Jour. Ivoir. Océanol. Limnol. Abidjan
Vol.3, n°1, Janvier 1998 : 17-24

TOXICITE DE L'AMMONIAQUE CHEZ LE SILURE AFRICAIN *HETEROBRANCHUS LONGIFILIS*

TOXICITY OF AMMONIA IN THE AFRICAN CATFISH, *HETEROBRANCHUS LONGIFILIS*

Par

METONGO B. S., P. LUQUET et Z. J. OTEME
Centre de Recherches Océanologiques
BP V 18 Abidjan, Côte d'Ivoire

RESUME

La toxicité aiguë de l'ammoniac (NH_3) à l'égard du silure Africain (*Heterobranchus longifilis,* Valenciennes 1840) a été étudiée à l'aide de tests statiques. Deux cohortes de poissons à l'état post larvaire, de poids moyens respectifs de 100 et de 800 mg, ont été utilisés. Les tests ont été effectués avec comme source primaire d'agents toxiques des solutions de chlorure d'ammonium (3 essais de 24 h) et d'ammoniac à 25% (1 essai de 48 h). Les concentrations létales médianes (CL50, 24 h) ont varié de 0,98 à 1,65 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$. La comparaison des deux sources d'agents toxiques indique que l'apport de l'azote ammoniacal ($N\text{-}NH_3$) sous forme de solution de chlorure d'ammoniac (NH_4Cl) semble plus toxique que l'utilisation directe d'une solution d'ammoniac à 25% (NH_3, 25%).

Mots-clés : *Heterobranchus longifilis,* Ammoniac, Toxicité aiguë, CL50.

ABSTRACT

The acute toxicity of ammonia to the African catfish (*Heterobranchus longifilis*, Valenciennes 1840) was studied using static bioassay systems. Two batches of fry with a mean weight of 100 and 800 mg respectively, were used. The toxicants sources tested were the ammonium chloride solutions (three 24-hour bioassays) and 25% ammonia solutions (one 48-hour bioassay). The 24-hour median lethal ammonia concentrations ranged from 0,98 to 1,65 mgl^{-1} NH_3-N. When compared the two toxicants on the basis of un-ionized ammonia nitrogen (NH_3-N), ammonium chloride solutions appeared more toxic than 25% ammonia solutions.

Key-words : *Heterobranchus longifilis,* Ammonia, Acute toxicity, LC50.

INTRODUCTION

Les composés azotés ont été identifiés comme étant les sous-produits métaboliques majeurs et toxiques en pisciculture, l'ammoniaque étant le principal composé azoté excrété par le poisson et qui peut atteindre des concentrations très élevées (Colt et Tchobanoglous, 1976; Tomasso et al., 1980). Il a été montré que seule la forme non ionisée de l'ammoniaque ($N\text{-}NH_3$) est toxique pour le poisson alors que la forme ionisée ($N\text{-}NH_4^+$) l'est peu ou pas du tout (Wuhrmann et Woker, 1949; Colt et Tchobanoglous, 1976; Robinette, 1976; Thurston et al., 1981; Broderius et al., 1985; Sheehan et Lewis, 1986).

L'exposition sublétale du poisson à l'ammoniac cause un dommage dégénératif des branchies et des reins et réduit le taux de croissance (Smart, 1976; Thurston et al., 1978; Colt et Tchobanoglous, 1978), augmente la consommation de l'oxygène, le taux respiratoire et l'émission d'urine (Smart, 1978; Lloyd et ORR, 1969). Bien que beaucoup de tests de toxicité aiguë de l'ammoniac aient été effectués à l'égard de certains poissons tels que la truite arc-en-ciel *Salmo clarki et Salmo gairdneri* (Thurston et al., 1978; Thurston et Russo, 1983), le poisson chat américain *Ictalurus puntatus* (Knepp et Arkin, 1973, Colt et Tchobanoglous, 1976; Robinette, 1976), le vairon nigaud *Pinephales promelas* (Thurston et al., 1983), des disparités existent quant à la connaissance de la concentration en NH_3 dite de "sécurité". Forsters et Smart (1979) ont montré qu'elle variait de 0,0125 à 0,10 $mg.l^{-1}$

Une étude menée à la station de Layo sur le silure *Heterobranchus longifilis* (Luquet *et al.*, 1993) a montré qu'une concentration de 0,078 ppm de NH_3 ne provoque pas de mortalité dans des bassins sans renouvellement d'eau et que les performances zootechniques ne sont pas affectées même dans les conditions d'oxygénation limites voire anoxiques.

Le présent travail a pour but de déterminer la dose létale médiane (CL50) de l'ammoniac ($N\text{-}NH_3$) chez les stades précoces du silure (*Heterobranchus longifilis*) à l'aide de tests statiques. L'opportunité d'une telle étude procède du manque de données sur la toxicité de l'ammoniac chez ce silure Africain qui présente de grandes potentialités et par conséquent un intérêt certain pour la pisciculture: potentiel de croissance remarquable (10 $g.j^{-1}$), grande robustesse, capacité à résister aux conditions hypoxiques grâce à son organe de respiration aérienne suprabranchial, indices de consommation de 1,5 à 2,0, reproduction quasi-continue, fécondité très élevée (Legendre, 1983; Hem *et al.*, 1994; Otémé et Luquet, 1994).

1 - MATERIEL ET METHODES

Quatre essais successifs ont été réalisés. Deux sources primaires d'ammoniac ont été utilisés:

- une solution de NH_3 à 25%, au cours de l'essai 1,
- une solution de chlorure d'ammonium au cours de 3 autres essais.

Les poissons tests sont des silures prélevés au cours de la phase d'élevage post larvaire. Deux cohortes de poissons d'un poids moyen de 100 mg et de 800 mg ont été utilisés. Les conditions expérimentales retenues pour chacun des essais sont rapportées dans le tableau 1.

Les quatre tests de toxicité ont été réalisés en conditions statiques en eau stagnante, en veillant à ce que la teneur en oxygène ne constitue pas un facteur limitant.

Cinq concentrations de l'agent toxique à tester ont été utilisées à raison de trois enceintes expérimentales par niveau d'intoxication ainsi qu'un système témoin. Dix poissons ont été introduits par enceinte pour les trois premiers tests et cinq pour le dernier essai. Trois types d'enceintes ont été utilisées:

- des aquariums de 50 litres renfermant 33 litres de solution toxique pour l'essai 1.

Tableau 1 : Caractéristiques des conditions expérimentales au cours des quatre essais.

Experimental conditions during the four trials

N° Essai	Poids moyen (g)	Source d'ammoniac	Volume du milieu
1	0,1	NH_3 25%	33 litres
2	0,1	NH_4Cl	300 ml
3	0,1	NH_4Cl	300 ml
4	0,8	NH_4Cl	10 litres

- des cuvettes en plastique de 1 litre renfermant 300 ml de solution pour les essais 2 et 3

- des seaux de 15 litres dont 10 litres de volume utile pour l'essai 4.

Mesure des principaux paramètres

Le pH, la température et l'oxygène dissous dans les enceintes expérimentales ont été mesurés au début de l'essai et à chaque 24 heures pour tous les tests. L'oxygène dissous a été mesuré au moyen d'un oxymètre YSI (modèle 58) étalonné à l'air. Le pH a quant à lui été déterminé avec un pH-mètre ORION (modèle SA 720) et un pH-mètre METROHM (modèle 605). La température a été mesuré au moyen d'un thermomètre MINITHERM (modèle HI 8751).

Intoxication

L'agent toxique a été introduit en une dose unique en début d'expérience. Les solutions tests ont été ensuite brassées avec une baguette en verre afin de disperser le produit. Les poissons, après une période d'acclimatation d'au moins deux jours, ont été ensuite introduits dans le milieu.

Des tests préliminaires ont été nécessaires pour déterminer la gamme de concentrations encadrant les concentrations équivalentes à 0% et 100% de mortalité. Le nombre de poissons morts ainsi que l'heure correspondante ont été relevés régulièrement.

Détermination des concentrations en $N\text{-}NH_3$ et de la CL50

L'azote ammoniacal total ($N\text{-}NH_{3,4}$) a été dosé selon la méthode modifiée de Koroleff (1969) et au moyen d'un spectrophotomètre BECKMAN (modèle DU 64). Les concentrations en ammoniac ($N\text{-}NH_3$) ont été calculées selon la méthode décrite par Emerson *et al.* (1975). Les valeurs de la CL50 ont été déterminées par la méthode graphique arithmétique au bout de 24 heures ou de 48 heures d'essai.

Analyse statistique

Deux méthodes d'analyse statistique ont été utilisées pour examiner les effets des différentes concentrations tests utilisées dans chaque essai. L'analyse de variance (ANOVA) a permis de déterminer s'il y a une différence statistique dans le nombre de survivants entre les différentes concentrations de chaque essai.

Le test de Newman-Keuls a été ensuite utilisé pour comparer deux à deux les concentrations afin de déterminer lesquelles des concentrations ont des effets significativement différents des autres.

2 - RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 2 rapporte les valeurs moyennes des caractéristiques du milieu au cours des 4 essais. Il en ressort en particulier que, bien que les essais aient été réalisés en eau stagnante, la teneur en oxygène reste proche de la saturation.

Le nombre de poissons survivants ainsi que les valeurs de la CL50 en fonction du temps d'exposition apparaissent dans le tableau 3.

Aucune mortalité n'a été observée chez les témoins au cours des différents essais.

Tableau 2 : Valeurs moyennes de pH, de la température, de l'oxygène dissous lors des quatre essais.

Average of pH, temperature and dissolved oxygen concentrations of the water during the trials.

Essai n°	Poids (g)	Durée (heure)	pH moyen	T°c	Oxygène ($mg.l^{-1}$)
1	0,10	48	7,2	27,6	6,55
2	0,10	24	6,8	28,0	7,05
3	0,10	24	7,1	28,0	5,36
4	8,80	24	7,1	28,1	6,40

Pour tous les essais, l'analyse de variance indique que les effectifs de survivants obtenus à partir des différentes concentrations de chaque essai sont significativement différents ($p<0,05$). Il ressort, par contre, du test de Newman-Keuls les conclusions suivantes:

- pour l'essai n°1, il apparaît deux groupes différents de concentrations. Le premier groupe est constitué du témoin, de 0,76 et de 1,20 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$ et le second des trois dernières concentrations à savoir 2,28; 4,17 et 7,45 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$. A l'intérieur de ces deux groupes respectifs, les effets de ces concentrations sur la survie des poissons ne sont pas significativement différents ($p<0,05$).

- pour l'essai n°2, seuls les effets des concentrations 1,44; 1,57 et 1,68 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$ sur la mortalité des poissons ne sont pas significativement différents ($p<0,05$). Pour tous les autres résultats on observe une différence significative.

- pour l'essai n°3, les effets des concentrations 0 (le témoin), 0,92 et 1,04 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$ sur la survie des poissons ne sont pas significativement différents entre eux ainsi que pour 1,37 et 1,77 $mg.l^{-1}$ ($p<0,05$). Tous les autres résultats sont significativement différents.

- pour l'expérience n°4, les résultats pour le témoin et 0,90 $mg.l^{-1}$ ne sont pas significativement différents ainsi que pour les concentrations suivantes: 1,03; 1,16; 1,31 et 1,4 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$. Pour toutes les autres concentrations ou groupes de concentrations, les effets sont significativement différents ($p<0,05$).

Ces résultats montrent que pour des poissons de 100 $mg.l^{-1}$ les valeurs de la CL5O (24h) varient de 1,20 à 1,65 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$ alors qu'elle est de 0,98 $mg.l^{-1}$ de $N\text{-}NH_3$ pour les poissons de 800 mg.

Dans le tableau 4 ces valeurs sont comparées à celles relevées dans la littérature chez le poisson-chat américain, *Ictalurus punctatus*.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus chez le poisson-chat américain par Sheehan et Lewis (1986) et par Tomasso et al. (1980) à des pH pratiquement identiques. Par contre les valeurs de la CL50 (24 h) de la présente étude sont plus faibles que celles relevées chez le poisson-chat américain par Colt et Tchobanoglous (1976) et Robinette (1976).

Nous remarquons que les valeurs de la CL50 (24 h) diffèrent significativement d'un agent toxique à l'autre. La toxicité du chlorure d'ammonium (NH_4Cl) semble plus élevée que celle de la solution d'ammoniac à 25%. Sheehan et Lewis (1986) ont relevé une différence significative entre la toxicité du chlorure d'ammonium et celle du sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$ chez le poisson-chat américain, la concentration létale médiane pour NH_4Cl étant plus faible que celle relevée pour le sulfate d'ammonium. Par contre Thurston et Russo (1983) n'ont relevé aucune différence significative entre la toxicité des deux mêmes sels d'ammonium chez la truite arc-en-ciel. Cette différence dans la toxicité des deux produits utilisés pourrait s'expliquer par la différence de sensibilité aux effets de la salinité sur les deux espèces de poisson testées et aux conditions expérimentales (niveau de pH).

Tableau 3 : Nombre de survivants pour les différentes concentrations d'azote ammoniacal non ionisé ($N\text{-}NH_3$) et valeurs de la CL50 ($mg.l^{-1}$) en fonction du temps d'exposition chez le silure, *H. longifilis.*

Number of surviving individuals at different NH_3-N concentrations and values of the LC50 ($mg.l^{-1}$) as a function of the exposure time in the catfish, *H. longifilis.*

	Temps (h)	Témoin	0,76	1,20	2,28	4,17	7,45	CL50
Essai N°1	6	30	30	28	8	4	0	1,90
	7	30	30	25	8	1	0	1,82
	9	30	30	24	7	0	0	1,78
	24	30	29	21	7	0	0	1,65
	48	30	29	19	7	0	0	1,56

	Temps (h)	Témoin	1,17	1,28	1,44	1,57	1,68	CL50
Essai N°2	16	30	23	11	5	2	0	1,24
	22	30	21	10	0	0	0	1,23
	24	30	21	10	0	0	0	1,23

	Temps (h)	Témoin	0,92	1,04	1,16	1,37	1,77	CL50
Essai N°3	6	30	30	29	27	16	5	1,40
	7	30	30	29	26	11	1	1,31
	22	30	29	27	18	3	1	1,20
	24	30	29	27	18	3	1	1,20

	Temps (h)	Témoin	0,90	1,03	1,16	1,31	1,40	CL50
Essai N°4	6	15	14	12	8	8	5	1,20
	7	15	14	10	6	2	2	1,11
	22	15	13	6	1	0	1	1,00
	24	15	13	5	1	0	1	0,98

Il a été montré qu'un pH élevé dans le milieu d'élevage de poisson peut être directement létal pour les petits poissons en plus de son effet d'augmenter la proportion d'ammoniac (Tomasso *et al.*, 1980; Bergerhouse, 1993). Cette toxicité du pH a été relevée chez des ingerlings de *Lepomis macrochirus* à pH 10,5 (Trama, 1954) chez les truites *Oncorhynchus mykiss* à pH 9,86 (Jordan et Lloyd, 1964) et *Salvelinus fontinalis* à pH 9,8 (Daye et Garside, 1975). Les valeurs moyennes de pH des quatre essais effectués dans la présente étude ne varient que de 6,8 à 7,2 et sont donc faibles par rapport à la valeur limite létale supérieure de pH relevée dans la littérature (9,8 à 11).

Tableau 4 : Comparaison des concentrations létales médianes de N-NH_3 chez le silure, *H. longifilis* et le poisson-chat américain, *Ictalurus punctatus.*

Comparison of NH_3-N lethal median concentrations in the African catfish, *H. longifilis* and in the American catfish, *Ictalurus punctatus.*

Durée du test	Poids (g)	pH	T°c	N-NH_3 CL50	Espèce	Référence
24 h	0,10	7,2	27,6	1,65	Silure, *H. longifilis*	Présente étude
"	"	6,8	28,0	1,23	"	
"	"	7,1	28,0	1,20	"	
"	0,80	7,1	28,1	0,98	"	
48 h	0,10	7,2	27,6	1,56	"	
24 h		7,0	21-25	1,39	Poisson-chat américain, *I. punctatus*	Tomasso et al., 1980
"		8,0		1,82		
24 h	16	6,0		0,74	"	Sheehan et Lewis, 1986
"		7,2		1,04	"	
"		8,0		1,45	"	
24 h	3-4	8,6-8,8	22	2,50	"	Colt et Tchobanoglous, 1976
"			26	2,58	"	
"			30	2,68	"	
24 h		8,5-8,9	25	2,35	"	Robinette, 1976

Il a été reporté, par ailleurs, qu'une concentration réduite d'oxygène dissous augmente la toxicité de l'ammoniac à l'égard des poissons et que le degré de réponse à une concentration donnée d'ammoniac est corrélé à la concentration de l'oxygène (Lloyd, 1961; Selesi et Vamos, 1976; Alabaster *et al.*, 1979; Thurston et al., 1981).

Les teneurs en oxygène dissous de l'eau relevée dans nos enceintes expérimentales ont été supérieures à 5 $mg.l^{-1}$ et sont donc plus élevées que la concentration d'oxygène dissous limite de survie (2,6 mgl^{-1}) chez la truite arc-en-ciel qui est considérée comme le poisson le plus sensible aux effets combinés de la concentration réduite d'oxygène dissous et de l'ammoniac (Thurston et al., 1981).

En outre le silure *Heterobranchus longifilis* est un poisson à respiration aérienne ce qui lui permet de s'affranchir de la teneur en oxygène de l'eau et de s'adapter aux milieux anoxiques (Luquet et al., 1993). D'autre part, bien que la toxicité de l'ammoniac chez le poisson soit plus élevée aux plus faibles températures (Colt et Tchobanoglous, 1976; Thurston et Russo, 1983), aucune influence de la température n'a été relevée au cours des présents tests.

BIBLIOGRAPHIE

Alabaster J.S., D.G. Shurben and G. Knowles, 1979. The effect of dissolved oxygen and salinity on the toxicity of ammonia to smolts of salmon, *Salmo salar* L., J. Fish. Biol. 15:705-712

Bergerhouse D.L., 1993. Lethal effects of elevated pH and ammonia on early life stages of hybrid striped bass. J. Applied Aquaculture 2:81-100

Broderius S., R. Drummond, J. Fiandt and C. Russom, 1985. Toxicity of ammonia to early life stages of smallmouth bass at four pH values. Environm. Toxicol. Chem., 4:87-96

Colt J. and G. Tchobanoglous, 1976. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish *(Ictalurus punctatus)*. Aquaculture 8:209-224.

Colt J. and G. Tchobanoglous, 1978. Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*,to ammonia: effects on growth and survival. Aquaculture, 15: 353-372

Daye P.G. and E.T. Garside, 1975. Lethal levels of pH for brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). Can. J. Zool., 53:639-641

Emerson K., R.C. Russo, R.E. Lund and R.V. Thurston, 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J. Fish. Res. Board. Can., 32:2379-2382.

Forsters R.M. and G.R. Smart, 1979. Water economy in aquaculture. In: Power plant waste heat utilization in aquaculture. (Godefriaux B.L. ed.), Allander, Osmund & CO, Montclair, 3-11

Hem S., M. Legendre, L. Trébaol, A. Cissé, Z.J. Otémé et Y. Moreau, 1994. L'aquaculture. In: Dufour P., J.R Durand et S.G. Zabi (eds). Environnement et ressources aquatiques de Côte d'Ivoire. 2- Les milieux saumâtres: l'exemple de la lagune Ebrié, 455-505.

Jordan D. H. M. and R. Lloyd, 1964. The resistance of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and roach (Rutilus rutilus L.) to alkaline solutions. International Journal of Air and Water Pollution 9:89-91

Knepp G.L. and G.F. Arkin 1973. Ammonia toxicity levels and nitrite tolerance of channel catfish. Prog. Fish-Culturist. 35:221-224.

Koroleff F., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. ICES, C.M. 1969/C: 9 Hydrr. Comm.

Legendre M., 1983 - Examen préliminaire des potentialités d'un silure africain *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) pour l'aquaculture en milieu lagunaire. Doc. Sc. Cent. Rech. Océanogr. Abidjan, 14:97-107.

Lloyd R., 1961. Effects of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). J. Exp. Biol. 38:447-455.

Lloyd R. and L.D. Orr, 1969. The diuretic response by rainbow trout to sub-lethal concentrations of ammonia. Water Res. 3:335-344

Luquet P., Z.J. Otémé et S.B. Métongo, 1993. Elevage du silure *Heterobranchus longifilis* Val. en bassins sans renouvellement d'eau: effets de l'évolution de quelques paramètres chimiques de l'eau sur la croissance et la survie. JIOL, 2(2):43-53.

Otémé Z.J. et P. Luquet, 1994. Evolution des performances zootechniques et rendement en muscle au cours de la croissance chez le silure *Heterobranchus longifilis*, Atelier International sur les Bases Biologiques des Silurformes. Montpellier, France, 24-27 mai 1994.

Robinette H.R., 1976. Effect of selected sublethal levels of ammonia on the growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Prog. Fish-Culturist, 38:26-29.

Selesi D. and R. Vamos, 1976. Factors affecting the lethal concentration of ammonia in fish ponds. Ichthyologia Sarajeva), 8:115-121.

Sheehan R. J. and W.M. Lewis, 1986. Influence of pH and ammonia salts on ammonia toxicity and water balance in young channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc. 115:891-899

Smart G.R. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Biol., 8:471-475.

Smart G. R., 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. J. Fish. Biol. 12:93-104.

Thurston R.V., R.C. Russo and C.E. Smith, 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. Trans. Am. Fish. Soc., 107:361-368

Thurston R. V., G.R. Phillips, R.C. Russo and S.M. Hinkins, 1981. Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38:983-988.

Thurston R. V. and R. C. Russo, 1983. Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc. 112:696-704

Thurston R.V., R.C. Russo and G.R. Phillips, 1983. Acute toxicity of ammonia to fathead Minnows. Trans. Am. Fish. Soc., 112:705-711.

Tomasso J.R., C. A. Goudie, B. A. Simco and K.B. Davis, 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc. 109:229-234.

Trama F. B., 1954. The acute toxicity of copper to the common bluegill (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). Proc. Acad. Nat. Sci., Philadelphia, 106:185-205.

Wuhrmann K. and H. Woker, 1949. Experimentelle Untersuchungen uber die Ammoniak-und Blausäurever-giftung. Schweiz. Z. Hydrol., 11:210-244.

* *
*