



## ETUDE de Didier Pruneau.

Membre ANPER. Pharmacologue et Docteur en Biochimie appliquée.

### **L'ammoniaque des lisiers, suspect numéro 1 dans l'enquête sur l'assassin des rivières Doubs, Loue, Bienne, Cusancin et Dessoubre.**

Il est maintenant établi que, depuis cinq ans au moins, les rivières comtoises ont vu s'effondrer leur population de truites et d'ombres jusqu'à approcher l'extinction des souches indigènes comme par exemple sur le Doubs. La maladie responsable de ces mortalités massives est un champignon du nom de *Saprolegnia parasitica*, qui se développe sur la peau des poissons, l'érode et la ronge, s'étend sur tout le corps, entraînant rapidement affaiblissement général et la mort.



Il est bien admis que ce champignon est normalement présent dans la plupart des rivières mais n'a pas un caractère pathogène, du moins lorsque les poissons sont en bonne santé. Il existe donc un ou des facteurs conférant au champignon permissivité et pathogénicité. Ma démarche au cours de cette enquête a été simple. Elle a tout d'abord consisté à réunir les éléments communs à l'origine de la pollution des différents cours d'eau franc-comtois, à rejeter ainsi certains éléments discordants et à identifier d'éventuels complices.

Premier constat : toutes les rivières affectées ont leur source en milieu karstique. L'eau qui les alimente provient des plateaux jurassiens largement couverts de prairies et pâtures. Il est bien connu qu'en raison de l'acidité de l'eau de pluie, ces plateaux de roches calcaires sont devenus, au fil du temps de véritables gryères et que l'eau s'y infiltre extrêmement rapidement. Un bon orage sur le plateau et une heure après le Dessoubre coule boueux au Cirque de Consolation.



Deuxième constat : les plus gros épisodes de mortalité se produisent entre Janvier et Mai.

Troisième constat : les parties très amont des rivières peuvent être touchées par Saprolegnia. Ainsi la mortalité sur le Dessoubre était très élevée en amont de Gigot alors qu'il y a très peu d'habitation jusqu'à la source. De même, en 2016, voit-on des truites agonisantes au niveau de Morez sur la haute Bienne qui a une largeur n'excédant pas cinq mètres.

Sans en minimiser leur impact, j'exclurais donc les pollutions domestiques et industrielles, comme facteur primo-déclenchant, les effluents d'égouts et leurs rejets jouant plutôt un rôle d'amplificateur de Saprolegniose. En effet, si tel était le cas, il n'y aurait pas de poissons malades dans des secteurs amont exempts de pollution domestique ou industrielle. De plus, pourquoi l'apparition de Saprolegniose ne serait-elle que saisonnière (fin d'hiver et début de printemps), période où les débits sont généralement élevés ? Les rejets de polluants domestiques et industriels ont, hélas, lieu toute l'année et devraient produire leurs effets plutôt en été, lorsque les rivières sont à l'étiage.

Un seul responsable vient, si je puis dire, fédérer tous ces éléments ; les lisiers porcins et bovins, et plus précisément, l'ammoniaque aqueux qu'ils contiennent. Les porcs étant généralement élevés sur caillebotis, le lisier, élément liquide constitué d'excrément et urine, est stocké durant tout l'hiver dans des cuves. Rappelons qu'il y a environ 613 000 bovins et 114 000 porcs en Franche-Comté, l'élevage du porc étant surtout concentré dans le Doubs.



Ainsi, les épandages de lisier se font dès Février sur des prairies parfois encore enneigées dans tous les cas où la croissance de l'herbe est à peine commencée. Sans aller dans les détails du schéma ci-dessous relatif au cycle de l'azote provenant de lisier, j'attire votre attention sur un élément essentiel :  $\text{NH}_3$ . Il s'agit de l'ammoniac qui est un gaz mais se dissolvant très bien dans l'eau pour donner l'ammoniaque, solution aqueuse basique de l'ammoniac. Le gaz ammoniac produit l'odeur désagréable et tenace des lisiers.

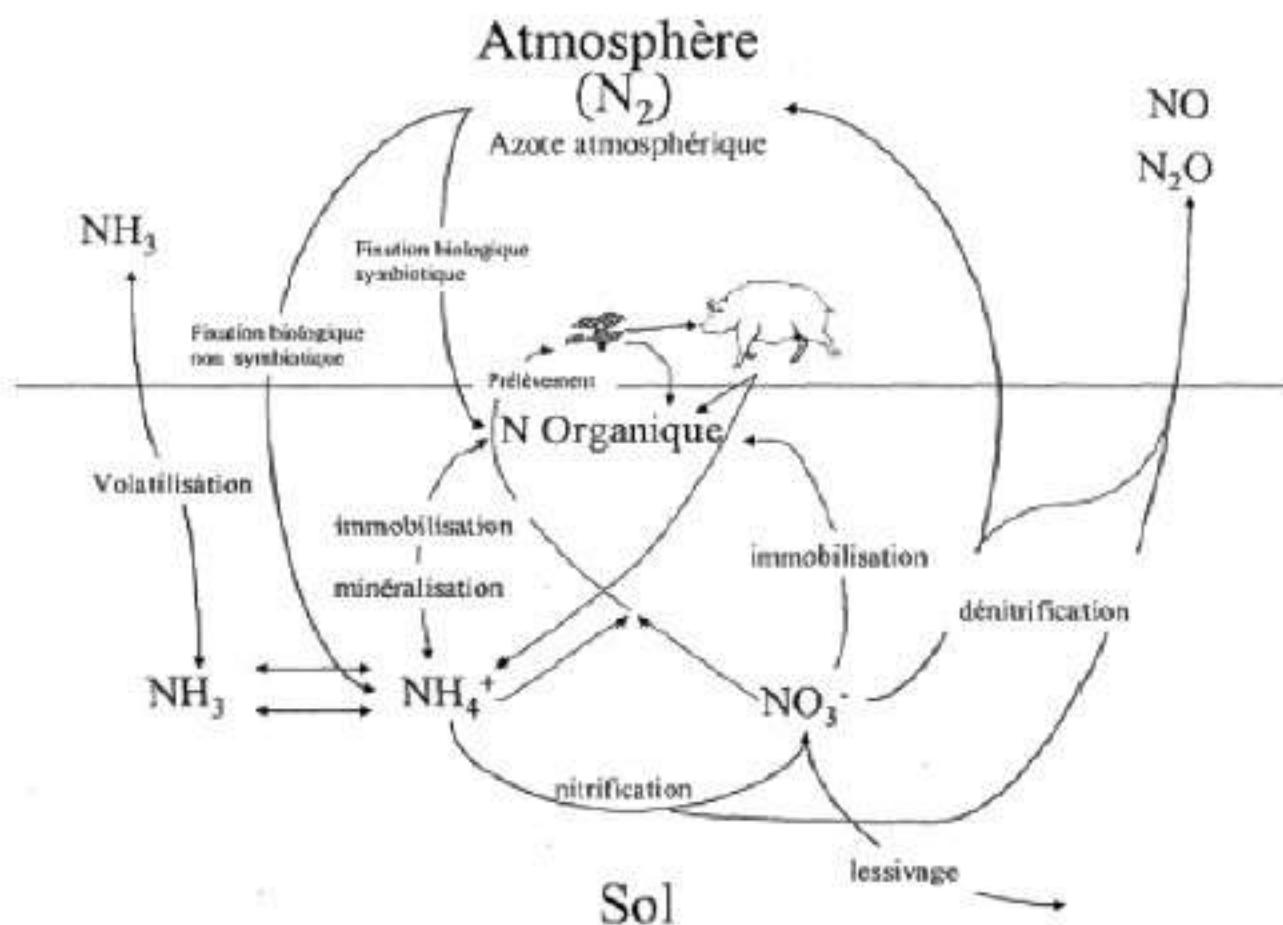
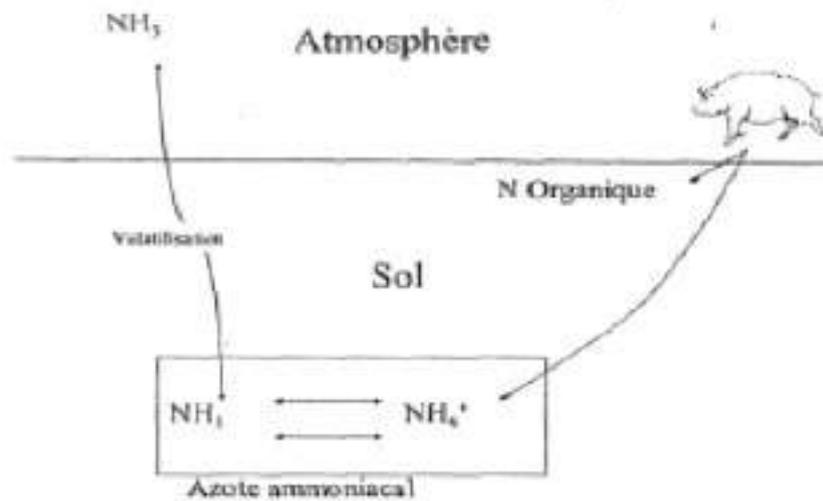


Figure 1: Cycle de l'azote simplifié



**Figure 2: Volatilisation de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) provenant des lisiers porcins**

La volatilisation de l'ammoniac est permanente (Figure 2) et dépend du pH et de la température. Un pH alcalin favorise la forme  $\text{NH}_3$  par rapport à la forme  $\text{NH}_4^+$  et augmente les concentrations en  $\text{NH}_3$  aqueux et gazeux. Le pH du lisier augmente avec son âge donc, avec la durée de stockage. La volatilisation s'accroît avec la température ; ainsi, les températures froides de fin d'hiver/début de printemps en Franche-Comté favorisent la forme aqueuse de l'ammoniac.

Autre élément important, la pluie. En effet, il convient d'observer que les mortalités piscicoles ne semblent pas liées à des périodes de sécheresse. Dans ce sens, la Bienne a connu une très grosse mortalité en 2016 alors que les précipitations ont été très importantes. Une pluie abondante entraîne une infiltration de l'azote ammoniacal en profondeur, diminue l'exposition du lisier à l'atmosphère et réduit la volatilisation (Plet et Tanguy, 1979).

Ceci est d'autant plus vrai en plateau karstique jurassien que l'infiltration des lisiers est extrêmement rapide, laissant très peu de temps à la volatilisation de l'ammoniac. Observons qu'en Bretagne où la production porcine et l'épandage de lisier associé sont très importants, il n'y a, à ma connaissance, pas d'épidémie de saprolégniose.

La nature du sol y est très différente, plutôt acide et beaucoup plus filtrante. Enfin, et ce n'est pas anecdotique, les STEPs sont, lors des épisodes pluvieux et en raison des réseaux unitaires, complètement débordées et rejettent d'énormes quantités de polluants venant renforcer la nocivité des lisiers.



Revenons à *Saprolegnia*. Les facteurs prédisposant à l'infection du derme par mycose chez les salmonidés incluent la maturation sexuelle, les lésions cutanées, le stress et la présence d'autres agents pathogènes (Pickering et Willoughby, 1982).

De plus, Toor et al. (1983) ont montré que des quantités élevées de lisier prédisposaient les poissons au développement de septicémie hémorragique et de saprolégniose. Des résultats complémentaires suggèrent que des polluants spécifiques dans les lisiers sont à l'origine de ces effets (Carballo et Munoz, 1991).

En 1995, une étude a montré que quatre composés, à savoir l'ammoniaque, le cuivre, le nitrite et le cyanure augmentaient la propension à déclencher une saprolégniose chez la truite arc-en-ciel, l'ammoniaque étant le composé le plus favorisant (Carballo et al., 1995).

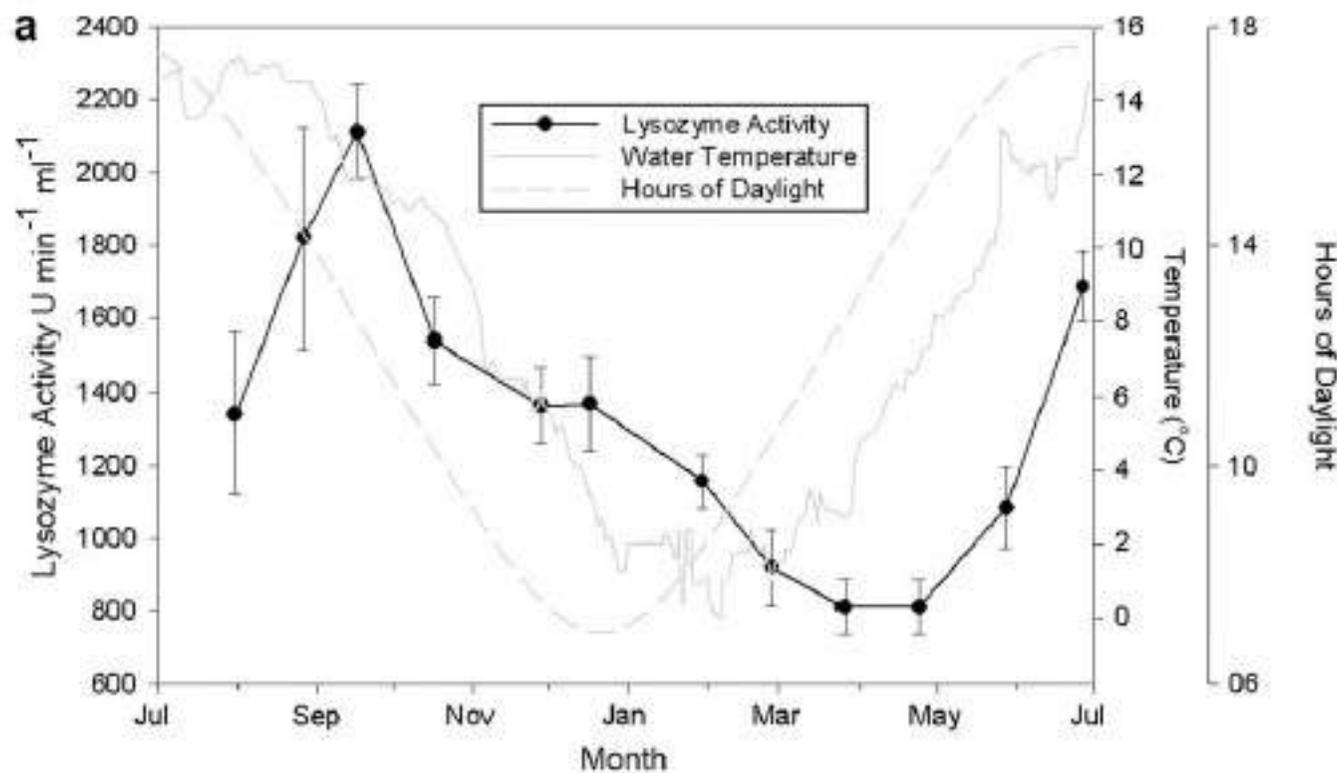
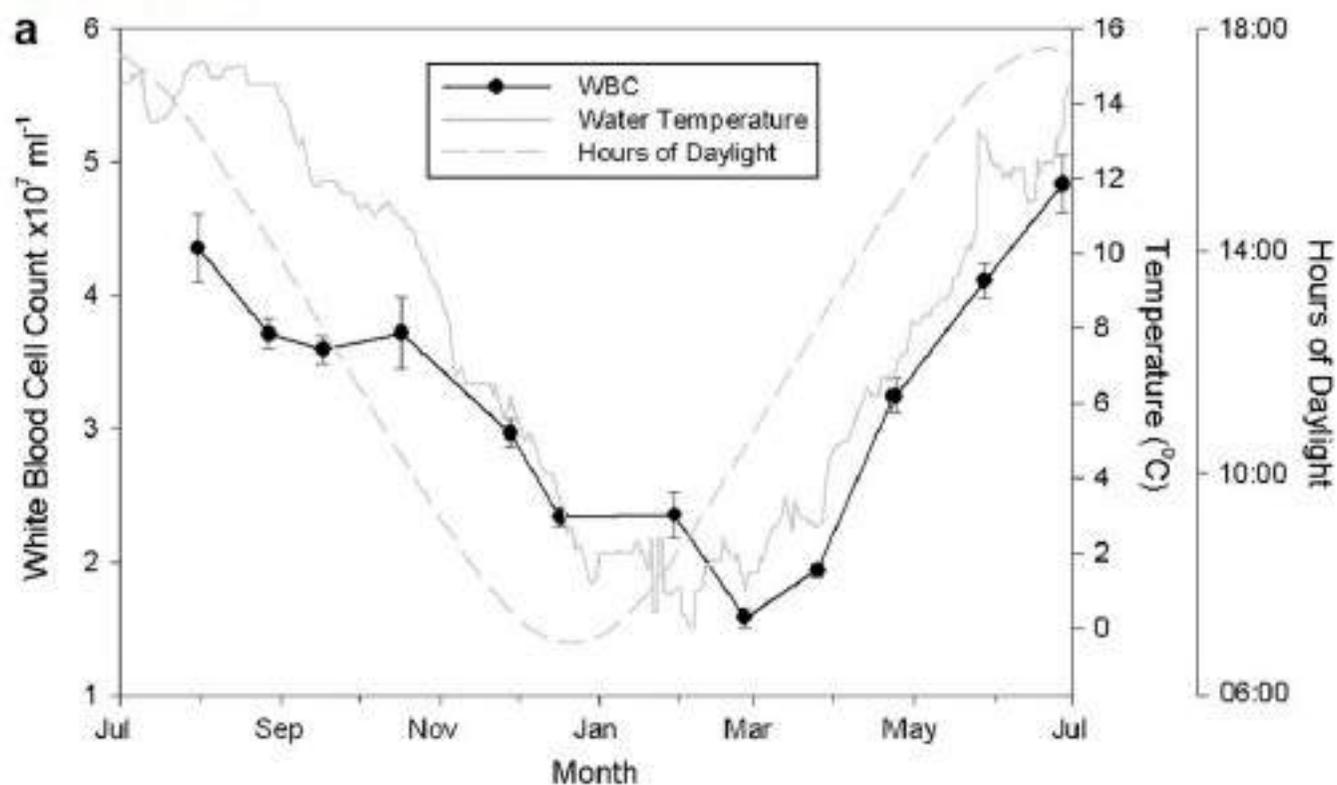
En bref, des truites arc-en-ciel juvéniles ont été exposées pendant 24 h à une concentration d'ammoniaque de 0,5 mg/litre, puis infectées par *Saprolegnia parasitica*. Si 22 % seulement des poissons du groupe contrôle sans ammoniaque ont déclenché la saprolégniose, 71 % des truites du groupe exposé à l'ammoniaque ont présenté la maladie.

L'ammoniaque altère la production de mucus, retarde son renouvellement et réduit le niveau de composés protecteurs (lysozyme) dans le mucus (Lang et al., 1987 ; Mock et Peters, 1990). L'hypothèse avancée est que l'ammoniaque agit en réduisant les barrières défensives cutanées.

Dans ce sens, il faut également observer que l'activité du système immunitaire de la truite est au plus bas entre Décembre et Mai, période recouvrant celle d'épandage des lisiers (Voir Figure 3).

De façon tout à fait intéressante, le niveau d'activité du lysozyme est le plus faible entre Mars et Juin. Rappelons que le lysozyme, protéine présente dans le mucus de la peau des truites, a une action protectrice antibactérienne et antifongique, et que son activité est réduite par l'ammoniaque (Mock and Peters, 1990).

Figure 3. Variation mensuelle des taux de globules blancs et d'activité du lysozyme plasmatique chez la truite arc-en-ciel





En conclusion, les indices sont nombreux et convergents pour inculper l'ammoniaque des lisiers comme inducteur et déclencheur des infections fongiques conduisant à la mort des truites et des ombres dans les rivières Franc-comtoises.

Bien entendu, nous ne pouvons exclure une potentialisation avec d'autres polluants qu'ils proviennent ou non des lisiers. Il me semble qu'une transformation des lisiers par méthanisation permettrait non seulement la production de méthane, mais aussi d'engrais azotés solides qui certes présentent des inconvénients environnementaux mais sont plus facilement gérables.

### Références

Carballo M and MJ Munoz. Effect of sublethal concentrations of four chemicals on susceptibility of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to saprolegniosis. *Appl Environ Microbiol*, 57, 1813-1816, 1991.

Lang T, Peters G, Hoffmann R and E Heyer. Experimental investigation on the toxicity of ammonia: effects of ventilation frequency, growth, epidermal mucous cells and gill structure of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Dis Aquat Org*, 3, 159-165, 1987.

Mock A and G Peters. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, stressed by handling, transport and water pollution. *J Fish Biol*, 37, 873-885, 1990.

Pickering AD and LG Willoughby. Saprolegnia infections of salmonid fish. P 271-297 in RJ Roberts (ed.), *Microbial diseases of fish*. Academic Press, Inc. (London), Ltd, London.

Plet P and H Tanguy. L'enfouissement du lisier : conséquences sur la structure du sol et sur la diffusion des produits du lisier. *Sci Sol*, 355-375, 1979.

Toor HS, Sehgal H and RS Sehdev. A case study of acute fish diseases in tanks loaded with high levels of organic manures. *Aquaculture*, 35, 277-282, 1983.