



POUVOIR EPURATEUR ET CROISSANCE DE LA RHODOPHYTE *GRACILARIA BURSA-PASTORIS* ET LA CHLOROPHYTE *ULVA* sp. DANS LES EFFLUENTS PISCICOLES

CHEBIL AJJABI L.^{1*}, CHOUBA L.²

¹Laboratoire de biodiversité et biotechnologie marines *INSTM, Port de Pêche
La Goulette 2060, Tunisie*

²Laboratoire de milieu marine *INSTM, Salammbô 2090, Tunisie*

leila.chebil@instm.rnrt.tn

RESUME

L'activité aquacole est accompagnée d'une pollution causée principalement par le déversement des nutriments générés par les organismes en élevages. Les macroalgues sont capables d'absorber ces nutriments pour leur croissance favorisant ainsi un revenu supplémentaire à l'aquaculteur en utilisant des espèces à importance économique. Cette étude a pour but de comparer l'efficacité de l'algue rouge *Gracilaria bursa-pastoris* et l'algue verte *Ulva* sp. dans le traitement des effluents piscicoles tout en transformant la charge polluante en biomasse algale utilisable. L'étude de la croissance et de la capacité épuratoire de ces deux algues a été menée, pendant deux semaines, sous des conditions contrôlées de laboratoire. Les résultats ont montré que pendant les huit premières heures, les deux algues ont réduit significativement les concentrations des trois nutriments analysés (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3+}). Ce pendant *Ulva* sp. s'est montrée plus performante. Parallèlement, les deux algues ont enregistrées un accroissement notable de leur biomasse. Les taux de croissance spécifique de *G. bursa-pastoris* et *Ulva* sp. sont respectivement de 1,97 et 2,74%J⁻¹. Ces deux espèces pourraient être utilisées en aquaculture comme filtre biologique et cette biomasse algale produite offre des possibilités de son utilisation dans le domaine biotechnologique.

Mots clés : Macroalgue, Nutriments, Absorption, Croissance, Biomasse.

ABSTRACT

Aquaculture releases large amount of nutrients, generated by cultured organisms into aquatic ecosystems. For their growth, seaweeds are efficient in reducing nutrients and at the same time provide extra income when species of economic importance are used. This study aims to compare the efficiency of the red algae *Gracilaria bursa-pastoris* and the green algae *Ulva* sp. in the removal of nutrients from fish culture effluents and the production of useful algal biomass. The study on growth and biofiltration capacity of the alga was conducted under laboratory and lasted two weeks. The results showed that in the first height hours, the two algae reduced significantly the concentrations of the analyzed nutrients (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3+}). However, *Ulva* sp. was faster to absorb the maximum of nutrients. At the same time, both algae increased their biomass and the specific growth rate of *G. bursa-pastoris* and *Ulva* sp. were 1.97 and 2.74% d^{-1} respectively. The results obtained in this study indicated that both algae can be used in aquaculture as a biofilter and the produced algal biomass offers alternatives for biotechnology aspects.

Keywords: Macroalgae, Nutrients, Absorption, Growth, Biomass.

INTRODUCTION

L'expansion rapide de l'aquaculture contribue à la pollution des écosystèmes aquatiques par l'accroissement des teneurs en nutriments spécialement l'azote et le phosphore générés par les organismes en élevages qui peut entraîner ainsi une eutrophisation du milieu naturel récepteur (Chopin et al., 2001). Afin de remédier aux impacts négatifs de cette activité, un intérêt particulier est porté au développement des systèmes d'élevage. L'approche la plus pratique et économique pour réduire ces nutriments est de traiter les effluents avant leur déversement dans la mer. Une alternative potentiellement faisable est le traitement biologique d'effluents en utilisant des macroalgues pour l'abattement des nutriments (Chopin et al., 2001; Neori et al., 2004). Dans ce sens, la culture intégrée a été suggérée non seulement comme une technologie qui améliore la qualité de l'eau, mais aussi comme celle qui apporte des avantages économiques par la diversification des organismes cultivés (Troell et al., 2003).

Le système de culture intégré, qui repose sur l'intégration de différents organismes, a l'avantage d'avoir les caractéristiques qui sont plus semblables à l'environnement naturel. Dans ces systèmes, les macroalgues utilisent les résidus métaboliques des animaux comme les substances nutritives, elles absorbent le gaz carbonique et produisent de l'oxygène pour l'environnement. En effet l'excrétion d'un organisme servira de nourriture pour un autre (Qian et al., 1996).

Plusieurs études ont montré que les macroalgues cultivées dans les effluents aquacoles absorbent et stockent des quantités importantes de nutriments (Neori et al., 1998; Hernandez et al., 2002). Ainsi, il est donc possible de cultiver économiquement des algues à haute valeur commerciale en transformant la charge polluante contenue dans les effluents aquacoles en biomasse valorisable (Neori et al., 2004). Parmi les espèces d'algues testées, il a été démontré que les algues vertes telles que les ulves et les algues rouges du genre *Gracilaria* peuvent être des candidates intéressantes, à cause de leur capacité pour stocker les nutriments, leur croissance rapide et en plus de la production d'une biomasse valorisable.

En Tunisie, l'élevage du loup et de la daurade est une activité qui est en voie d'expansion. Cependant, cette activité peut causer des effets négatifs sur des écosystèmes aquatiques par la décharge de substances nutritives (azote et phosphore) pouvant causer l'eutrophisation des zones côtières. Pour se débarrasser des substances issues de l'aquaculture intensive, l'utilisation des algues comme biofiltres est envisageable. En effet, la culture intégrée (algues/animaux) est largement reconnue comme une forme durable d'aquaculture. Dans ce sens, la production d'algues dans les effluents aquacoles permet aussi bien le traitement des eaux que la réalisation d'un revenu supplémentaire à l'aquaculteur en faisant intervenir des espèces à valeur économique importante.

Dans la présente étude, nous avons examiné la possibilité d'utiliser les effluents issus de l'élevage intensif du loup, comme source de nutriments pour la culture de l'algue rouge *Gracilaria bursa-pastoris* et l'algue verte *Ulva* sp. et la production de biomasse à travers la fixation de NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-} .

MATERIEL ET METHODES

L'étude de la croissance et l'évaluation de la capacité d'absorption des nutriments ont été réalisées sur la rhodophyte *Gracilaria bursa-pastoris* et la chlorophyte verte *Ulva* sp. collectées dans la lagune de Bizerte (nord de la Tunisie), sur le site de Menzel Jemil.

Protocole expérimental

Les thalles d'algues ramenées au laboratoire, sont débarrassés de leurs éventuels épiphytes et détritiques qui y sont accolés puis rincés à l'eau de mer et acclimatés pendant une semaine dans des aquariums contenant de l'eau de mer filtrée. Ensuite, les thalles de chacune des espèces sont fragmentés et répartis en trois lots de 100g de biomasse fraîche. Ces lots sont mis en culture dans des aquariums contenant 4 litres d'effluents piscicoles ramené d'une station aquacole spécialisée dans l'élevage du loup et de la daurade royale. Ces

aquariums sont maintenus au laboratoire sous des conditions contrôlées de température ($20\pm 1^\circ\text{C}$) et de photopériode (12 heures). L'éclairage est assuré par des lampes fluorescentes assurant une luminosité de 3000 lux. Le maintien des algues en suspension, l'aération et l'homogénéisation du milieu sont réalisés par un système de barbotage d'air.

L'évolution de la concentration en ammonium, nitrate et phosphate est suivie par un prélèvement régulier d'échantillons de 100 ml filtrés, tous les deux heures pendant le premier jour et chaque jour pendant les 4 autres jours. Le taux de croissance spécifique est calculé à terme de 5 jours et selon l'équation D'Elia et De Boer (1978). La vitesse et le taux d'assimilation des nutriments sont respectivement calculés selon les équations suivantes :

$$\text{TCS} = [\text{Ln}(P_f - P_i) / t] \times 100$$

$$V_i = [(SN_0 - SN_1) \times V] / (h \times P_i)$$

$$Ta = [(SN_0 - SN_1) / SN_0] \times 100$$

Les indices i et f représentant respectivement le temps initial et final de l'expérience. Les indices 0 et 1 pour le nutriment SN représentent les concentrations en ce nutriment pour le jour 0 et jour 1 respectivement. P correspond au poids sec de l'algue. V_a et T_a représentent respectivement la vitesse et le taux d'assimilation pour le nutriment SN.

Analyse statistique

Les résultats sont comparés statistiquement par l'analyse de la variance à un critère (ANOVA I). Le test du Duncan est utilisé pour la comparaison pariée des moyennes. Pour ces comparaisons, un seuil de signification de 5 % est retenu.

RESULTATS

Absorption des nutriments

Dans les différents aquariums, l'évolution de la concentration des trois nutriments testés (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-}) a montré une diminution significative au cours du temps (ANOVA I) démontrant que ces algues ont une importante capacité d'absorption de ces nutriments (Fig.1). Au bout de 48 heures, les teneurs des trois nutriments testés ont été presque nulles.

Pouvoir épurateur et croissance de Rhodophyte *Gracilaria Bursa-Pastoris* et la chlorophyte *Ulva sp.* dans les effluents piscicoles

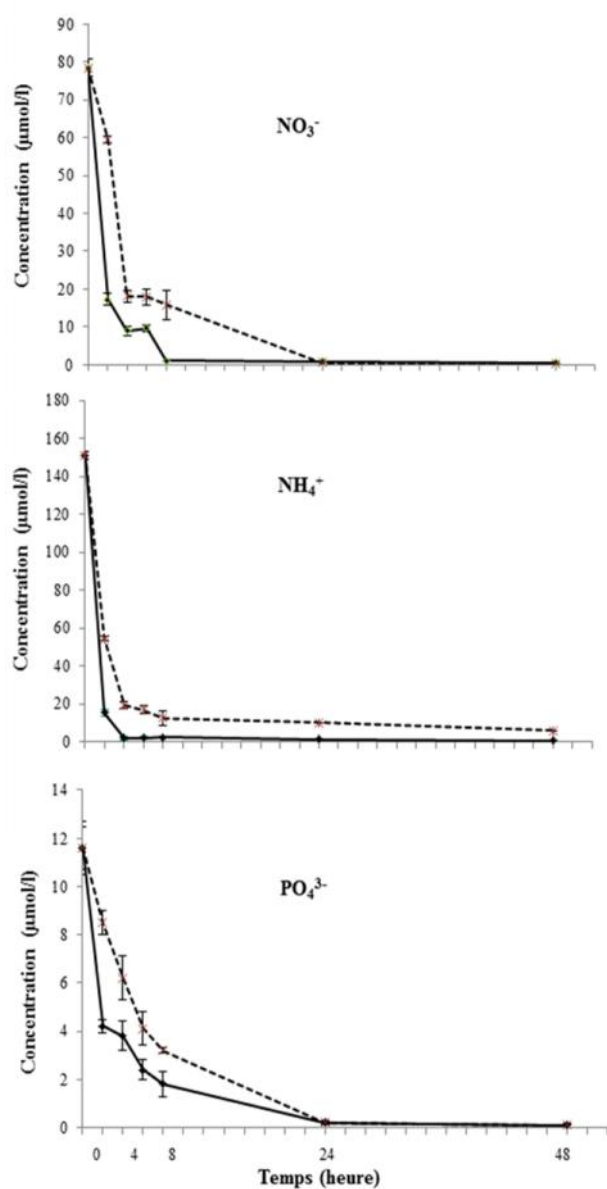


Figure 1: Evolution des concentrations moyennes par *Ulva sp.* (—) et *Gracilaria bursa-pastoris* (-----) au cours du temps.

Les ulves révèlent une forte réduction de la concentration en ammonium, nitrate et phosphate dont les taux d'assimilation sont respectivement d'environ 89, 85 et 61% pendant les 2 premières heures (Tab.1).

Tableau 1 : Variation des taux d'assimilation (%) des nutriments (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-}) par *Ulva* sp. et *Gracilaria bursa-pastoris* au cours du temps. (moyenne \pm erreur standard)

Nutriments	Temps (heure)	2	4	6	8
	Algue				
NH_4^+	<i>Ulva</i> sp.	88,8 \pm 1,7	100,0 \pm 0,1	100,1 \pm 4,2	100,0 \pm 3,6
	<i>G.bursa-pastoris</i>	63,7 \pm 4,2	86,2 \pm 7,1	91,3 \pm 6,8	92,9 \pm 7,2
NO_3^-	<i>Ulva</i> sp.	85,0 \pm 2,1	90,9 \pm 2,8	91,6 \pm 2,5	100,0 \pm 2,4
	<i>G.bursa-pastoris</i>	25,1 \pm 0,5	78,4 \pm 4,6	78,4 \pm 6,7	84,4 \pm 5,2
PO_4^{3-}	<i>Ulva</i> sp.	61,1 \pm 5,6	63,3 \pm 5,2	75,4 \pm 3,5	85,8 \pm 2,3
	<i>G.bursa-pastoris</i>	24,3 \pm 1,8	45,0 \pm 3,8	64,0 \pm 7,4	70,4 \pm 3,9

Les vitesses initiales d'absorption de l'ammonium, nitrate et phosphate sont respectivement de 2,72, 1,23 et 0,15 $\mu\text{mol N/h/g PS}$ pour *Ulva* sp. La quasi-totalité des quantités d'ammonium et nitrate ont été absorbées respectivement au bout des quatre et huit heures de culture (Fig. 2). L'absorption des ions phosphate du milieu de culture est plus lente par rapport aux autres nutriments (Tab.1, Fig.2).

L'algue rouge *G. bursa-pastoris* a montré des diminutions moins importantes des concentrations d'ammonium, nitrate et phosphate respectivement de 64, 25 et 24% dans le deux première heures (Tab.1). Les baisses de concentrations de l'ammonium et du nitrate dans le milieu de culture est progressive jusqu'à atteindre des teneurs très faibles. Les vitesses initiales d'absorption de l'ammonium, nitrate et phosphate sont respectivement de 1,94, 0,38 et 0,06 $\mu\text{mol N/h/g PS}$ pour *G. bursa-pastoris* (Fig.2). Cette algue a été capable d'absorber, à la fin de l'expérience, presque 93% d'ammonium et 84% de nitrate présente dans la masse d'eau. En ce qui concerne les phosphates, l'absorption a été rapide et maximale pendant les premières 24 heures puis elle s'est ralentie pour réaliser un taux d'absorption de 70%.

Pouvoir épurateur et croissance de Rhodophyte *Gracilaria Bursa-Pastoris* et la chlorophyte *Ulva sp.* dans les effluents piscicoles

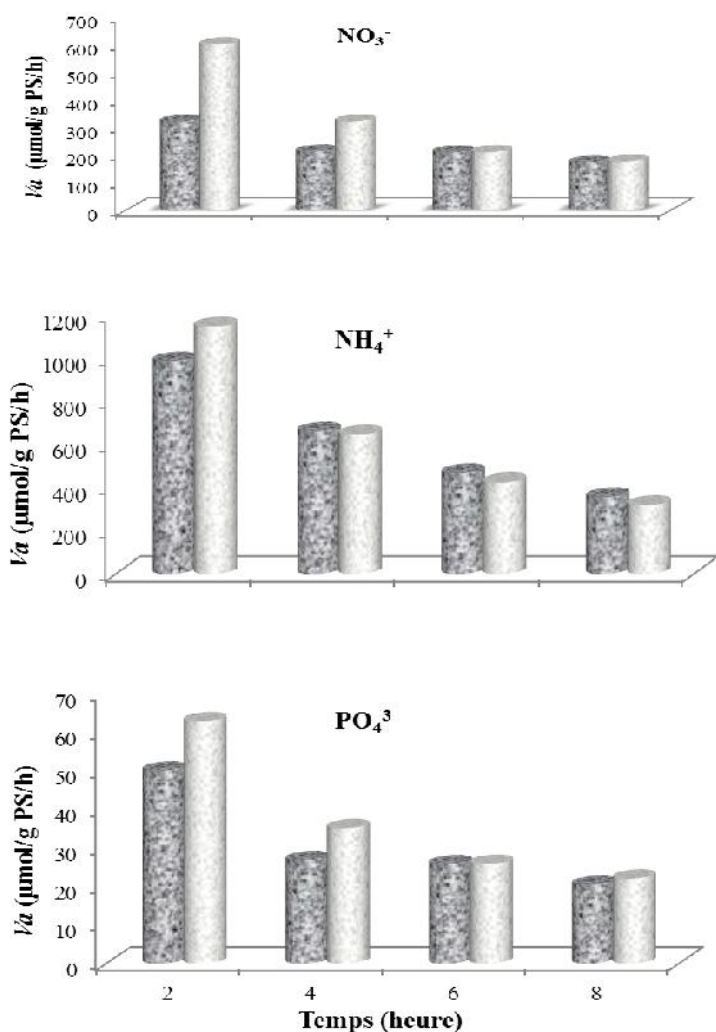


Figure 2. Evolution de la vitesse d'absorption d' NO_3^- , NH_4^+ et PO_4^{3-} par *Ulva sp.* et *Gracilaria bursa-pastoris* au cours du temps.

Toutes les deux espèces d'algue ont une préférence pour la forme d'azote ammoniacale que nitrique. En comparant les deux espèces entre elles, on constate qu' *Ulva sp.* est significativement plus performante, au seuil $p < 0,05$, dans l'absorption des trois nutriments étudiés (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-}).

Croissance et taux de croissance spécifique

Les biomasses des deux espèces d'algues ont vu une nette augmentation. A terme de 5 jours de culture, le taux de croissance spécifique moyen de l'algue

verte *Ulva* sp. ($2,74 \pm 0,98 \%J^{-1}$) est significativement ($p < 0,05$) plus élevé que celui de *G. bursa-pastoris* ($1,97 \pm 0,45 \%J^{-1}$) (Tab.2).

Tableau 2 : Evaluation des taux de croissance spécifique à terme de 5 jours de culture. (moyenne \pm erreur standard)

Algue	TCS (%J ⁻¹)
<i>Ulva</i> sp.	$2,74 \pm 0,98^a$
<i>G. bursa-pastoris</i>	$1,97 \pm 0,45^b$

DISCUSSION

Les macroalgues jouent un rôle important dans la distribution et la transformation de l'azote dans l'écosystème marin en raison de leur capacité d'absorption et de stockage de grande quantités d'azote (Hanisak, 1979 ; Ryther et al., 1981).

Les deux espèces d'algues étudiées ont montré une absorption rapide des différents nutriments testés (NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-}) au cours des deux premières heures.

Ces algues non alimentés préalablement en nutriments, ayant satisfait leurs besoins en nutriments pendant les deux premiers jours, ont diminué remarquablement leurs pouvoirs d'assimilation dans les jours suivants. Ryther et al., (1981) ont démontré que *Gracilaria* sp. non alimentés préalablement en azote, a pu assimiler rapidement l'azote ammoniacal de façon à doubler son contenu total en azote dans moins de 8 h. Ces même auteurs ont aussi observé que *Gracilaria tikvahiae* absorbe suffisamment d'azote au bout de 6h ce qui lui permet de survivre jusqu'à 2 semaines dans un milieu dépourvu d'azote.

L'ammonium et le nitrate sont considérés comme les sources d'azote les plus importantes pour les macroalgues étant donné qu'elles sont généralement les formes les plus facilement assimilées (Hanisak, 1983). Cependant selon les espèces, une de ces formes est préférée à l'autre (Ajjabi-Chebil, et al., 2005). *Ulva* sp. et *G. bursa-pastoris* ont montré une nette préférence pour l'utilisation de la forme ammoniacale. Cette préférence est expliquée par le fait que l'ammonium présente l'avantage d'être assimilé sans réduction au préalable (Smit, 2002).

Dans le présent travail, pour *Ulva* sp. et *G. bursa pastoris*, les taux d'absorption de l'ammonium ont été respectivement de 100 % et 86%. Des taux similaires ont été signalés pour *Gracilaria lemaneiformis* (Yang et al., 2006) et *Ulva rigida* (Pagand, 2000). Un taux plus bas a été obtenu par Marinho-Soriano et al. (2009) pour *Gracilaria birdiae*. Les facteurs liés aux paramètres environnementaux comme l'intensité lumineuse et l'agitation de la masse d'eau ainsi que des facteurs biotiques, comme l'âge de l'algue et le stockage de la matière nutritive dans les tissus algaux, peuvent avoir contribué à ces

différences.

La vitesse initiale d'absorption de l'ammonium déterminée pour l'espèce de gracilaire (1,94 $\mu\text{mol N/h/gPS}$) est de l'ordre de grandeur observé par certains auteurs travaillant dans les conditions de laboratoire (Jones, 1994 ; Jones et al., 2001). Jones et al. (2001), ont démontré que la vitesse d'assimilation de l'ammonium par *Gracilaria edulis* cultivée, sous des conditions expérimentales, dans une eau issue d'un élevage intégré de crevette et d'huître est de 2,18 $\mu\text{mol N/h /g PS}$.

Aussi bien pour *G. bursa-pastoris* qu'*Ulva sp.*, les taux d'absorption du nitrate ont été similaires à ceux obtenus par Jones et al. (2001) et Yang et al. (2006) pour d'autres espèces de gracilaire. Ces taux obtenus dans le présent travail sont légèrement plus faibles que ceux obtenus par Marinho-Soriano et al. (2009) pour *Gracilaria birdiae* (100%).

Les deux algues cultivées ont montré aussi une affinité pour le phosphore. En effet, le phosphore dissous disparaît rapidement du milieu de culture et semble s'accumuler rapidement dans les tissus algaux. Il est probable que cette rapidité soit liée à un système actif du co-transport des H_2PO_4 lors de la photosynthèse (Pagand, 1999). Ce phosphore pouvant être stocké dans la vacuole sous forme de polyphosphates. Il faut néanmoins préciser que l'augmentation du pH lors de l'activité photosynthétique peut être à l'origine de la précipitation des phosphates avec les carbonates de calcium. Cependant, le bullage permanent d'air appliqué généralement aux milieux de culture, empêche l'augmentation du pH par adjonction de CO_2 atmosphérique dans l'eau.

Marinho-Soriano et al. (2009) ont démontré que *Gracilaria birdiae* avait une grande affinité pour les ions PO_4 (93,5%). Des taux d'absorption de PO_4 plus faibles ont été obtenus dans la présente étude (83% par *G. bursa-pastoris* et 92% par *Ulva sp*)

La biomasse algale ainsi que TCS ont montré un accroissement notable. Ceci suggère que ces espèces croient bien dans les effluents piscicoles riches en substances nutritives. Les rapports de l'effet de substances nutritives sur la croissance algale sont parfois contradictoires et dépendent de l'espèce et de la physiologie algale. Le TCS obtenu sur toute la période expérimentale (1,97% J^{-1}) pour *G. bursa-pastoris* est légèrement plus faible que celui obtenu par Marinho-Soriano et al., 2009 avec *Gracilaria birdiae* (2,6% J^{-1}) dans les effluents de crevettes et encore plus faible avec *G. lemaneiformis* (3,95% J^{-1}) cultivé dans une ferme conchylicole (Guanzon et al., 2004). Le TCS pour *Ulva sp* (2,74% J^{-1}) est comparable à celui obtenu par Pagand et al., 2000 avec *Ulva rigida* dans des effluents piscicoles.

En fait, les valeurs de biomasse et de croissance des deux espèces d'algues obtenues dans cette étude sont des indicateurs de la possibilité de leur culture dans les effluents piscicoles. De plus, la biomasse récoltée peut fournir un autre produit à valeur ajoutée (phycocolloïdes, bioéthanol, aliment pour les animaux...etc.), offrant ainsi aux producteurs une nouvelle source économique.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude ont permis de démontrer qu' *Ulva* sp. et *G. bursa-pastoris* ont des capacités remarquables dans l'absorption des nutriments et peuvent être utilisées comme biofiltres dans le traitement des effluents piscicoles. D'autre part, la biomasse produite en tant que sous-produit de biorémédiation peut être réutilisée dans différents domaines assurant ainsi des avantages aussi bien économiques et qu'environnementaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AJJABI CHEBIL L., ROMDHANE M.S., EL ABED A. (2005). Etude comparative de l'absorption de l'azote par deux espèces d'algues rouges : *Gracilaria verrucosa* (Hudson Papenfuss, 1950 et *Gracilaria bursa-pastoris* (Gmelin) Silva, 1952. Bulletin de l'Institut National Sciences et Technologies de la mer Salammbo, N°32 ; 99-106.
- CHOPIN T., BUSCHMANN A.H., HALLING C., TROELL M., KAUTSKY N., NEORI A., KRAEMER G., ZERTUCHE-GONZALEZ J., YARISH C., NEEFUS C. (2001). Integrating seaweeds into aquaculture systems : a key towards sustainability, *Journal of Phycology*, N°37, 975-986.
- ELIA C.F. et DEBOER J.A. (1978). Nutritional studies of two red algae. II. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. *Journal of Phycology*, N°14, 266-272.
- GUAZON J.N.G., CASTRO-MILLARE T.R., LOURQUE F.M. (2004). Polyculture of milkfish *Chanos chanos* (Forsskal) and the red algae *Gracilariopsis bailinae* (Zang et Xia) in brackish water earthen ponds. *Aquaculture Research*, N°35, 423-431.
- HANISAK M.D (1979). Growth patterns of *Codium fragilis* sp. *tomentosoides* in response to temperature, irradiation, salinity and nitrogen source. *Marine Biology*, N°50, 319-332.
- HANISAK M.D (1983). The nitrogen relationships of marine macroalgae. In Carpenter E.J. and Capone D.G. (Eds). "Nitrogen in the marine Environment". Academic Press Inc.
- HERNANDEZ I., PÉREZ-PASTOR A., VERGARA J.J., MARTÍNEZ-ARAGÓN J.F., FERNÁNDEZ-ENGO M.Á, PÉREZ-LLORÉNS J.L. (2006). Studies on the biofiltration capacity of *Gracilariopsis longissima*: From microscale to macroscale. *Aquaculture*, 252, 1-1, 43-53.
- JONES A.B., DENNISON W.C., PRESTON N.P. (2001). Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. *Aquaculture*, N°193, 155-178.
- JONES A.B., STEWART G.R., DENNISON W.C. (1996). Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicators using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta), *Journal of Phycology*,

N°32: 757-766.

- JONES A.B. (1994). Influence of nitrogen source and availability on amino acids, pigments and tissue nitrogen of *Gracilaria edulis* (Rhodophyta). Thesis for the degree of the Bachelor of Science. University of Queensland, Australia, 235 pp.
- MARINHO-SORIANO E., NUNES S.O., CARNEIRO M.A.A., PEREIRA D.C. (2009). Nutrients removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. Biomass and Bioenergy, N°33, 327-331.
- NEORI A., CHOPIN T., TROELL M., BUSCHMANN A.H., KRAEMER G.P., HALLING C., SHPIGEL M., YARISH C. (2004). Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture, Aquaculture, N°231, 361-391.
- NEORI A., RAGG N.L.C., SHPIGEL M. (1998). The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system, Aquaculture Engineering, N°17, 215-239.
- PAGAND P., BLANCHETON J.P., LEMOALLE J., CASELLAS C. (2000). The use of high rate algal ponds for treatment of marine effluent from recirculating fish rearing system. Aquaculture Research, N°31, 729-736.
- QIAN P.Y., WU C.Y., WU M., XIE Y.K. (1996). Integrated cultivation of the red alga *Kappaphycus alvarezii* and the pearl oyster *Pinctada martensis*, Aquaculture, N°147, 21-35.
- RYTHER J.H., CORWIN N., DEBUSK T.A., WILLIAMS L.D. (1981). Nitrogen uptake and storage by red algae *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan, 1979). Aquaculture, N°26, 107-115.
- SMIT A.J. (2002). Nitrogen uptake by *Gracilaria gracilis* (rhodophyta): Adaptation to a temporally variable nitrogen environment, Botanica Marina, N°45, 196-209.
- TROELL M., HALLING C., NEORI A., CHOPIN T., BUSHMANN A.H., KAUTSKY N., YARISH C. (2003). Integrated mariculture: asking the right questions, Aquaculture, N°226, 69-90.
- YANG Y.F., FEI X.G., SONG J.M., HU H.Z., WANG G.C., CHUNG I.K. (2006). Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effects on nutrient removal in Chinese coastal waters, Aquaculture, N°254, 1-4, 248-255.