulated was taken.

Both types of sludge samples were preserved in a cooler for transport. At the lab facility, they were subjected to a 30 min. settling process prior to analysis. The volume of the settled sludge was measured and its density calculated. The supernatant was removed and the remaining solids collected. A portion of the remaining solids was centrifuged at 10 000 rpm for 10 min and then filtered over a 0.45 µm nitrocellulose membrane filter (Millipore). Filtered and non filtered sludge samples (BS and CS) were stored in the dark à 4 °C. Lab analyses were carried out within the week after sampling.

4.2.4 Physico-chemical analyses

Temperature (T), pH and conductivity (Cond.) were measured *in situ* using a Horiba 300 multiprobe. Total phosphorus (TP), total Kjeldhal nitrogen (TKN), soluble reactive phosphorus (SRP), nitrate/nitrite (NOx) and ammonia (NH₄) were

determined in water and sludge samples. All chemical analyses were carried out according to Standard Methods (APHA *et al.*, 2005). For TP and TKN determination, 5 mL H₂SO₄ were added to 20 mL water samples or to 1 mL sludge samples. SRP, NO_x and NH₄ determinations were carried out on water and sludge filtered samples. Chlorophyll a (Chl a) was determined according to the method ISO 10260. Total solids (TS), inorganic solids (IS), total suspended solids (TSS) and inorganic suspended solids (ISS) were analyzed according to Standard Methods (APHA *et al.*, 2005). TS and TIS were carried out on water and sludge samples. TSS and ISS were analyzed on water samples only.

4.2.5 Microfauna analysis

Flagellates, ciliates, rotifers and nematodes were counted on fresh samples within 24 hours after field sampling using a Zeiss microscope at 100-400X magnification. Random samples of 10 individuals per group were photographed and then measured for biomass calculations using the Axio Vision software (Zeiss, Germany). Dry weight (DW) of each group was determined from volume calculations by measuring the length and maximum width (squared) on 10 randomly-selected individuals per group. Biovolumes were estimated by assuming simple geometric shapes, ellipsoid or spheroid, as recommended by Edler (1979). Biovolumes were then multiplied by a conversion factor to give dry weight in µg/cell (Warwick, 1984). Biomass (µg/L or µg/g fresh sludge) was determined by multiplying DW by the abundance. Only flagellate sizes from 5 to 20 µm and ciliate sizes from 30 to 60 µm were used to calculate biovolumes. Other sizes were ignored because of their scarcity.

4.2.6 Mesofauna analysis

Chironomids larvae and tubificid worms were manually separated with tweezers from a known volume of sludge. They were put in freshwater vessel for cleaning and then placed on a paper towel to remove excess water prior to fresh weight measurement. Specimens were then dried at 105°C for 24 h and weighed to determine their dry weight. Biomass was expressed in mg dw/g fresh sludge and abundance in indiv/g fresh sludge.

4.2.7 Statistical analysis

Sludge samples represented a unique set of conditions at each sampling date with no true replication. To show whether mean BS and CS differences were larger than could be explained by variability in measurement and seasonal differences, we calculated the BS-time and CS-time interaction from a repeated measures ANOVA test with the general linear model (GLM) procedure using the Statistica software (StatSoft®, 2008). A ‘significant difference’ (with $P < 0.05$) between BS/CS was one that could not be reasonably explained by the variation between measurements over time.

4.3 Results

4.3.1 Characterization of the pond water and sludges

During the sampling period, the water temperature decreased from 14.2 to 10.5 °C and the pH increased from 7.1 to 7.5, while conductivity remained constant(table 1).

An ANOVA test of variances indicated significant statistical differences ($p<0.05$) in total phosphorus (TP) and total Kejdalh nitrogen (TKN) between BS and CS sludge samples.

Table 4.1 : Characterization of the water and sludges of the fish pond

Parameter	Units	Water	BS ^a	CS ^b	p-value BS vs CS
Temperature	(°C)	12.1 ± 1.6	-	-	-
pH	-	7.3 ± 0.2	-	-	-
Conductivity	(S/cm)	0.230 ± 0.005	-	-	-
TS	(mg/L ^c or g/L ^d)	350 ± 50	300 ± 120	230 ± 50	0.50
IS	(mg/L ^c or g/L ^d)	280 ± 27	280 ± 110	210 ± 40	-
TSS	(mg/L ^c or g/L ^d)	91 ± 14	-	-	-
ISS	(mg/L ^c or g/L ^d)	82 ± 14	-	-	-
Density	(g fresh sludge/L)	-	1.2 ± 0.14	1.1 ± 0.01	-
Solids concentration	(g TS/g sludge)	-	250 ± 100	210 ± 50	-
TP	(mg P/L)	0.17 ± 0.03	240 ± 170	680 ± 60	0.001
SRP	(mg P/L)	0.01 ± 0.03	0.01 ± 0.01	-	-
TKN	(mg N/L)	2.24 ± 1.14	450 ± 370	890 ± 120	0.019
NOx	(mg N/L)	2.24 ± 0.47	0.40 ± 0.40	-	-
NH ₄	(mg N/L)	0.14	3.63	-	-
Chl a	(mg/L)	1200 ± 970	8100 ± 3700	-	-
Ca	(mg/L)	-	1180 ± 250	-	-
Mg	(mg/L)	-	920 ± 490	-	-
Fe	(mg/L)	-	3300 ± 1600	-	-
Al	(mg/L)	-	2700 ± 1200	-	-

^aBottom sludge ^bCone sludge ^cWater samples ^dSludge sample

Inorganic solids (IS) represented the largest proportion of total solids (TS). The high concentration of IS (280 mg/L) in water was caused by dissolved clay and metals ions from the earth bottom. Most of the organic fraction was dissolved (DVS; DVS=VS-

VSS) as showed by the low volatile suspended solids (VSS; VSS=TSS-ISS) (7 mg/L) compared to VS (66 mg/l). The organic concentration (VS) was similar in BS and CS (15 g/L and 17 g/L, respectively) (Table 1). Furthermore, TP and TKN concentrations were higher in CS (680 mg P/L; 890 mg N/L) than in BS samples (260 mg P/L; 447 mg N/L) (Table 4.1), whereas, SRP was similar in water and BS. NO_x was higher in water than in sludge. Finally, Chl a concentration was more than 8 times higher in BS than in water. High concentrations of Al (2700 mg/L) and Fe (3320 mg/l) were present in BS.

4.3.2 Biological composition of the pond water and sludges

Five biological groups were monitored in the pond water and sludges (Table 4.2). All groups studied fluctuated greatly in abundance and biomass during the period of study, as indicated by large standard deviation/mean ratios.

Table 4.2 : Abundance and biomass for the biological groups in each habitat (Water, BS or CS) during the sampling period (Mean ± SD, n=4)

Biological group	Water		BS ^a		CS ^b		p-value	
	Abundance indiv/mL	Biomass µg/L	Abundance indiv/mL	Biomass µg/L (µg/g sludge)	Abundance indiv/mL	Biomass µg/L (µg/g sludge)	Abundance BS vs CS	Biomass BS vs CS
Flagellates	920 ± 530	96 ± 56	28000 ± 28000	2900 (2) ± 2900 (2)	14000 ± 3700	1500 (1.4) ± 390 (0.4)	0.02	0,6 (0,7)
Ciliates	4 ± 8	18 ± 25	200 ± 140	640 (0.53) ± 460 (0.39)	88 ± 150	290 (0.27) ± 500 (0.46)	0.7	0,4 (0,5)
Rotifers	0	0	18 ± 30	12000 (11) ± 20000 (19)	0	0		
Nematodes	0	0	5 ± 9	3400 (3) ± 5800 (6)	0	0		
Chironomids	0	0	3 ± 2	6.8x10 ⁵ (790) ± 4.4x10 ⁵ (500)	0	0		
Tubificid worms	0	0	0.5 ± 0.3	67000 (82) ± 35000 (42)	0	0		

^aBottom sludge ^bCone sludge

Abundance of micro and mesofauna was always higher in sludge (either BS and CS) and lower in pond water (Table 4.2). BS always provided higher values of abundances of those groups studied than CS. Flagellates always dominated in numbers the studied community both in pond water and sludge, and the abundance of

this small protozoans was significantly higher in BS than in CS (Table 4.2). Ciliates abundance was higher than that of small metazoans (rotifers and nematodes), however, because their individual biomass (Table 4.5) is low, their biomass in the pond was lower than for rotifers and nematodes. Small metazoans (rotifers and nematodes) and mesofaunal populations (chironomids and tubificids) were neither found in water nor in cone sludge. They accounted for the largest biomass of all groups. Ciliate abundance and biomass were larger in BS than in CS although no statistical differences were found (Table 4.2).

4.3.3 Potential phosphorus release by micro and mesofauna groups

Based on the available data from the literature, the potential P release of the organisms found in the bottom and cone sludges are estimated (Tables 4.3 and 4.4).

Table 4.3 : Abundance, maximum o-PO₄-P excretion rate, potential P release, potential P mobilization and required days for P mobilization at the bottom of the earthen pond (BS)

Organisms	Abundance indiv kg sludge ⁻¹	Maximum o-PO ₄ excretion rate µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Potential P release mg P kg sludge ⁻¹ d ⁻¹	Potential P mobilization mg P rel mg P sludge ⁻¹ d ⁻¹	Required days for P mobilization day
Flagellates	2.2E+07	0.000006 ¹	3.2	0.01	90
Ciliates	1.6E+05	0.000005 ¹	0.02	0.0001	15000
Rotifers	1.7E+04	0.004 ²	1.7	0.006	170
Chironomidae	4.0E+03	5.4 ³	520	1.8	0.6
Tubificid worms	6.3E+02	0.004 ⁴	0.07	0.0002	4300

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (original data in µg P dw⁻¹ h⁻¹)
P concentration in sludge: 290 mg P/kg sludge

Table 4.4 : Abundance, maximum o-PO₄-P excretion rate, potential P release, potential P mobilization and required days for P mobilization in a cone sludge (CS)

Organisms	Abundance indiv kg sludge ⁻¹	Maximum o-PO ₄ excretion rate µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Potential P release mg P kg sludge ⁻¹ d ⁻¹	Potential P mobilization mg P rel mg P sludge ⁻¹ d ⁻¹	Required days for P mobilization day
Flagellates	1.3E+07	0.00006 ¹	1.90	0.003	390
Ciliates	8.1E+04	0.00005 ¹	0.01	0.00001	75000
Rotifers	0	0.004 ²	0	0	-
Chironomidae	0	5.4 ³	0	0	-
Tubificid worms	0	0.004 ⁴	0	0	-

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (original data in µg P dw⁻¹ h⁻¹)

P concentration in sludge: 750 mg P/kg sludge

The potential P release values calculated in tables 4.3 and 4.4 are theoretical values that suggest the contribution of each biological group if no other parameter other than this biological taxa would influence P release. It is obviously not the case, though it provides a simple and efficient way to compare each taxa and asses which group might be the most important in terms of P release. It does not show a real P release value since several other parameters either biological or physico-chemical may influence P dynamics in fresh water/sediment interfaces (Golterman, 1998; McDowell *et al.* 2001; McGechan 2002; Reddy *et al.*, 1999).

According to these estimates, in BS, flagellates and chironomids had the highest potential contribution to P release (3,2 and 520 mg P kg sludge⁻¹ d⁻¹, respectively) . Furthermore, the ratio between potential P release and P concentration in the sludge is 0,01 and 1,8 mg P released/mg P in BS, for flagellates and chironomids, respectively, which means that it would have taken 90 and 0,6 days to potentially mobilize all the P present in the sludge (291 mg P/kg sludge) if mineralization by flagellates or chironomids were the only processes regulating P flux at the water/sludge interface.

In cone sludge, rotifers, chironomids and tubificids were absent. Therefore, their potential P release is nonexistent. In this sludge, it is the flagellates that had the

highest potential P release. Even if their abundance was similar to BS ($2,2 \times 10^7$ and $1,32 \times 10^7$, respectively) they had a smaller potential P mobilization because TP, in this sludge, is higher (745 mg P/kg sludge), and thus required more days for mobilization (390 days).

4.4 Discussion

4.4.1 Micro and mesofauna communities

The main impact of a flow-through pond fish farm system is the increase in the loading of P and organic matter that enrich pond water and underlying sludge (Alabaster, 1982). Indeed, nutrient concentrations in the water of the pond were more similar to eutrophic lakes (10-30 µg P/L; 500-1000 µg N/L) than to oligotrophic ones (5-50 µg P/L; 250-660 µg N/L). However, chl a concentration, which also indicates level of eutrophication, (Dalsgaard and Krause-Jensen, 2006) was not similar to a polluted area (>10µg/L).

The most widely accepted relationship between microorganisms and levels of organic enrichment is the one proposed by Pearson and Rosenberg (1978) which predicts the proliferation of small-size opportunistic species and a general reduction of total biomass in a polluted zone (Lampardiou *et al.*, 2008). Opportunistic, fast-growing, small-bodied species (r-selected) are favoured under stressful environmental conditions, such as organic enrichment, because larger organisms display low efficiency of converting energy to biomass. (Odum, 1985; Lampadariou *et al.*, 2008). These species feed on bacterial biomass or directly ingest organic matter. Therefore, they are more likely to develop overwhelmingly in sludge where OM is more abundant than in water. In the present study, flagellates were indeed the most

abundant group both in water and sludge which is in accordance with Sherr (1983) who suggested that flagellates are to be typically abundant in eutrophic waters and around detrital particles. In this survey, nematodes were less important in terms of abundance when compared to flagellates, ciliates, rotifers, tubificids or chironomids. Results suggest that other factors are more important than food availability to regulate nematodes abundance. Rotifers abundance and biomass were high (18 indiv/mL; 12000 µg/L) which is again in agreement with Sendacz (1984) who reported that high rotifers density are characteristic of many eutrophic lakes. The dominance of big metazoa - particularly chironomids larvae - in terms of biomass - is also typical of eutrophic environment (Andersson *et al.*, 1988).

The cone sludge presented a low diversity of organisms compared to pond sludge. CS nutrient values were particularly high and no metazoa, neither small nor big were found (Table 4.4). CS flagellates and ciliates abundance were also lower compared to BS, where nutrient concentrations were lower and micro and mesofauna abundance higher. These results can be explained by high nutrients values that promote higher bacterial activity which lead to an oxygen depletion and the formation of toxic compounds in the anoxic sludge. Another factor for low diversity in CS is the weekly removal of the sludge which prevents the development of larger organisms such as chironomids and tubificids that have lower metabolism activities. It is most probable that these effects are not mutually exclusive but co exist.

In our study most of the individual biomasses calculated match those described previously in literature (Table 4.5), except for the rotifers which tended to be higher than those previously reported. Accordingly, it has been described that high concentrations in nutrients (0.17 mg P/L and 2.24 mg N/L in pond water), may be responsible for the augmentation of individual biomass as explained by the Felip and Catalan (2000) suggesting that the maximum biovolume is related to an improvement in growth conditions, such as nutrients input. Jeppesen (2005) also

argued in the same way from his analysis of 35 cases in which the total zooplankton biomass was shown to increase with the TP concentration.

Table 4.5 : Shape, mean biovolume, conversion factor for transforming wet weight to dry weight, dry weight (DW) and reference dry weight in natural environment

Organisms	Shape	Mean biovolume (μm^3)	CF (dry:weight)	DW ($\mu\text{g}/\text{indiv}$)	Reference DW ($\mu\text{g}/\text{indiv}$)
Flagellates	ellipsoid spheroid	6.2×10^2	0,17 ^a	$1 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3}$ ^d
Ciliates	ellipsoid	1.9×10^4	0,17 ^a	0,007 - 0,01	0,001 - 0,1 ^a
Nematodes	ellipsoid	2.0×10^5	0,24 ^b	0,003 - 0,12	0,03 - 0,15 ^e
Rotifers	ellipsoid	4.4×10^6	0,15 ^c	0,01 - 4,56	0,02 - 0,74 ^c

^aLaybourn, 1976 ^bElsas, 1997 ^cPauli, 1989 ^dDolan, 1996 ^eVanrusel *et al.*, 2000

Volume equation ellipsoid: $(4\pi r_1 r_2 r_3)/3$ spheroid: $(4\pi r^3)/3$

4.4.2 Contribution to P release by microorganisms

According to Johannes (1964), P is mineralized mainly by protozoan ingestion of bacteria and subsequent excretion of dissolved inorganic P. Mineralized nutrients are usually rapidly re-used by the primary producers and bacteria. Thus, simple measurements of concentrations in the water represent a balance between mineralization by the grazers and the uptake by algae and bacteria (Lehman, 1980; Andersson *et al.*, 1988).

Among the five biological groups present in the pond, chironomid larvae seem to have the maximum potential P release: they are abundant and have a high P excretion rate. This result is in accordance with Gallepp (1979) who found in a flow through system a direct relationship between the amount of P released from the sediments and the number of chironomid larvae. He concluded that excretion alone could account for all the increase in P release rate in the presence of chironomid larvae. A similar

relationship between benthic invertebrates and P release was also found by Gardner et al (1981). Our results are evidence of the great potential of benthic fauna to phosphorus release contribution in fish production ponds. However, more studies concerning the real contribution of these biological groups are needed, since either tubificid worms or chironomids larvae might also decrease phosphorus release from sludge to overlaying water due to their bioturbation capacity. As a result of bioturbation by benthic fauna, redox potential of surface sediments might be higher than expected (Revsbech *et al.*, 1980), resulting in a stronger P binding capacity of those sediments that might react to phosphorus according to the redox status of the sediment (Davis, 1974; Graneli, 1979; Puigagut *et al.*, 2008). As a result, there may not always be a net P release at the sediment water interface by the presence of benthic fauna and the potential contribution to P release might differ greatly from the observed P release.

4.4.3 Pond operational strategies to reduce the potential contribution of fauna to P release

In this study CS presented about 48% less of the flagellates abundance, 55% of ciliates abundance and up to 100% of rotifers, worms and chironomids abundance. Due to lower abundances of micro and mesofauna, the potential contribution for P release in the CS might be also lower. Specifically, if we sum the whole P that might be potentially released in one day by micro and mesofaunal populations in CS it accounts for only the 0.2% of that P that might be released by micro and mesofaunal populations in the BS. Therefore, these results suggest that periodical removal of sludge from the pond might reduce to a great extent the potential contribution of P release by micro and mesofauna. Frequent removal of the pond sludge is a strategy that several authors have already proposed to reduce sludge hydrolysis and P release (Colt, 1983; Cao *et al.*, 2007). Colt (1983) pointed out that periodic draining of ponds

can significantly contribute to in-pond water quality management. Likewise, dredging might regulate water column composition by reducing P bioavailability at the bottom of eutrophic lakes (Cao *et al.*, 2007). Therefore, not only can a weekly sludge removal reduce sludge hydrolysis, but it can also reduce micro and mesofauna abundance and therefore reduce their potential contribution to P release.

4.5 Conclusion

Microfaunal and mesofaunal populations are more important in sludge than in supernatant water of a pond devoted to trout production. Flagellates is the most important group in terms of abundance either in sludge or water. However, when present, chironomid larvae account for the greatest biomass of all those groups studied.

Chironomids larvae are the most important group out of those studied concerning the phosphorus release capacity of the sludge in a pond devoted to trout production. Due to they higher capacity of phosphorus release and high biomasses, chironomids larvae are potentially capable of mobilizing the whole content of phosphorus in pond sludge within less than one day.

Abundances and biomasses of those microfaunal and mesofaunal groups studied are of greatly lower when the sludge considered is one week-old sludge. Thefore, periodical removal of the sludge accumulated within the pond may help to reduce the potential capacity of phosphorus release by micro and mesofauna.

4.6 Acknowledgements

This study was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), Research and Development Association in Continental Aquaculture (SORDAC), the Quebec Aquaculture Network (RAQ), Arcelor Mittal and MultiServ. Serge Parent is gratefully acknowledged for his valuable comments on this manuscript. We thank Serge Gilbert and Brigitte Martel for providing access to their fish farm. Denis Bouchard, Mélanie Bolduc, Sébastien Houle and Caroline St-Pierre are also thanked for technical support for laboratory analysis and field sampling.

4.7 References

- AAQ, MAPAQ, MDDEP (2003). *Stratégie de développement durable de l'aquaculture en eau douce du Québec (A strategy for the sustainable development of freshwater aquaculture in Quebec)*. Association des aquaculteurs du Québec avec la participation du Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec, du Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs. Québec, Canada. p. 25.
- Ackefors, H., Enell, M. (1994). The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in Nordic countries. *Journal of Applied Ichthyology*, 10:225–241.
- Alabaster, J. S. (1982). Survey of fish farm effluents in some EIFAC countries (p. 5-15). In. J. S. Ayabaster (ed.). *Report of the EIFAC workshop on fish farm effluents* (Silkeborg, Denmark). WAC Technical Paper 41. 166 p.

Andersson, G., Granéli, W., Stenson, J. (1988). The influence of animals on phosphorus cycling in lake ecosystems. *Hydrobiologia*, 170:267-284.

APHA, AWWA, WEF. (2005). *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater: Centennial Edition* (21^e éd.). Washington: American Public Health Association (APHA).

Bentzen, E., Millard, E. S., Taylor, W. D. (1992). The importance of dissolved organic phosphorus to phosphorus uptake by limnetic plankton. *Limnology and Oceanography*, 37:217–231.

Bergheim, A., Brinker, A. (2003). Effluent treatment for flow through systems and European environmental regulations. *Aquacultural Engineering*, 27:61–77.

Boaventura, R., Pedro, A. M., Coimbra, J., Lencastre, E. (1997). trout farm effluents: characterization and impact on the receiving streams. *Environmental Pollution*, 95:379-387.

Bloem, J., Albert, C., Bär-Gillissen, M. J. B., Berman, T., Cappenberg, T. E. (1989). Nutrient cycling through phytoplankton, bacteria and protozoa in selectively filtered lake Vechten water. *Journal of Plankton Research*, 11:119-131.

Boström, U. (1988). *Ecology of earthworms in arable land. Population dynamics and activity in four cropping systems*. Report 34, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Cao, X., Song, C., Li, Q., Zhou, Y. (2007). Dredging effects on P status and phytoplankton density and composition during winter and spring in lake Taihu, China. *Hydrobiologia*, 581:287-295.

Carlton, R. G., Wetzel, R. G. (1988). Phosphorus flux from lake sediments: Effects of epipelagic algal oxygen production. *Limnology and Oceanography*, 33:562–570.

Cho, C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.R., Yoshida, H.K. (1994). Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture*, 124:293–305.

Colt, J. (1983). Pond culture Pratices, (p.187-194). In J. E. Lannan, R.O.Smitherman and G. Tchobanoglous (Eds). Principles and Practices of Pond aquaculture: A state of Art Review. *Pond Dynamics/Aquaculture* CRSP, Oregon State University, Newport, Oregon. 240 p.

Cripps, S. J., Bergheim, A. (2000). Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering*, 22:33-56.

Cromey, C.J., Nickell, T.D., Black, K.D. (2002). DEPOMOD – modeling the deposition and biological effects of waste solids from marine cage farms. *Aquaculture* 214, 211-239.

Dalsgaard, T., Krause-Jensen, D. (2006). Monitoring nutrient release from fish farms with macroalgal and phytoplankton bioassays. *Aquaculture* 256:302–310

Davis, R. B. (1974). Tubificids alter profiles of redox potential and pH in profundal lake sediment. *Limnology and Oceanography*, 19: 342-346.

Delgado, O., Ruiz, J., Pérez, M., Romero, J., Ballesteros, E. (1999). Effects of fish farming on seagrass (*Posidonia oceanica*) in a Mediterranean bay: seagrass decline after organic loading cessation. *Oceanologica Acta*, 22:109–117.

Dolan, J. R. (1996). Phosphorus and ammonia excretion by planktonic protists. *Marine Geology*, 139:109-122.

Ejsmont-Karabin J. (1983). Ammonia nitrogen and inorganic phosphorus excretion by the planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, 104:231-236.

Edler, L. (1979). *Recommendations on methods for marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and chlorophyll*. Working Group 9, The Baltic Marine Biologists, publication No. 5, p.38.

Elsas, J. D., Trevors, J. T., Wellington, E. M. H. (1997). *Modern soil biology*. 2nd Edition. CRC Press. Marcel Dekker Publishing. New York, USA, p. 713.

Felip, M., Catalan, J. (2000). The relationship between phytoplankton biovolume and chlorophyll in a deep oligotrophic lake: decoupling in their spatial and temporal maxima. *Journal of Plankton Research*, 22:91-106.

Foy, R. H., Rosell, R. (1991). Fractionation of phosphorus and nitrogen loadings from a Northern Ireland fish farm. *Aquaculture*, 96:31-42.

Gallepp, G. W. (1979). Influence on phosphorus release in sediment-water microcosms. *Ecological Society of America*, 60:547-556.

Gardner, W. S., Nalepa, T. F., Quigley, M. A., Malczyk, J. M. (1981). Release of phosphorus by certain benthic invertebrates. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38:978-981.

Golterman, H. L. (1998). The distribution of phosphate over ironbound and calcium bound phosphate in stratified sediments. *Hydrobiologia*, 364:75–81

Graneli, W. (1979). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the exchange of dissolved substances between sediment and water. *Archiv für Hydrobiologie*, 87:385-403.

Gray, J.S., Wu, R. S. S., Or, Y. Y. (2002). Effects of hypoxia and organic enrichment on the coastal marine environment. *Marine Ecology-Progress Series*, 238:249-279.

Jeppesen, E., Sondergaard, M., Jensen, J. P., Havens, K. E., Anneville, O., Carvalho, L., Coveney, M. F., Deneke, r., Dokulil M. T., Foy, B., Gerdeaux, D., Hampton, S. E., Hilt, S., Kangur, K., Köhler, J., Lammens, E. H. H. R., Lauridsen, T. L., Manca, M., Miracle, M. R., Moss, B., Nõges, P., Persson, G., Phillips, G., Portielje, R., Romo, S., Schelske, C. L., Straile, D., Tatrai, I., Willén, E., Winder, M. (2005). Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology*, 50:1747-1771.

Johannes, R. E. (1964). Phosphorus excretion and body size in marine animals: microzooplankton and nutrient regeneration. *Science*, 146:923-924.

Lampadariou, N., Akoumianaki, I., Karakassis, I. (2008). Use of the size fractionation of the macrobenthic biomass for the rapid assessment of benthic organic enrichment. *Ecological indicators*, 8:729-742.

Laybourn J., Finlay, B. (1976). Respiratory energy losses related to cell weight and temperature in ciliated protozoa. *Oecologia*, 24:349-355

Lehman, J. T. (1980). Release and cycling of nutrients between planktonic algae and herbivores. *Limnology Oceanography*, 25:620-632.

MAPAQ. (2009). *Aquaculture en eau douce (Freshwater aquaculture)*. Dernière mise à jour : 17 juillet 2009. Tiré de :

<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche/Profil/pecheaquaculture/aquaculture/>

McDowell, R. W., Sharpley, A. N., Kleinman, P. J. A., Gburek, W.J. (2001). Hydrological and source management of pollutants at the soil profile scale. In: P.M. Haygarth and S.C. Jarvis (ed.) Agriculture, hydrology and water quality. CAB Int. Press, Oxon, England (in press).

McGechan, M. B. (2002). Effects of timing of slurry spreading on leaching of soluble and particulate inorganic phosphorus explored using the MACRO model. *Biosystems Engineering*, 83:237–252.

Odum, E.P. (1985). Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience* 35:419–422.

Pauli, H. R. (1989). A new method to estimate individual dry weights of rotifers. *Hydrobiologia*, 186/187:355-361.

Pearson, T.H., Rosenberg, R. (1978). Macrofaunal succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 16:229–311.

Postolache, C., Risnoveanu, G., Vadineanu, A. (2006). Nitrogen and phosphorous excretion rates by tubificids from the Prahova River (Romania). *Hydrobiologia*, 553:121–127

Puigagut, J., de Boutray, M. L., Chazarenc, F., Comeau, Y. (2009). Influence of tubificid worms on phosphorus dynamics between sediment and overlaying water in a settling pond. *Wetland Pollutant Dynamics and Control Symposium*. September 20-24th, Barcelona, Spain.

Reddy, K. R., Kadlec, R. H., Flaig, E., Gale, P. M. (1999). Phosphorus Retention in Streams and Wetlands: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 29:83-146.

Revbesch, N. P., Sørensen, J., Blackburn, T.H., Lomholt, J. P. (1980). Distribution of oxygen in marine sediments measured with microelectrodes. *Limnology and Oceanography*, 25:403-411

Sendacz, S. (1984). A study of the zooplankton community of Billings Reservoir-Sao Paulo. *Hydrobiologia*, 113:121-127

Seo, J., Boyd, C. E. (2001). Dry-tilling of pond bottoms and calcium sulfate treatment for water quality improvement. *Journal of the World Aquaculture Society* 32:257-268.

Sherr, B. F., Sherr, B. E., Berman, T. (1983). Grazing, growth and ammonium excretion rates of a heterotrophic microflagellate fed with four species of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 45:1196-1201

Taylor, W. D. (1984). Phosphorus flux through epilimnetic zooplankton from Lake Ontario: relationship with body size and significance to phytoplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41:1702-1712.

True, B., Johnson, W., Chen, S. (2004). Reducing phosphorus discharge from flow-through aquaculture I: facility and effluent characterization. *Aquacultural Engineering*, 32:129–144.

Vanreusel, A., Clough, Jacobsen, K., Ambrose, W., Jivaluk, J., Ryheul, V., Herman, R., Vincx, M. (2000). Meiobenthos of the central Arctic Ocean with special emphasis on the nematode community structure. *Deep-Sea Research I*, 47:1855-1879

Warwick, R. M. (1984). Species size distribution in marine benthic communities. *Oecologia* 61: 32-41.

Warwick, R. M., Gee, J. M. (1984). Community structure of estuarine meiobenthos. *Marine Ecology Progress Series*, 18:97-111.

CHAPITRE 5

RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

« On obtient des résultats en exploitant des possibilités et non en résolvant des problèmes ». Peter Drucker, XX^{ème} siècle

Les principaux résultats de cette étude ont été présentés au Chapitre 4. La présente section introduit brièvement des résultats complémentaires en réponse à l'objectif 1 et aux hypothèses 1a., 1b., 1d. et 1e. Les résultats exposent l'influence des divers paramètres de l'étude (TRH, saison, âge des boues, nature du fond, absence de poissons) sur l'abondance des microorganismes et leur effet potentiel sur le relargage de phosphore. Le tableau 5.1.1 résume les différentes comparaisons et les sous-chapitres correspondant à chacune des comparaisons.

Tableau 5.1 : Récapitulatif des comparaisons entre chaque bassin

Présence d'un cône	Présence de poisson	Caractéristiques des bassins			Comparaison				
		Taille	Fond	Bassin	TRH	Saison	Âge des boues	Type de fond	Présence de poisson
Non	Oui	Petit	Non bétonné	8	x	x	x	x	x
Oui	Oui	Petit	Non bétonné	8		x	x		
Non	Oui	Petit	Bétonné	6		x			x
Non	Non	Petit	Non bétonné	Sed.		x			
Non	Oui	Grand	Non bétonné	12	x	x			x
Chapitre correspondant					5,2	5,3	5,4	5,5	5,6

5.1 Abondance et relargage de phosphore

L'abondance des organismes dans la boue de chaque étang et le relargage potentiel de phosphore sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau 5.2 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 8

Organismes	Abondance moyenne indiv/kg boue	Taux d'excrétion maximal des o-PO ₄ µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Relargage potentiel de P mg P kg boue ⁻¹ j ⁻¹	Mobilisation potentielle de P % / j	Temps requis pour la mobilisation du P jours
Flagellés	2.2E+07	0.000006 ¹	3.2	1	90
Ciliés	1.6E+05	0.000005 ¹	0.02	0.007	15000
Rotifères	1.7E+04	0.004 ²	1.7	0.6	170
Chironomides	4.0E+03	5.4 ³	520	180	0.6
<i>Tubifex sp.</i>	6.3E+02	0.004 ⁴	0.07	0.02	4300

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (donnée orginale en µg P masse sèche⁻¹ h⁻¹)
Concentration moyenne de P dans la boue de l'étang 8: 290 mg P/kg boue

Tableau 5.3 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 12

Tableau 5.2 Abondance des microorganismes, taux d'excrétion du P, relargage potentiel de P, mobilisation du P et temps requis pour sa mobilisation dans la boue de l'étang 12

Organismes	Abondance moyenne indiv/kg boue	Taux d'excrétion maximal des o-PO ₄ µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Relargage potentiel de P mg P kg boue ⁻¹ j ⁻¹	Mobilisation potentielle de P % / j	Temps requis pour la mobilisation du P jours	Augmentation potentielle de relargage de P %
Flagellés	2.6E+07	0.000006 ¹	3.7	0.7	140	16
Ciliés	1.3E+06	0.000005 ¹	0.2	0.03	3400	690
Rotifères	2.8E+05	0.004 ²	28	5	19	1600
Chironomides	4.3E+02	5.4 ³	55	11	9	-90
<i>Tubifex sp.</i>	6.3E+03	0.004 ⁴	0.7	0.1	790	890

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (donnée orginale en µg P masse sèche⁻¹ h⁻¹)
Concentration moyenne de P dans la boue de l'étang 12: 530 mg P/kg boue

Tableau 5.4 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue du cône de l'étang 8

Organismes	Abondance moyenne indiv/kg boue	Taux d'excrétion maximal des o-PO ₄ µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Relargage potentiel de P mg P kg boue ⁻¹ j ⁻¹	Mobilisation potentielle de P % / j	Temps requis pour la mobilisation du P jours	Augmentation potentielle de relargage de P %
Flagellés	1.3E+07	0.000006 ¹	1.9	0.3	390	-40
Ciliés	8.1E+04	0.000005 ¹	0.01	0.001	75000	-50
Rotifères	0	0.004 ²	0	0	-	-100
Chironomides	0	5.4 ³	0	0	-	-100
<i>Tubifex sp.</i>	0	0.004 ⁴	0	0	-	-100

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (donnée orginale en µg P masse sèche⁻¹ h⁻¹)

Concentration moyenne de P dans la boue du cône de l'étang 8: 750 mg P/kg boue

Tableau 5.5 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang 6

Organismes	Abondance moyenne indiv/kg boue	Taux d'excrétion maximal des o-PO ₄ µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Relargage potentiel de P mg P kg boue ⁻¹ j ⁻¹	Mobilisation potentielle de P % / j	Temps requis pour la mobilisation du P jours	Augmentation potentielle de relargage de P %
Flagellés	2.12E+07	0.000006 ¹	3.1	0.4	260	-4
Ciliés	8.35E+05	0.000005 ¹	0.1	0.01	7900	420
Rotifères	2.12E+05	0.004 ²	20	2	40	1080
Chironomides	2.04E+02	5.4 ³	2	0.3	380	-100
<i>Tubifex sp.</i>	1.61E+01	0.004 ⁴	0.002	0.0002	470000	-97

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (donnée orginale en µg P masse sèche⁻¹ h⁻¹)

Concentration moyenne de P dans la boue de l'étang 6: 800 mg P/kg boue

Tableau 5.6 : Abondance des microorganismes et relargage potentiel de phosphore dans la boue de l'étang de sédimentation

Organismes	Abondance moyenne indiv/kg boue	Taux d'excrétion maximal des o-PO ₄ µg P indiv ⁻¹ h ⁻¹	Relargage potentiel de P mg P kg boue ⁻¹ j ⁻¹	Mobilisation potentielle de P % / j	Temps requis pour la mobilisation du P jours	Augmentation potentielle de relargage de P %
Flagellés	2.8E+07	0.000006 ¹	4.0	0.004	24000	25
Ciliés	3.6E+05	0.000005 ¹	0.04	0.00004	2000000	120
Rotifères	1.5E+05	0.004 ²	15	0.02	6500	800
Chironomides	4.4E+03	5.4 ³	570	0.6	170	10
<i>Tubifex sp.</i>	1.2E+03	0.004 ⁴	0.1	0.0001	770000	90

¹Taylor, 1984 ²Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004 ³Gallepp, 1984 ⁴Postolache *et al.*, 2006 (donnée orginale en µg P masse sèche⁻¹ h⁻¹)

Concentration moyenne de P dans la boue de l'étang 0: 880 mg P/kg boue

5.2 Influence du TRH

5.2.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang 12

Les flagellés, les ciliés, les rotifères et les chironomides sont plus abondants dans la boue du bassin 12 que dans celle du bassin 8. Les vers de type *Tubifex sp.* constituent le groupe le moins abondant du bassin 8. Dans le bassin 12 ce sont les chironomides qui sont les microorganismes les moins abondants.

Les taux de minéralisation du P par les microorganismes (i.e. taux d'excrétion des d'orthophosphates) des tableaux 5.2 à 5.6 n'ont pas été calculés. Les résultats présentés proviennent de diverses études (Taylor, 1984; Ejsmont-Karabin *et al.*, 2004; Gallepp, 1984; Postolache *et al.*, 2006) et servent à calculer le relargage potentiel de P. Le taux de minéralisation du P est maximal chez les chironomides ($5,4 \mu\text{g P indiv}^{-1} \text{ h}^{-1}$) et minimal chez les ciliés ($0,000005 \mu\text{g P indiv}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Dans le bassin 8, tout comme dans le bassin 12, le relargage potentiel de P est maximal chez les chironomides (520 et 55 mg P/kg boue · jour) et minimal chez les ciliés (0,02 et 0,2 mg P/kg boue · jour). Toutefois, il est dix fois supérieur pour les chironomides du bassin 8 et 10 fois inférieur pour les ciliés du bassin 8. Les rotifères du bassin du 12 ont, quant à eux, un relargage potentiel assez élevé (28 mg P/kg boue · jour).

Le potentiel de mobilisation – où le mot mobilisation est employé comme synonyme de minéralisation, puisque la minéralisation du P en o-PO₄ contribue à lui donner son caractère mobile et biodisponible - du P est un ratio entre le P potentiellement relargué par les microorganismes à chaque jour et le P présent dans les boues. Celui-

ci est exprimé en % / j. Dans le bassin 8, les ciliés ne minéralisent que 0,007% du phosphore total des boues du bassin (290 mg P/kg boue) à chaque jour. Le temps requis pour mobiliser le P (i.e. temps hypothétique qu'il faudrait à un groupe d'organismes pour minéraliser tout le P accumulé dans la boue, s'il n'y avait aucun autre processus en même temps i.e. précipitation chimique, séquestration avec le Fe, solubilisation, etc.) est par conséquent très élevé (15 000 jours). Les ciliés, quant à eux, ont une mobilisation potentielle de 180% par jour ce qui veut dire qu'ils peuvent potentiellement minéraliser tout le P des boues en moins d'une journée (0,6 jour). Dans le bassin 12, ce sont les oligochaetes (*Tubifex sp.*) qui ont le plus bas pourcentage quotidien de mobilisation du P (0,1%/j) et les chironomides le plus élevé (11%/j). Les tableaux 5.2 et 5.3 permettent également de mettre en évidence qu'il y une augmentation potentielle de relargage P par la majorité des microorganismes du bassin 12, par rapport à ceux du bassin 8. En effet, pour tous les groupes d'organismes étudiés, à part les chironomides, la différence de relargage potentielle de P entre le bassin 8 et le bassin 12 est fortement positive.

5.2.2 Communauté faunistique et TRH

Tel que présenté dans la partie méthodologie, la majeure différence entre le bassin 8 et le bassin 12 réside dans la taille de ceux-ci. En effet, le bassin 12 est plus de 16 fois supérieur, en volume, au bassin 8. En supposant que les débits sont relativement similaires, il est alors possible d'admettre que le TRH est plus grand dans le bassin 12 que dans le bassin 8.

Le TRH plus élevé du bassin 12 semble avoir permis une augmentation quant à l'abondance des microorganismes dans ce bassin comparativement au bassin 8. En effet, les flagellés, les ciliés, les rotifères et les chironomides sont plus nombreux dans le bassin 12. Cela viendrait valider l'hypothèse 1a. Toutefois, la quantité de P

est également plus importante dans le bassin 12 que dans le bassin 8 (530 et 290 mg P/kg boue, respectivement) puis que le bassin 12 est, d'une part situé en aval de la plupart des autres bassins de production - il reçoit donc un affluent déjà chargé en N et P – et d'autre part, sa propre production est plus importante que dans les autres bassins puisque son volume est plus grand - il y a donc plus de P qui entre avec la moulée. Or, les protozoaires, et les métazoaires étudiés sont reconnus pour être des organismes opportunistes dont le développement est favorisé par une augmentation des concentrations en nutriments. L'augmentation d'abondance de la microfaune et de la mésofaune n'est donc pas uniquement expliquée par le TRIH plus élevé.

5.3 Influence de la saison

Les contraintes rencontrées lors des sorties terrain ont empêché la prise d'échantillons pendant certaines campagnes. Les bassins n'ont donc pas tous été échantillonnés au même moment et la durée des campagnes d'échantillonnage est variable d'un bassin à l'autre. Il n'est donc pas possible d'effectuer des comparaisons intra-bassin ou inter-bassin pour vérifier l'influence de la saison.

5.4 Influence de l'âge des boues

5.4.1 Comparaison entre les boues du fond et celles du cône de l'étang 8

Cette comparaison est détaillée dans le chapitre 4. La présente sous-section met en évidence des résultats complémentaires obtenus dans l'eau du bassin 8.

Les principales caractéristiques biologiques et physico-chimiques de l'eau et des boues de l'étang 8 sont présentées dans les tableaux 5.2, 5.4 et 5.7.

Tableau 5.7 : Caractéristiques biologiques et physico-chimiques dans l'eau de l'étang 8

Organismes (n=4)	Abondance indiv/mL	Biomasse µg/L
Phytoplancton (Chl a)	-	1.2 ± 1
Flagellés	922 ± 532	1078 ± 622
Ciliés	4 ± 8	18 ± 31
Nématodes	0	0
Rotifères	0	0
<i>Tubifex sp.</i>	0	0
Chironomides	0	0
NT (mg N/L)	2200 ± 1100	
PT (mg P/L)	170 ± 30	
o-PO ₄ (mg P/L)	0,01 ± 0,03	
MT (mg/L)	350 ± 50	
MIT (mg/L)	280 ± 30	
T (°C)	12 ± 1,6	
Fe	3300 ± 1600	
Al	2700 ± 1200	

Les flagellés semblent dominer, en abondance et en biomasse, l'eau du bassin 8. Les autres organismes étudiés sont peu présents. Les concentrations d'azote et de phosphore ressemblent plus aux concentrations de N et de P d'un lac eutrophe (P:10-30 µg/L et N:500-1100 µg/L) qu'à celles d'un lac oligotrophe (P: 5-10 µg/L et N: 250-660 µg/L). Toutefois, le phytoplancton, représenté par la valeur de chlorophylle *a*, ne suit pas cette tendance. En effet, la concentration de chlorophylle *a* ressemble plus à celle d'un lac oligotrophe (Chl a : <4 µg/L) qu'à celle d'un lac eutrophe (Chl a: > 10 µg/L). On remarque dans le tableau 5.7 que la concentration d'orthophosphates dans l'eau est très faible (0,01 mg P/L). Cela pourrait expliquer les faibles valeurs de phytoplancton. En effet, le phytoplancton assimile le phosphore minéral pour sa croissance. D'ailleurs, dans un lac naturel les valeurs de chl a suivent généralement la même tendance que les valeurs d'orthophosphates (Smith, 1990).

Étant donné que le phytoplancton est un organisme qui accumule le phosphore au sein de ses tissus, le potentiel de rétention du P est faible dans l'eau du bassin 8.

La faible valeur d'o-PO₄ pourrait, quant à elle, être expliquée par la présence de fer et d'aluminium en quantité importante (3300 et 2700 mg/L, respectivement) car ces ions ont tendance à favoriser la sorption du P. Ils proviennent de la mise en suspension d'une importante quantité d'argile dans le bassin. En effet, la mise en place du cône dans le bassin 8 a nécessité l'excavation d'un certain volume de sol. Une partie de ce sol a ensuite servi à remblayer les alentours du cône. Or ce sol devenu meuble a facilement été mis en suspension avec la turbulence de l'eau créée par le mouvement de poissons et l'utilisation d'aérateurs de surface.

Dans les boues du bassin 8, les flagellés dominent également en abondance. De façon générale, les microorganismes sont plus abondants dans les boues que dans l'eau. Le potentiel de relargage de P sera donc beaucoup plus important au niveau des boues.

5.4.2 Communauté faunistique et âge des boues

L'influence de l'âge des boues sur l'abondance et la biomasse des microorganismes et leurs impacts sur les flux de P est détaillée dans le chapitre 4.

5.5 Influence du type de fond

5.5.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang 6

Les flagellés, les vers et les chironomides sont moins abondants dans le bassin 6 que dans le bassin 8. Dans le bassin 8, les chironomides constituent le groupe le moins abondant, tandis que dans le bassin 6 ce sont les *Tubifex sp.* les moins nombreux.

Dans le bassin 8, le relargage potentiel de phosphore est très important pour les chironomides ($520 \text{ mg P kg boue}^{-1} \text{ j}^{-1}$). Dans le bassin 6 le relargage potentiel de P est important pour les rotifères ($20 \text{ mg P kg boue}^{-1} \text{ j}^{-1}$) et pour les chironomides ($2 \text{ mg P kg boue}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Toutefois le potentiel de relargage maximum du bassin 6, tous groupes confondus, est plus de 25 fois inférieur à celui du bassin 8. Cela s'explique par le fait que les chironomides sont beaucoup moins présents dans le bassin 6. Leur abondance étant diminuée, cela contribue à baisser le relargage potentiel de ce groupe. Les rotifères, quant à eux, ont fortement proliférés dans le bassin 6, d'où le fort taux de relargage potentiel de P de ce groupe d'organismes.

La mobilisation potentielle de P est importante pour les rotifères (2% par jour), et très faible pour tous les autres groupes (entre 0,3 et 0,0002 % / j). Dans le bassin 6, la mobilisation potentielle de 2% du PT des boues, par jour, pour les rotifères, leur permet de potentiellement minéraliser l'ensemble du P des boues en 40 jours. Même si les ciliés et les rotifères sont plus abondants dans le bassin 6 que dans le bassin 8, la quantité de P accumulé dans la boue étant plus importante dans le bassin 6 (800 mg P/kg boue vs 290 mg P/kg boue), la minéralisation du P par les ciliés et les rotifères reste plus lente dans ce bassin comparativement au bassin 8. Le temps requis pour minéraliser tout le P accumulé dans la boue du bassin varie entre 40 jours pour les rotifères et 470 000 jours pour les *Tubifex sp.*

Par rapport au bassin 8, il y a, dans le bassin 6, une augmentation de relargage potentiel de P pour les ciliés et les rotifères, car ces groupes sont plus abondants.

5.5.2 Communauté faunistique et nature du fond

Tel que présenté dans la partie méthodologie, la majeure différence entre le bassin 8 et le bassin 12 réside dans la nature du fond. Le bassin 8 est un étang en terre, tandis que le bassin 6 est un étang bétonné. L'abondance des microorganismes est généralement plus faible dans le bassin 6 que dans le bassin 8. Toutefois, la diversité des organismes demeure constante entre ces deux bassins puisque tous les groupes biologiques de l'étude étaient présents à la fois dans le bassin 8 et le bassin 6. Il n'est donc pas possible de répondre à l'hypothèse 1d voulant qu'un bassin en terre présente une plus grande diversification des microorganismes comparativement à un bassin bétonné. De plus, même si la plupart des microorganismes sont moins nombreux, le rôle potentiel de relargage de P des chironomides et des rotifères reste important, d'autant plus que le fond bétonné ne permet pas la sorption du phosphore.

5.6 Effet de la présence des poissons

5.6.1 Comparaison des résultats entre l'étang 8 et l'étang de sédimentation

Les flagellés, les ciliés, les rotifères, les vers et les chironomides sont plus abondants dans le bassin de sédimentation que dans le bassin 8. Le relargage potentiel de P est également plus élevé pour tous les groupes étudiés. Toutefois, la mobilisation

potentielle du P semble moins importante pour l'ensemble des microorganismes du bassin de sédimentation. En effet, la concentration de PT élevée, réduit le % de PT qui peut être minéralisé à chaque jour par les différents groupes. Le temps nécessaire pour minéraliser tout le phosphore reste donc élevé et varie entre 170 jours pour les chironomides et 2 000 000 jours pour les ciliés.

5.6.2 Communauté faunistique et présence de poissons

Le bassin de sédimentation présente une augmentation des organismes zooplanctoniques. Cette tendance avait été suggérée dans l'hypothèse 1e. Toutefois, il n'est pas possible de dire avec certitude que c'est bien l'absence de poisson qui favorise l'augmentation des microorganismes. En effet, le bassin de sédimentation présente une charge en P plus élevée que le bassin 8 : 880 mg P/kg boue comparativement à 290 mg P/kg boue. Or, les protozoaires et les rotifères sont des organismes opportunistes qui sont favorisés par des conditions stressantes, une accumulation de MO et de nutriments (Lamparidou et al., 2008). Il est donc probable que l'absence de poisson ne soit pas le seul facteur ayant contribué au développement abondant de ces organismes.

5.7 Discussion générale

Les microorganismes jouent un rôle important dans la régulation des concentrations de P (Reddy et al., 1999). Les résultats présentés permettent de constater que les organismes étudiés peuvent avoir un rôle potentiel de relargage de P plus ou moins important selon leur abondance dans le système. Généralement, plus les organismes sont nombreux, plus leur rôle quant au relargage de P est important, d'où la nécessité

de réduire leur prolifération, notamment par l'enlèvement périodique des boues dans une pisciculture. Les organismes supérieurs tel que les chironomides peuvent avoir un rôle potentiel très important, même s'ils sont relativement moins nombreux que les protozoaires car leur taux d'excrétion des orthophosphates est plus important que pour ces derniers. D'ailleurs, Gallepp (1979) a établi une relation directe entre le relargage de P des sédiments et le nombre de larves de chironomides présentes dans les sédiments. Cette conclusion a également été appuyée par Gardner *et al.* (1981) qui a mesuré le taux d'excrétion des chironomides et des oligochaetes (vers). Cependant le rôle important que peuvent jouer les chironomides dans le relargage du P reste un rôle « potentiel ». En effet, la bioturbation par les oligochaetes et les chironomides, favorise l'oxygénation des boues à la surface des sédiments et augmente le potentiel redox, causant ainsi une séquestration des phosphates et une sorption par le sol (Davis *et al.*, 1974). Il n'y a donc pas toujours un relargage net de P à la surface des boues malgré la présence d'organismes ayant un fort potentiel de minéralisation du P. La nature du sol et les conditions physico-chimiques à l'interface eau-boue sont extrêmement importantes pour établir si l'environnement agit comme un puits ou une source de P.

CHAPITRE 6

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

« *On ne connaît que les chose que l'on apprivoise* ».

Antoine de St-Exupéry, XX^{ème} siècle

6.1 Conclusions

Cette étude sur l'influence de la micro et mésofaune aquatiques sur les flux de phosphore au sein d'élevages piscicoles en étangs, a permis de tirer les conclusions suivantes:

- Le potentiel de rétention du P dans l'eau des bassins étudiés est faible car le phytoplancton est peu abondant
- L'effet des microorganismes sur le relargage du P est beaucoup moins important dans l'eau que dans les boues car les microorganismes sont beaucoup plus concentrés dans les boues
- Il y a une biomasse + diversifiée et plus abondante dans les boues du bassin 8 (boues vieilles) comparativement aux boues du cône (boues jeunes)
- Dans l'eau, les flagellés semblent être le groupe ayant un potentiel de relargage de P le plus élevé.
- Dans les boues les chironomides et les rotifères ont un potentiel de relargage plus élevé que les autres groupes car ils ont une abondance et un taux d'excrétion des o-PO₄ importants.
- Les valeurs de relargage potentiel de phosphore dans les boues semblent être très importantes comparativement à ce qui est mesuré

- Il semblerait y avoir un équilibre entre le P qui entre dans le sol et le P qui est relâché vers la colonne d'eau

6.2 Recommandations

Pour mieux comprendre le rôle de la micro et de la mésafaune aquatiques sur les flux de phosphore en étangs piscicoles, des travaux subséquents pourraient être réalisés sur les aspects suivants:

- La contribution potentielle des rotifères au relargage du phosphore en milieu contrôlé
- La contribution potentielle du phytoplancton à la rétention du phosphore en milieu contrôlé
- La caractérisation de la biomasse bactérienne sur le terrain et son rôle dans les flux de phosphore
- La caractérisation d'autres espèces qui peuvent potentiellement avoir un effet sur les flux de P tels que les daphnies et les bivalves.

Les recommandations pratiques que pourraient appliquer les pisciculteurs à la lumière des travaux de ce projet seraient les suivantes:

- L'enlèvement périodique des boues afin d'éviter le développement d'organismes supérieurs (chironomides) ayant un fort potentiel de minéralisation du phosphore
- L'utilisation de bassins en terre dans des sols ayant de fortes concentrations en Ca, Al, Fe ou Mg afin de favoriser la sorption du phosphore dans les sédiments.

RÉFÉRENCES

- AAQ, MAPAQ, MDDEP (2003). *Stratégie de développement durable de l'aquaculture en eau douce du Québec*. Association des aquaculteurs du Québec avec la participation du Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation, du Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs. Québec, Canada. Tiré de:
http://www.mapaq.gouv.qc.ca/NR/rdonlyres/1D380D7B-87C7-477E-9A85-84A0547B1072/0/straddaq_table_filiere.pdf
- APHA, AWWA, WEF. (2005). *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater: Centennial Edition* (21^e éd.). Washington: American Public Health Association (APHA).
- Barrow, N. J. (1983). On the reversibility of phosphate sorption by soils. *Journal of Soil Science*, 34:751–758.
- Beeby, A. (1995). *Applying ecology*. Chapman and Hall, London.
- Bentzen, E., Millard, E. S., Taylor, W. D. (1992). The importance of dissolved organic phosphorus to phosphorus uptake by limnetic plankton. *Limnology and Oceanography*, 37:217–231.
- Berkheiser, V. E., Street, J. J., Rao, P. S. C., Yuan, T. L. (1980). Partitioning of inorganic orthophosphate in soil-water systems. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 179–224.

Boström, B., Jansson, M., Forsberg, C. (1982). Phosphorus release from lake sediments. *Archiv für Hydrobiologie*, 18:5–59.

Bourque, P.A. (2009). *Le cycle du Phosphore*. Page personnelle, département de géologie et génie géologique, Université Laval, Québec, Canada. Consultée le 9 avril 2009. Tiré de:

www.ggl.ulaval.ca/personnel/bourque/s3/cycle.phosphore.html

Boyd, C. E., Lim, C., Quieroz, J., Salie, K., de Wet, L., McNevin, A. (2001). *Best management practices for responsible aquaculture*. Auburn University, Alabama, USA. 47 p.

Brannon, C. A. and L. E. Sommers. (1985). Preparation and characterization of model humic polymers containing organic phosphorus. *Soil Biology and Biochemistry* 17:213–219.

Brinker, A., Koppe, W., and R. Rösch. (2005). Optimised effluent treatment by stabilised trout faeces. *Aquaculture*, 249(1-4), 125-144.

Brinkherst, R. O., Chua, K. E., Kaushik, N. K. (1972). Interspecific interactions and selective feeding by tubificid oligochaetes. *Limnology and Oceanography*, 17:122-133.

Carlton, R. G., Wetzel, R. G. (1988). Phosphorus flux from lake sediments: Effects of epipelagic algal oxygen production. *Limnology and Oceanography*, 33:562–570.

Combs, S., Hoskins, B., Jarman, J., Kovar, J., Watson, M., Wolf, A., et al. (2003). *Recommended Methods of Manure Analysis*. Madison: John Peters (Eds), University of Wisconsin-Madison.

- Cripps, S. J., and Bergheim, A. (2000). Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural Engineering*, 22(1), 33-56.
- D'Angelo, E. M., Reddy, K. R. (1994), a. Diagenesis of organic matter in a wetland receiving hypereutrophic lake water. I. Distribution of dissolved nutrients in the soil and water column. *Journal of Environmental Quality*, 23:925-936.
- D'Angelo, E. M., Reddy, K. R. (1994), b. Diagenesis of organic matter in a wetland receiving hypereutrophic lake water. II. Role of inorganic electron acceptors on nutrient release. *Journal of Environmental Quality*, 23:937-943
- Davelaar, D. (1993). Ecological significance of bacterial polyphosphate metabolism in sediments. *Hydrobiologia*, 253:179-192.
- Davis, R. B., (1974). Tubificids alter profiles of redox potential and pH in profundal lake sediment. *Limnology and Oceanography*, 19: 342-346.
- Davis, S. M. (1982). Patterns of radiophosphorus in the Everglades after its introduction into surface water. Technical Publication #82-2. South Florida Water Management District, West Palm Beach, Florida. p. 28.
- Diaz, O. A., Reddy, K. R., Moore, P. A. Jr. (1994). Solubility of inorganic P in stream water as influenced by pH and Ca concentration. *Water Research*, 28:1755-1763.
- Dorioz, J. M., Pillebone, E., Ferhi, A. (1989). Phosphorus dynamics in watersheds: role of trapping process in sediments. *Water Research*, 23:147-158.

- Esjmont-Karabin, J. (1984). Phosphorus and nitrogen excretion by lake zooplankton (Rotifers and Crustaceans) in relationship to individual body weights of the animals, ambient temperature and presence or absence of food. *Ekologia Polska Seria A*, 32: 3-42.
- Elsas, J. D., Trevors, J. T., Wellington, E. M. H. (1997). *Modern soil biology*. 2nd Edition. CRC Press. Marcel Dekker Publishing. New York, USA, 713 p.
- Elwood, J. W., Nelson, D. J. (1972). Measurement of periphyton production and grazing rates in a stream using ³²P material balance method. *Oikos* 23:295-303.
- Falconer, I. R. (1989). Effects on humain health of some toxic cyanobacteria (blue-green algae) in reservoirs, lakes and rivers. *Toxicity assessment*, 4:175-184.
- Fennessy, M. S., Brueske, C. C., Mitsch, W. J. (1994). Sediment deposition patterns in restored freshwater wetlands using sediment traps. *Ecological Engineering*, 3:409-428.
- Foy, R. H., S. D. Lennox and C. E. Gibson. (2003). Changing perspectives on the importance of urban phosphorus inputs as the cause of nutrient enrichment in Lough Neagh. *Science of the Total Environment*, 310: 87-99.
- Froelich, P. N. (1988). Kinetic control of dissolved phosphate in natural rivers and estuaries: a primer on the phosphate buffer mechanism. *Limnology and Oceanography*, 33:649-668.

- Gachter, R., Meyer, J. S. (1993). The role of microorganisms in mobilization and fixation of phosphorus in sediments. *Hydrobiologia*, 253:103–121.
- Gallepp, G. W., (1979). Chironomid influence on phosphorus release in sediment-water microcosms. *Ecology* 60: 547-556.
- Ganbazo, G., Le Page, A. (2005). *Détermination d'objectifs relatifs à la réduction des charges d'azote, de phosphore et de matières en suspension dans les bassins versants prioritaires*. Direction des politiques de l'eau, Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs. Québec, Canada, 40 p.
- Gleason, P. J. (1972). The origin, sedimentation, and stratigraphy of a calcitic mud located in the southern freshwater Everglades, Ph.D thesis, The Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, USA.
- Golterman, H. L. (1984). Sediments, modifying and equilibrating factors in the chemistry of freshwater. *Verhandlungen - Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, 22:23-59
- Graneli, W. (1979). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the exchange of dissolved substances between sediment and water. *Archiv für Hydrobiologie*, 87:385-403.
- Hansson, L. A. (1989). The influence of a periphytic biolayer on phosphorus exchange between substrate and water. *Archives in Hydrobiology*, 115:21–26.
- Hinesly, R. L. and T. D. Jones. (1990). Phosphorus in waters from sewage sludge amended lysimeters. *Environmental Pollution* 65: 293–309.

- Holtan, H. L., Kamp-Nielsen, L., Stuanes, A. O. (1988). Phosphorus in soil, water and sediment. An overview. *Hydrobiologia*, 170:19-34.
- Kadlec, R. H. (1987). The hydrodynamics of wetland water treatment systems. Tiré de Reddy, K. R., Smith, W. H., Editions. *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Orlando, Florida, USA, p. 373–392.
- Khalid, R. A., Patrick, W. H. Jr., DeLaune, R. D. (1977). Phosphorus sorption characteristics of flooded soils. *Soil Science Society America Journal*, 41:305–310.
- Kleeberg, A., Schlungbaum, G. (1993). In situ phosphorus release experiments in the Warnow River (Mecklenburg, northern Germany). *Hydrobiologia*, 253:263–274
- Lafforgue, M. (1998). Technique de réhabilitation des plans d'eau eutrophisés. *Technique Sciences et Méthodes*, 93:27-40.
- Lareau, S. (2004)
- Lareau, S. (2009). *Révision de mémoire*. Communication personnelle, École Polytechnique de Montréal, Montréal, Québec, Canada, 19 août 2009.
- Laybourn J., Finlay, B. (1976). Respiratory energy losses related to cell weight and temperature in ciliated protozoa. *Oecologia*, 24:349-355

- Lee, G. F., Bentley, E., Amundson, R. (1975). Effects of marshes on water quality systems. In: Hasler, A. D., Editions. *Coupling of Land and Water Systems*. Springer-Verlag, New York, p. 105–127.
- Lefrançois, P. (2009). *Système de captage des matières décantables dans un étang piscicole*. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, Montréal, Québec, Canada.
- Lijklema, L. (1993). Considerations in modeling the sediment-water exchange of phosphorus. *Hydrobiologia*, 253, 219–231.
- Likens, G. E., F. H. Bormann, R. S. Pierce, J. S. Eaton and N. M. Johnson. (1977). Biogeochemistry of a forested ecosystem. New York: Springer-Verlag.
- Logan, T. J. (1982). Mechanisms for release of sediment-bound phosphate to water and the effects of agricultural land management on fluvial transport of particulate and dissolved phosphate. *Hydrobiologia*, 92:519–530.
- MAPAQ (2007). Les pêches et l'aquaculture commerciales. Bilan 2006 et perspectives. Québec, Canada, 66 p.
- MAPAQ (2008). Présentation des pêches et de l'aquaculture commerciale – Aquaculture en eau douce. Consulté le 7 avril 2008, tiré de:
<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche/Profil/pecheaquaculture/aquaculture/>.
- MDDEP (2009). *Le réseau de surveillance volontaire des lacs. Les méthodes*. Consulté le 25 septembre 2009, tiré de:
www.mddep.gouv.qc.ca/eau/rsv-lacs/methodes.htm

Morin, R. (2007). *La production piscicole au Québec*. Consulté le 9 mars 2009, tiré de:

<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche/md/Publications/statistiquesetprofil/STPED02.htm>

Moore, P. A. Jr., Reddy, K. R. (1994). Role of Eh and pH on phosphorus geochemistry in sediments of Lake Okeechobee, Florida. *Journal of Environmental Quality*, 23:955–964.

Newbold, D. J., Elwood, J. W., O'Neill, R. V., Sheldon, A. L. (1983). Phosphorus dynamics in a woodland stream ecosystem: a study of nutrient spiralling. *Ecology*, 64:1249–1265.

Ni, L.-Y., D. M. Wang and P. Xie. (1999). Experimental studies on the growth of *Potamogeton maackianus* A. under low-light stress in highly eutrophic water. Proceedings of the 9th International Symposium on River and Lake Environments, Hungshan, China, October 9–13, 1998. *Acta Hydrobiologica Sinica* 23: 53–58.

Otsuki, A., Wetzel, R. A. (1972). Coprecipitation of phosphate with carbonate in a marl lake. *Limnology and Oceanography*, 17:763–767.

Ouellet, G., Simard, A. (2007). Portrait aquaenvironnemental. Bilan et résultats de la phase 2 après une année de réalisation. Journée de formation de l'AAQ sur la STRADDAQ, Longueuil, 8 mars 2006.

Parent, S. (2009). *Révision de mémoire*. Communication personnelle, École polytechnique de Montréal, Montréal, Québec, Canada, 19 août 2009.

- Patrick, W. H. Jr., Khalid, R. A. (1974). Phosphate release and sorption by soils and sediments: effect of aerobic and anaerobic conditions. *Science*, 186:53–55.
- Pauli, H. R. (1989). A new method to estimate individual dry weights of rotifers. *Hydrobiologia*, 186/187:355-361
- Pearson, T.H., Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 16:229–311.
- Porrello, S., Lenzi, M., Persia, E., Tomassetti, P., Finoia, M.G. (2003), a. Reduction of aquaculture wastewater eutrophication by phytotreatment ponds system. I: dissolved and particulate nitrogen and phosphorus. *Aquaculture*, 219:515–529.
- Porrello, S., Lenzi, M., Tomassetti, P., Persia, E., Finora, M.G., Mercatali, I. (2003), b. Reduction of aquaculture wastewater eutrophication by phytotreatment ponds system: II. Nitrogen and phosphorus content in macroalgae and sediment. *Aquaculture*, 219:531–544.
- Portielje, R., Lijklema, L. (1993). Sorption of phosphate by sediments as a result of enhanced external loading. *Hydrobiologia*, 253:249–261.
- Rao, C. S. (1998). Environmental pollution control engineering. New Delhi: New Age International.
- Reddy, K. R., DeBusk, W. F. (1987). Nutrient storage capabilities of aquatic and wetland plants. In: *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Reddy, K. R., Smith, W. H., Editions. Magnolia Publishing Inc., Orlando, FLorida, USA. p. 337-357.

- Reddy, K. R., DeLaune, R. D., DeBusk, W. F., Koch, M. S. (1993). Long-term nutrient accumulation rates in the Everglades. *Soil Science Society America Journal*, 57:1147–1155.
- Reddy, K. R., Diaz, O. A., Scinto, L. J., Agami, M. (1995), a. Phosphorus dynamics in selected wetlands and streams of the Lake Okeechobee Basin. *Ecological Engineering*, 5:183–208.
- Reddy, K. R., Flaig, E., Scinto, L. J., Diaz, O. A., DeBusk, T. A. (1995), b. Phosphorus assimilation in stream systems of the Lake Okeechobee Basin. *Water Resource Bulletin*, 32:901–915.
- Reddy, K. R., Kadlec, R. H., Flaig, E., Gale, P. M. (1999). Phosphorus Retention in Streams and Wetlands: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 29:83-146.
- Richardson, C. J. (1985). Mechanisms controlling phosphorus retention capacity in freshwater wetlands. *Science*, 228:1424–1426.
- Sanchez, C. (2008). *Flux de phosphore et collecte de boues d'une pisciculture de moyenne taille*. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, Montréal, Québec, Canada.
- Sanyal, S. K., DeDatta, S. K. (1991). Chemistry of phosphorus transformations in soils. *Advances in Agronomy*, 16:1–1.

- Sara, G. (2007). Ecological effects of aquaculture on living and non-living suspended fractions of the water column: A meta-analysis. *Water Research*, 41(15), 3187-3200.
- Seo, J., Boyd, C. E. (2001). Dry-tilling of pond bottoms and calcium sulfate treatment for water quality improvement. *Journal of the World Aquaculture Society* 32:257-268.
- Scinto, L. J., Reddy, K. R. (1995). Phosphorus dynamics in a freshwater wetland as influenced by periphytic activity. Agronomy Abstract. Annual Meetings of Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, p. 333.
- Sharpley, A. N., Menzel, R. G., Smith, S. J., Rhoades, E. D., Olness, A. E. (1981). The sorption of soluble phosphorus by soil material during transport in runoff from cropped and grassed watersheds. *Journal of Environmental Quality*, 10-211-215.
- Sloey, W. E., Spangler, F. L., Fetter, C. W. Jr. (1978). Management of freshwater wetlands for nutrient assimilation. In: Good, R. G., Whigham, D. F., Simpson, R. L., Editions. *Freshwater Wetlands: Ecological Processes and Management Potential*. Academic Press, New York, p. 321-340.
- Smith, V. H. (1990). Phytoplankton responses to eutrophication in inland waters. In: Akatsuka, I., Editions. *Introduction to applied phycology*. Academic Publishing, The Hague, p.231-249.
- Sommariva, C., Converti, A., Del Borghi, M. (1997). Increase in phosphate removal from wastewater by alternating aerobic and anaerobic conditions. *Desalination*, 108:255-260.

- Sonzogni, W. C., Chapra, S. C., Armstrong, D. E., Logan, T. J. (1982). Bioavailability of phosphorus inputs to lakes. *Journal of Environmental Quality*, 11:555–563.
- Stanford, J. A., Ward, J. V. (1988). The hyporheic habitat of river ecosystems. *Nature*, 335:64–66.
- Sundby, B., Cobeil, C., Silverberg, N., Mucci, A. (1992). The phosphorus cycle in coastal marine sediments. *Limnology and Oceanography*, 37:1129–1145.
- Swift, R. S. and A. M. Posner. (1972). Nitrogen, phosphorus and sulphur contents of humic acids fractionated with respect to molecular weight. *Journal of Soil Science*, 23:50–57.
- Syers, J. K., Harris, R. F., Armstrong, D. E. (1973). Phosphate chemistry in lake sediments. *Journal of Environmental Quality*, 2:1–14.
- Tchobanoglou, G., Burton, F. L., Stensel, H. D., Inc. Metcalf & Eddy (2002). *Wastewater engineering: treatment and reuse*. 4th Edition, McGraw Hill Inc. New York, USA.
- Thiebaut, G. and S. Muller. (1998). The impact of eutrophication on aquatic macrophyte diversity in weakly mineralized streams in the Northern Vosges mountains (NE France). *Biodiversity and Conservation* 7: 1051–1068.
- Tiwari, A. (1998). Rotifers as indicators for assessment of water quality. *Proc. Acad. Environ. Biol.* 7: 161–166.

- Van Dam, H. and A. Mertens. (1993). Diatoms on herbarium macrophytes as indicators for water quality. *Hydrobiologia* 269–270: 437–445.
- Wetzel, R. G. (1990). Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Verh International Verein Limnologie*, 24:6–24.
- Yoo, J.-H., Ro, H.-M., Choi, W.-J., Yoo, S.-H., Han, K.-H. (2006). Phosphorus adsorption and removal by sediments of a constructed marsh in Korea. *Ecological Engineering*, 27(2), 109-117.
- Zhang, M.-K., Fang, L.-P. (2006). Phosphorus accumulation and eutrophication in feed-supply freshwater fishponds. *Journal of Environmental Sciences*, 18(4), 816-821.

ANNEXES

**ANNEXE 1. Méthodologie pour échantillonnage avec la sonde
Multisampler de Eijkelkemp**

OPERATING INSTRUCTIONS

12.42 MULTISAMPLER

Contents

On these operating instructions	1
1. Short description	1
2. Introduction and decontamination	2
3. Application	3
3.1 Taking sludge- and sediment samples	3
3.2 Accessing sludge- and sediment samples	3
3.3 Taking liquid samples	4

On these operating instructions

 When the symbol shown on the left is placed before a piece of text, this means that an important instruction follows.

1. Short description

The Multisampler has been developed to take samples from layered strata of sludge and sediment as well as from layered liquids.

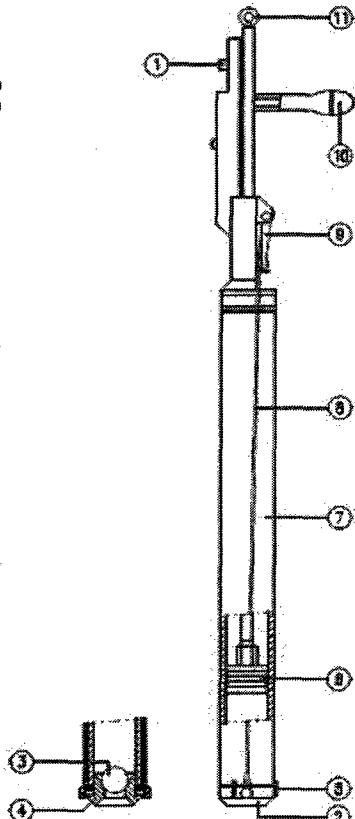
The stratification of the sample taken remains reasonably intact in liquids columns as well as point samples can be taken. The apparatus can be deployed up to a depth of several meters by applying extension rods with bayonet connection (1).

The standard model of the Multisampler is supplied with two cutting heads:

One open sharp cutting head (2) for taking column samples in more or less tough material "without" agitation, and a cutting head with ball valve seating (4) and ball (3) to be able to take semi-agitated samples from fluid material. The large passage of the ball valve enables sampling of extremely viscous- and/or heterogeneous material.

The length of the sample taken has a maximum of 1 meter, with a diameter of 40 mm. The volume of the sample is more than 1 liter. Because the sampling tube (7) is transparent, the contents can be judged visually immediately after raising. It is possible to transport the sample in the sampling tube for closer examination in a laboratory. This all makes that the Multisampler has a wide range of applications.

To avoid compaction of the sludge layers by the increasing resistance of the sample sliding into the sampling tube, a piston (6) with a piston rod with tread-eye (11) is kept at a stationary level in relation to the material to be sampled. The apparatus can only function properly if the sludge remains under a level of liquid or if the material itself is non-air permeable e.g. greases and pastes.



P.O. Box 4, 6807 ZG Geertruidenberg, NL
T: +31 312 660200
F: +31 312 660299
E: ejkelkamp@ejkelkamp.com

© January 2007

www.ejkelkamp.com



M12.42.E

For the sampling of drained sediment the peat profile sampler (art. no.: 04.09) or the flap gouge auger (art. no.: 20.07) can be applied.

The metal parts of the Multisampler have been made of stainless steel. The sampling tube is made of PMMA acrylic high transparent plastic. A NBR-rubber piston (6) is applied. Under the condition that all precautions (cleaning, controlling) have been taken, the samples taken can be examined for all kinds of pollution.

For taking layered samples from unknown chemicals we refer to the rod- or cable operated liquid layer samplers (art. no.: 12.40 and 12.41). These have been fitted with a chemically inert teflon sampling tube.

2. Introduction and decontamination

Every Multisampler leaving our plant is subjected to a final quality inspection. If nevertheless you would find any imperfections in the apparatus, then we request you to contact us.

On reception you should check whether all required and ordered parts are present and whether they are undamaged. The minimum you need would be:

1. The Multisampler (12.42.01.8) with two cutting heads (one of which has been mounted).
2. A handle to be able to operate the Multisampler (01.10.01.8 or 01.10.04.8).
3. Possible one or more extension rods (01.10.07.8).
4. A cord to operate the piston rod (01.09.00.02).

Of course it is always possible to optionally add the following equipment:

5. Extra sampling tubes (12.42.02) with extra pistons (12.42.07).
6. Cap, polyethylene (12.42.03).
7. Stainless steel ball (12.42.06).
8. Wide-mouthed sample flasks (99.08.07).
9. Decontamination fluid (art. no. 20.05.29).
10. Stainless steel bucket (art. no. 99.08.10).
11. Carrying bag (art. no. 01.14).

 Only introduce the Multisampler after you read this manual.
Keep this manual in a place accessible to all users.

 Decontaminate the equipment before use.
This avoids disappointment on reception of the first results!

 For a complete decontamination (organic as well as anorganic) we recommend the application of phosphate-free Deconex (20.05.29). The action of the detergents is increased substantially by using warm or even hot water. Always rinse with large quantities of clean water afterwards.

 In combination with tissues, isopropyl alcohol can be used to quickly clean the apparatus in the field.

 Volatile substances that entered the plastic through permeation will disappear from the apparatus by placing it in a ventilated warm place after carefully cleaning inside- and outside. In extreme cases the sampling tube can not be used again.

Note: In the event of affect (by certain chemicals) of the PMMA or corrosion of the stainless steel, iron, nickel and chrome (from the stainless steel) and tin (from the PMMA) may be released. In such an event this should be taken into account on interpreting the results of the analysis.

3. Application.

3.1 Taking sludge- and sediment samples

Principle of operation:

The apparatus is pushed into the sludge. To avoid compaction of the layers a piston is held at a stationary position relative to the sludge.

Working procedure:

Assemble the Multisampler, fitted with the open cutting head (2) with centring pens (5) to avoid slipping off). See to it that the wires (8) that are holding the cutting ring are not pulled too tight. The adjustable hook (9) that pulls the wires can be unscrewed or screwed in. Mount no more than two extension rods and the handle and fit the piston rod (11) with a cord (you could use a plasticized cord).

- Lower the apparatus until any resistance is felt (in case of application at greater depths additional extension rods are mounted during the lowering of the apparatus).
- After feeling the sludge to be cut, the apparatus is lifted several decimeters.
- Then the piston is blocked at a stationary level, for instance by pulling the cord tight and by standing on it.
- Next the sampler is pushed into the sludge until it is filled-up completely or until too much resistance is felt (in case of the application of several extension rods it is important to cut fast and with short brisk movements to avoid bending).
- After this the apparatus is pulled-up by the piston cord. Through an air valve in the top section of the Multi-sampler, air can leave, but not enter, the space over the piston which causes the piston to remain in place and the sample is kept inside by the slight underpressure.

3.2 Accessing sludge- and sediment samples

- Rinse the outside of the sampler with water.
- Disconnect all rods (you may disconnect the piston cord).

Mind the following:

- Often several centimeters of 'air' can be seen under the piston. This gas stems from anaerobic decomposition of biologically active sludge. The vibrations occurring during the cutting cause the gas to bubble up and to collect under the piston. In such a case, gas bubbles will also be present in various places inside the sample, as can be seen as the tube is transparent.
- Often vertical lines can be seen in addition to the horizontal lines caused by the different sediment layers in the sample. These lines are the result of the cutting of small pieces of sludge with a deviant color by the cutting edge of the cutting head. It is a typical wall-effect and is called smearing.
- In case of a well cut sample the top section of the sample should be very watery (clear water). If this is not the case then, the next time you take a sample, you should pull the apparatus further up after feeling the bottom before you commence cutting. It is also possible to apply an electronic sludge layer detector to determine the transition between water and sludge.
- Water on top of the piston has no significance. It leaked inside by passing alongside the piston rod.

Now there is a selection between:

1. Accessing the sample immediately and transferring it from the sampling tube to the wide-mouth sample flask afterwards.
2. Transporting the sample in the sampling tube and examining it later.

To be able to execute procedure 1 the following is done:

Examine or photograph the sample as it can be seen through the transparent sampling tube. If this method of visual examination is sufficient the apparatus can be placed in the wide-mouth flask and emptied. To maintain the anoxic character of the sample the flask will be filled to the rim. The rim should be cleaned properly in order to allow proper sealing.

Examine the sample after it has been removed from the sampling tube. This can be executed as follows:

- Place a half-round plastic gutter (art. no.: 99.08.12) with a length of at least 1 meter, or a sheet of plastic on the ground.
- Hold the Multisampler almost horizontal and screw handle (10) on the piston rod (11). Empty the sampler by keeping the piston rod stationary while pulling the sampler. In this way a 'roll' is created in which the layer thickness are maintained.
- The circumference of the sample has been disturbed most due to the wall-effects. For this reason the sample should be examined by opening it using a spatula. This avoids incorrect interpretation.
- The less the binding of the sludge, the easier it falls apart.
- Sub-samples can be taken using a spatula or a spoon.

To be able to execute procedure 2 the following is done:

Take a polyethylene cap and place this next to the cutting head on the ground.

Slacken the steel wire and remove the cutting head.

Immediately press the cap firmly in the lower section of the transparent tube. If necessary the sample can be pulled up slightly by means of the piston rod.

Unscrew the piston rod from the piston and remove the rod.

Remove the top section from the sampling tube.

Transport the sampling tube with the sample in a (semi)vertical position (not horizontal). This avoids mixing.

A new sample can be taken after mounting another tube and piston.

3.3. Taking liquid samples

Principle of operation:

1. Column sampling:

The apparatus is pressed into the fluid. In order to maintain the layered character of the liquids the piston is kept at a stationary position in relation to the fluid. The stainless steel ball valve in the bottom section prevents loss of the sample taken.

2. Spot sampling:

The apparatus is lowered to the proper depth. By pulling up the piston completely the apparatus is filled with liquid from that particular depth (for instance the bottom of a reservoir).

3. Mix-sampling:

As under 2, but now the piston is raised a little (for instance 10 centimeters = 125 ml) at every sampling spot. In this way a mix-sample of ten spots, divided over the depth or over the surface, can be obtained in one action.

Application:

Assemble the Multisampler, fitted with an open cutting head. See to it that the wire is not pulled too tight. The hook that pulls the wires can be unscrewed or screwed in. Mount no more than two extension rods and the top piece and fit the piston rod with a cord (you could use a plasticized cord).

- Lower the apparatus until the right depth is reached (in case of application at greater depths the extension rods are mounted during the lowering of the apparatus).

If a column sample has to be taken:

- Then the piston is blocked at a stationary level, for instance by pulling the cord tight and by standing on it.
- Next the sampler is pushed down until it is filled-up completely or you reach the bottom of the reservoir.
- After this the apparatus is pulled-up.

In case a spot- or mix-sample has to be taken, action is taken as previously described. However, now the apparatus is kept stationary and the piston is pulled up.

- Disconnect all rods (you may disconnect the piston cord).

Mind the following:

- Fluid on top of the piston has no significance. It leaked inside by passing alongside the piston rod.
- In case of a well cut sample, the layer thickness has remained intact despite passing the ball valve. It is therefore possible to measure layer thickness.
- If a sample is taken from very heterogeneous material (for instance watery sand) a certain separation or de-mixing will take place. The entrance resistance of the ball valve allows water easier access than sand. Once inside the tube, the sand will settle. The sequence of the layers remains more or less intact, the thickness of the layers however will be disturbed.
If separation is not allowed, it is better to use the open cutting head. You may prevent the sample from running out of the tube by fitting the tube with a cap just before pulling it from the water.
- Examine or photograph the sample as it can be seen through the transparent sampling tube. If this method of visual examination is sufficient the apparatus can be placed in a wide-mouth flask and emptied. Hold the Multisampler almost horizontal so that the ball comes out of the seat of the ball valve. The contents of the tube will run into the wide-mouth flask.

It is also possible to transport the fluid sample in the sampling tube. To this purpose you should remove the piston rod. Turn the Multisampler upside down. Disconnect the tension rope and remove the ball valve. The ball will remain inside the sampling tube; it cannot be removed. Mount the cutting head on the tube. The sample is now ready for transportation.

Nothing in this publication may be reproduced and/or made public by means of print, photocopy, microfilm or any other means without previous written permission from Eijkelkamp Agrisearch Equipment.

Technical data can be amended without prior notification.

Eijkelkamp Agrisearch Equipment is not responsible for (personal) damage due to (improper) use of the product.

Eijkelkamp Agrisearch Equipment is interested in your reactions and remarks about its products and operating instructions.

ANNEXE 2. Résumé de Puigagut *et al.* (2009)

Influence of tubificid worms on phosphorus dynamics between sediment and overlaying water in a settling pond

Jaume Puigagut^{a,b} Marie-Laure de Boutray^b, Florent Chazarenc^c and Yves Comeau^b

^aInstitut de Recherche en Biologie Végétale (IRBV); 4101 Sherbrooke Est, Montréal (Quebec), Canada, QC H1X 2B2. (jaume.puigagut.juarez@umontreal.ca)

^bDépartement CGM (des génies civil, géologique et des mines) École Polytechnique de Montréal, Case postale 6079, succursale Centre-ville (2900 boul. Edouard-Montpetit) Montréal (Québec), Canada, H3C 3A7.

^cÉcole de Mines de Nantes, 4, rue Alfred Kastler, La Chantrerie, B.P 20722, F-44307, Nantes, CEDEX 3, France.

INTRODUCTION

Intensive fish farming represents a point source of dissolved inorganic nutrients, mainly ammonia and phosphorus (Alabaster, 1982). On the other hand, bioturbation activity carried out by tubificids modifies the flux of contaminants at the water sediment interface of fresh water ecosystems, and specially the dynamics of phosphorus (Nogaro *et al*, 2007). However, the extent of their effect is highly dependent on the organisms' abundance (Holdren and Armstrong, 1980) and composition of sediment (Graneli, 1979). Therefore, their role on phosphorus dynamics should be specifically tackled when a different fresh water ecosystem is considered. The main objective of this study is to assess the potential contribution of tubificid worms on phosphorus dynamics between the sediment found in a settling pond situated downstream of a fish farm facility and the overlaying water.

METHODS

Sediment and water used.

Sediment and water were sampled from a fish farm settling pond and analysed according to Standard Methods (2001) in terms of total solids (TS), volatile solids (VS), total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), ortho phosphate (O-PO₄) and iron content. Main characteristics of both sediment and water used are shown in Table 1. Natural assemblages of tubificid worms (mainly belonging to the genus *Tubifex*) were collected on site and cultured in lab conditions.

Experimental set up and analyses.

Three experimental conditions were tested including control condition (sediment without worms), experimental condition I (EXP I - 1mg of tubificids per g of fresh sediment) and experimental condition II (EXP II - 40 mg of tubificids per g of fresh sediment). Each condition was tested in duplicate by means of a microcosm approach. Each microcosm consisted of a 0.5 L glass vessel supplied with oxygen diffusers to which 30 g of sediment and 0.3 L of filtered settling pond water were supplied. The effect of tubificid worms was studied during 10 days. For OPO₄ release, 0.15 L of overlaying water was taken every two days and, after filtration at 0.45µm, OPO₄ concentration was measured. Moreover, pH (8.0-8.4), dissolved oxygen concentration (5.5-6.5 mg.L⁻¹) and temperature (19.5-20.0 °C) were also measured every two days.

RESULTS AND DISCUSSION

O-PO₄ release in control and EXP I (1 mg of tubificids per g of fresh sediment) was much lower than in EXP II (40 mg of tubificids per g of fresh sediment) (Fig.1).

Specifically, after 10 days the total amount of O-PO₄ released in EXP II was, in average, 1.5 mg of O-PO₄.g⁻¹ fresh sediment, representing 90% less O-PO₄ released compared to the control condition, in which total O-PO₄ released was 18.5 mg of O-PO₄.g⁻¹ fresh sediment. In sediments where content of organic matter and iron are high, Granèli (1979) reported phosphorus dynamics is highly influenced by tubificids. Accordingly, tubificids promotes oxygen diffusion from the water to lower sediment layers due to their burrowing capacity (Revsbech et al., 1980), changing the chemical state of iron (from ferrous (Fe⁺²) to ferric (Fe⁺³)) that will precipitate as ferric phosphate compounds (Tuominen et al., 1999).

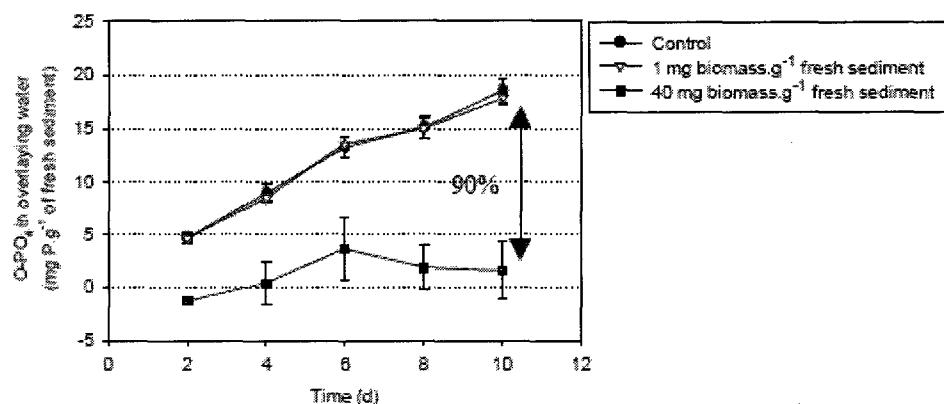


Fig. 1. Cummulative release of ortho-phosphate to overlying water

Table 1. Main physical-chemical characteristics of sediment and water used and mesocosms monitoring.

	TP (mg/g dry sed.)	TN (mg/g dry sed.)	TOC (mg/g dry sed.)	TS (g/g fresh sed.)	VS (g/g fresh sed.)	Fe (mg/g dry sed.)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)
Water	-	-	-	-	-	-	0.15±0.05
Sediment	3.1±0.3	5.4±1.1	56.15±2.3	0.36±0.002	0.036±0.0007	4.8±1.1	-

CONCLUSIONS

Biomasses of 40 mg of tubificid worms per g of sediment decreases about 90% the phosphorus released from sediment to overlaying water. Thererore, bioturbation caused by tubificid worms can be considered as an important biological agent for minimizing phosphorus pollution under the conditions here tested.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was funded by the Natural Sciences and Research Council of Canada (CRSNG), "La Société de recherche et de développement en aquaculture continentale" du Québec (SORDAC) and Multiserv. Authors also want to thank the collaboration of Pisciculture Gilbert and Denis Bouchard for the technical assistance.

REFERENCES

- Alabaster J. S. (1982). Survey of fish farm effluents in some EIFAC countries. .5-27. In. Re on of the EIFAC workshop on fish farm effluents (Silkeborg, Denmark). J. S. Ayabaster (ed.) WAC Technical Paper 41. 166 pp.
- APHA-AWWA-WPCF. (2001). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Graneli, W. (1979). The influence of Chironomus plumosus larvae on the exchange of dissolved substances between sediment and water. *Hydrobiologia*, 66:149-159.
- Holdren, G.C and Armstrong, D.E (1980). Factors affecting phosphorus release from intact lake sediment cores. *Envir. Sci. Technol.* 14:79-87.

Nogaro, G., Mermillod-Blondin, F. Montuelle, B., Boisson, J.C, Lafont, M., Bolat, B. and Gibert, J. 2007. Do tubificid worms influence organic matter processing and fate of pollutants in stormwater sediments deposited at the surface of infiltration systems? *Chemosphere*, 70: 315-328.

Revsbech, N.P., Sørensen, J., Blackburn, T.H. and Lomholt, J.P (1980). Distribution of oxygen in marine sediments measured with microelectrodes. *Limnol. Oceanogr.* 25:403-411.

Tuominen, L., Mäkelä, K., Lehhtonen, K.K., Haahti, Hietanen, S., Kuparinen, J (1999). Nutrient fluxes, pore water profiles and denitrification in sediment influenced by algal sedimentation and bioturbation by *Monoporeia affinis*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 49: 83-97.

ANNEXE 3. Analyse de la concentration de chlorophylle- α par spectrophotométrie

1. Analyse d'échantillons d'eau

1.1 Filtration

- Effectuer la filtration des échantillons dans un endroit frais à l'abri de la lumière
- Déposer délicatement les filtres GFC (mailles de 0,45 μm , diamètre de 45 mm) sur les tunnels de filtration du système Gelman
- Filtrer 1 litre d'eau distillée pour avoir un blanc de filtration.
- Pour chaque échantillon, filtrer environ 1 litre d'eau.
- Lorsque la filtration est terminée, rincer la colonne de filtration avec de l'eau distillée pour déloger les particules collées à la paroi
- Retirer les filtres avec les pinces, les plier en deux et les placer dans une enveloppe en papier d'aluminium étiquetée avec le nom, la date de l'échantillonnage et le volume filtrée.
- Congeler les filtres en les plaçant dans un contenant hermétique pour au moins 24 heures

1.2 Extraction

- Retirer les filtres du congélateur
- Mettre les filtres dans des tubes d'extraction de 15 mL préalablement identifiés.
- Ajouter dans le tube 4mL d'éthanol 90% et broyer le filtre à l'aide d'une tige de verre. Ajouter 10 mL d'éthanol 90%.
- Fermer les tubes et les celer avec du parafilm et les entourer de papier d'aluminium

- Brasser les tubes vigoureusement
- Placer les tubes au réfrigérateur pour un période de 24 heures. Brasser vigoureusement après 12 heures.

1.3 Spectrophotométrie

- Nettoyer la cellule de 10 cm à double parois avec de l'éthanol; les sécher et éviter de toucher avec les doigts.
- Pour calibrer le spectrophotomètre, remplir la cellule d'éthanol en prenant soin d'éviter la présence de bulle d'air.
- S'assurer que la cellule est bien propre, spécialement les extrémités.
- Placer la cellule dans le spectrophotomètre et appuyer sur «blanc». Une fois calibrer mesurer un cette même cellule avec de l'alcool afin de s'assurer que cette valeur est zéro.
- Retirez les tubes d'extraction du réfrigérateur. Centrifuger les tubes pendant 15 à 20 minutes. Transférer le surnageant dans une seringue propre avec un embout comprenant un filtre pour s'assurer que des débris de filtres ne tombent pas dans la cellule.
- Rincer les cellules du spectrophotomètre avec un petit volume de chaque échantillon. Jeter le volume d'eau rinçage. Remplir la cellule du spectrophotomètre avec l'échantillon. Placer la cellule dans un porte cellule du spectrophotomètre avec l'échantillon. Placer la cellule dans le porte-cellule.
- Mesurer l'absorbance à 665 nm et 750 nm
- Ajouter 2 goutte de HCl (1N). Mélanger vigoureusement et laisser agir 2 minutes.
- Répéter les mesures d'absorbance pour l'échantillon acidifié

1.4 Équation de Lorenzen (1967)

$$Chl - a (\mu g/L) = \frac{26,73 * (E665o - E665a) * v}{V * l}$$

où

E665o : absorbance à 665nm – absorbance à 750 nm avant acidification

E665a : absorbance à 665nm – absorbance à 750 nm après acidification

v : volume d'éthanol utilisé en mL

V : volume d'eau filtrée en litres

l : longueur de la cuvette en cm

2. Analyse d'échantillons de sédiments

- Congeler les échantillons
- Lyophiliser les échantillons
- Moudre la totalité de chaque échantillon, jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène
- Peser une petite quantité d'échantillon et mettre dans un tube d'extraction préalablement identifié
- Procéder de la même manière que pour l'analyse d'eau au spectrophotomètre.
- Les résultats sont en $\mu g/g$

ANNEXE 4. Compilation des données des boues du bassin 8

ANNEXE 5. Compilation des données de l'eau du bassin 8

ANNEXE 6. Compilation des données des boues cône du bassin 8

ANNEXE 7. Compilation des données des houes du bassin 6

Date	Densité	MT	std	M/T	std	M/T	std	PT	std	c-PO4	XP	XP/MT	TKN	std	NO-x	NH3	XN	XN/MT	XN/N/T	
22-juil-08										0.16			0.44							
29-juil-08	1.331	14	2					62	41	< 0,01	62	4.4		207	132	0.89		207	14	
13-aout-08	0.935	31	0	17.17	0.00	13	0	505	355	1.15	504	16.5	29	1631	989	< 0,01	1631	53	95	
26-aout-08	1.007	49	0	30.09	0.00	19	0	480	74	1.93	478	9.7	16	N. disp.	0.15			0		
10-sept-08																				
24-sept-08	1.180	58	1	36.16	0.00	22	1	999	61	5.19	993	17.1	27	3440	159	< 0,01	8.82	3431	59	95
16-oct-08	1.346	94	10	50.60	7.00	43	3	699	39	1.03	698	7.5	14	2047	141	3.63	< 0,01	2047	22	40
04-nov-08	1.049	73	2	26	0	48	1	697	62	0.04	697	9.5	27	1659	49	< 0,01	1659	23	65	
25-nov-08	1.081	307	120	42	11	273	109	1499	456	8.80	1490	4.9	36	2499	652	< 0,01	47	2452	8	59
28-jany-09	1.004	70	1	33	0	37	1	779	16	11.00	768	10.9	23	2620	35	< 0,01		2620	37	79

Bojres

Date	FLAGEL	indiv/mL std	indiv/mL CILIÉS	indiv/mL std	indiv/mL META	indiv/mL std	indiv/mL VERS	mg/g MT std	mg/g MT CHIRO	mg/g MT std	BENTHOS	mg/g MT std	mg/g MT CHLA	µg/L std
22-juil-08														
29-juil-08	43031	10647	135	78	17	15						438	305	26
13-aout-08	20286	1844	610	308	51	25						0.00	32	10
26-aout-08	12577	4997	839	411	155	16						0.07	0.00	
10-sept-08														
24-sept-08	26096	12546	567	140	88	37						1.01	1.25	
16-oct-08	6581	1140	272	188	190	125	0	0	0			0.00	84	7
04-nov-08	21623	7085	185	114	121	64	0	0	1.20			0.90	1.20	
25-nov-08	10733	4285	1190	914	148	75	0	0	0			0	0.00	
28-janv-09	45899	65163	3161	1614	1502	137	0.12	0.17	1.08			1.52	120	6

ANNEXE 9. Compilation des données des houes du bassin de sédimentation

Date	Densité	MT	MT std	MVT	MVT std	PT	PT std	o-PC4	std	XP	XP/MT	XP/MVT	TKN	std	NO-x	mg N/L	XN	mg N/L	XN/MVT	mg N/gMVT
22-juil-08										7.91	0.13					<0,005				
29-juil-08	1.142	127				853	38	6.63	0.05	846	6.6			1873	4.1	<0,01	1873	15		
13-août-08	1.098	134	1	23	0	110	0	923	0.22	0.03	923	6.9	39	1788	45.4	<0,01	1788	13	76	
26-août-08	1.229	476	23	30	1	446	23	762	0	3.35	0.06	759	1.6	25	2080	0	<0,01	2080	4	70
10-sept-08	1.171	213	2	29	0	184	2	1063	209	2.13	0.04	1061	5.0	36	2333	30.1	<0,01	2311	11	80
24-sept-08	1.123	151	4	24	1	127	5	1099	137	0.25	0.06	1098	7.3	46	2180	10.6	<0,01	2145	14	90
16-oct-08	1.123	289	14	34	1	256	14	1001	18	2.76	0.03	998	3.4	30	1971	24.0	<0,01	1947	7	58
04-nov-08	1.105	246	31	24	1	221	30	613	33	0.44	0.05	613	2.5	25	1483	60	<0,01	1483	6	61
25-nov-08	1.210	392	20	30	1	361	19	592	146	1.40	0.08	591	1.5	19	1227	33.4	<0,01	1205	3	40
28-janv-09	1.071	388	13	17	1	371	13	851	127	1.20	0.08	849	2.2	50	2483	44.5	<0,01	2483	6	147

Boues

Date	FLAGEL	std	CILIÉS	std	META	std	VERS	std	CHIRO	std	BENTHOS	CHLA	std						
22-juil-08														87	3				
29-juil-08	61473	38390	593	147	85	147								0.21	77	17			
13-août-08	43031	10647	762	0	85	147								238	29	12			
26-août-08	26477	11465	182	316	0	0								0.21					
10-sept-08	0	0	622	407	0	0								0.66	55	29			
24-sept-08	11598	20089	320	553	0	0								0.45					
16-oct-08	6581	11399	91	157	272	471		0.22	0.06	0.70	0.57	0.92		65	8				
04-nov-08	17532	17532	80	139	0	0	1.42	0	0.90	0.63	2.32								
25-nov-08	5649	9784	156	135	0	0	0	0.32	0.46	0.32	52	9							
28-janv-09	103272	78875	790	494	1027	548	0.55	0.30	7.63	0.42	8.18	114	3						

ANNEXE 10. Compilation des données de l'eau du bassin de sédimentation

S mgP/mgMVES

Date	mg N/L TKN	mg N/L std	mg N/L NO _x	mg N/L NH ₃	mg N/L XN	mg N/L XN/MES	mgN/mgMES	mgN/mgMES	indiv/mL FLAGEL	indiv/mL std	indiv/mL CLIES	indiv/mL std	indiv/mL META	indiv/mL std	mg/L CHLA	mg/L std
22-juli-08		1.25													4.77	0.51
29-juli-08	1.49	0.20	1.30	1.5	0.09		5533	4879	17	29	0	0	0	2.51	0.20	
13-août-08	1.83	0.16	1.46	1.8	0.15	0.41	0	0	0	0	0	0	0	1.50	0.09	
26-août-08	3.14		1.22		3.1	0.34	0.76	0	0	0	0	0	0	2.84	1.52	
10-sept-08	2.16	0.21	1.14	0.59	1.6	0.05	0.31	13556	5124	18	31	0	0			
24-sept-08	3.96	0.12	1.68	0.92	3.0	0.30	0.62	4059	2658	0	0	0	0			
16-oct-08	2.39		1.23	1.26	1.1	0.03	0.27	1316	1140	9	16	0	0	4.31	1.17	
04-nov-08	2.15	0.35	1.50	2.2	0.48	1.94	0	0	64	14	0	0	0			
25-nov-08	1.47	0.60	1.71	0.96	0.5	0.08	0.13	1130	1957	31	36	0	0	2.01	0.36	
28-janv-09	1.36	0.0	0.00		0.00		574	994	8	14	0	0	0			

Eau

Date	mg N/L TKN	mg N/L std	mg N/L NO _x	mg N/L NH ₃	mg N/L XN	mg N/L XN/MES	mgN/mgMES	mgN/mgMES	indiv/mL FLAGEL	indiv/mL std	indiv/mL CLIES	indiv/mL std	indiv/mL META	indiv/mL std	mg/L CHLA	mg/L std
22-juli-08		1.25													4.77	0.51
29-juli-08	1.49	0.20	1.30	1.5	0.09		5533	4879	17	29	0	0	0	2.51	0.20	
13-août-08	1.83	0.16	1.46	1.8	0.15	0.41	0	0	0	0	0	0	0	1.50	0.09	
26-août-08	3.14		1.22		3.1	0.34	0.76	0	0	0	0	0	0	2.84	1.52	
10-sept-08	2.16	0.21	1.14	0.59	1.6	0.05	0.31	13556	5124	18	31	0	0			
24-sept-08	3.96	0.12	1.68	0.92	3.0	0.30	0.62	4059	2658	0	0	0	0			
16-oct-08	2.39		1.23	1.26	1.1	0.03	0.27	1316	1140	9	16	0	0	4.31	1.17	
04-nov-08	2.15	0.35	1.50	2.2	0.48	1.94	0	0	64	14	0	0	0			
25-nov-08	1.47	0.60	1.71	0.96	0.5	0.08	0.13	1130	1957	31	36	0	0	2.01	0.36	
28-janv-09	1.36	0.0	0.00		0.00		574	994	8	14	0	0	0			

ANNEXE 11. Compilation des données des boues du bassin 12

Date	FLAGEL	std	CILIÉS	std	META	std	VERS	std	CHIRO	std	BENTHOS	std	CHLA	std	mg/g MT	mg/g MT	mg/g MT	mg/g MT	µg/L
22-juil-08																			
29-juil-08																			
13-aout-08																			
26-aout-08																			
10-sept-08																			
24-sept-08																			
16-oct-08	1.202	345	39	18	2	327	37	442	8	<0.001	442	1.3	24	906	8	0.68	<0.01	906	2.6
04-nov-08	1.184	385	0	19	1	366	1	458	90	0.25	0.03	458	1.2	24	991	191	0.25		49
25-nov-08	1.184	406	15	24	0	382	15	558	17	0.30	0.04	558	1.4	24	1483	92	<0.01	2.97	1480
28-janv-09	1.045	235	8	36	2	199	7	365	162	0.08	0.04	365	1.6	10	737	384	<0.01	3.6	63

Boues

Date	indiv/mL	FLAGEL	std	indiv/mL	CILIÉS	std	indiv/mL	std	META	std	indiv/mL	std	VERS	std	mg/g MT	mg/g MT	mg/g MT	mg/g MT	µg/L
22-juil-08																			
29-juil-08																			
13-aout-08																			
26-aout-08																			
10-sept-08																			
24-sept-08																			
16-oct-08	46070	30160	1541	314	91	157	0.11	0.16	0.12	0.10	0.12	0.31	0.12	0.31	26	12			
04-nov-08	35064	0	1288	369	483	0	0.12	0.10	4.17	2.85	4.17								
25-nov-08	33894	44837	2646	1426	778	713	0.29	0.19	3.31	2.92	3.31	41	18						
28-janv-09	5737	9937	474	316	274	0.73	0.09	4.55	0.41	4.55	29	11							

ANNEXE 12. Compilation des données de l'eau du bassin 12

ANNEXE 13. Moyenne des paramètres des houes en fonction de la saison

Bassin	Saison	Boues			Ciliés			Vers			Chiro			Benthos			M. MT			M. CHL A		
		indiv/mL	FLAGEL	std	indiv/mL	CILIÉS	std	indiv/mL	META	std	indiv/mL	VERS	std	CHIRO	std	BENTHOS	std	mg/g MT	mg/g CHL A	ug/L		
8	Été	92210	423	0	119	205	30	53										0.00	7	3		
	Automne	6462	6625	*	119	205	*	30										3.65	0.95	9.10		
	Hiver																	1.72				
8C	Été	14446	19698	*	88	3	*	0	0									0	0			
	Automne																					
	Hiver																					
6	Été	43031	135	*	17	121	*	0			0							438		229		
	Automne	16385	8566	*	572	233	*	0.04			0.07	*						0.27	0.50	108		
	Hiver	26085	18002	*	1512	1514	*	590	789	*	0.76							0.80	0.69	58		
0	Été	61473	593	*	85	287	*	71	118	*	0.22							0	119	107		
	Automne	17538	17268	*	395	390	*	342	593	*	0.66							0.70	48	50		
	Hiver	42151	53265	*	342	390	*			*	0.72							2.95	3.61	19		
12	Été	46070	1541	*	91	1097	*	234			0.11							0.31	0.41	44		
	Automne																					
	Hiver	24898	16604	*	1469	526	*	0.38			0.31							0.64	4.01	26		

ANNEXE 14. Moyenne des paramètres de l'eau en fonction de la saison

ANNEXE 15. Moyenne des paramètres des boues

ANNEXE 16. Moyenne des paramètres de l'eau

Eau

Bassin	°C	°C	S/cm			mg/L			mg/L			mg/L			mg/L			mg/L			mg/L			
			T	std	pH	std	Cond	std	MT	std	MFT	std	MES	std	MVES	std	MES	std	MFT	std	MFV	std	MF	std
8	12	1.6	7.30	0.19	0.234	0.005	341	48	66	21	276	27	91	14	7	2	82	14	250	40	60	19	214	43
8C	6	8.7	2.5	8.11	0.06	0.210	0.018	224	23	49	14	175	22	12	9	5	2	8	212	21	44	13	168	21
0	8.4	3.4	8.04	0.13	0.243	0.038	242	23	50	20	190	18	14	11	4	2	10	11	228	26	47	20	181	20
4.9	5.2	8.03	0.48	0.170	0.034	211	13	45	7	166	13	12	5	2	1	10	4	199	16	43	7	157	17	

三