

ETUDE DE L'EFFICACITE PROTEIQUE DE QUELQUES REGIMES EXPERIMENTAUX CHEZ LE JEUNE ALEVIN DE LOUP (*Dicentrarchus labrax*) PAR LA METHODE DES BILANS AZOTES ET ENERGETIQUES.

Par

Habib LANGAR*

* Laboratoire de Pisciculture Continentale,
Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, 2025 Salammbô, Tunisie

الملخص

دراسة عن نجاعة الزلايات لبعض النظم الغذائية التجريبية لدى صبيات القاروس (*Dicentrarchus labrax*) حسب طريقة الحواصل النيتروجينية و الحرارية .

أجريت دراسة الحواصل النيتروجينية و الحرارية على تسع مجموعات من صبيات القاروس المعتادة على تسعة نظم تغذية تجريبية متساوية الزلايات و الدهنيات و الحرارية، المشتملة على زلايات من نوعيات مختلفة. فتبين أن طريقة دراسة قابلية الهضم وحدها لا تعكس بوضوح القيمة الغذائية للزلايات، و لذلك لا يمكن اعتبارها كمعيار للحكم على النجاعة الزلاية و خاصة عندما تكون الموارد الزلاية متقاربة في قابلية الهضم. على أن هذه الطريقة تبقى مفيدة جدًا لانتقاء الموارد الأولية لصياغة النظم الغذائية ذات قابلية عالية للهضم و بالتالي غير ملوثة .

المفاتيح - *Dicentrarchus labrax* : قابلية الهضم - الموارد الأولية - الحرارة

Résumé

Une étude des bilans azotés et énergétiques a été menée sur neuf lots de jeunes alevins de loup, adaptés à neuf régimes expérimentaux isoprotéiques, isolipidiques et isoénergétiques contenant des protéines de qualités différentes. Les protéines du régime témoin provenaient d'une farine de poisson, celle des autres régimes provenaient à 30 % ou à 50 % des protéines brutes, de farine de creton, de concentré de protéines soluble de poisson, de concentré de protéines de soja ou de farine de calmar en complément de la farine de poisson. La digestibilité apparente des protéines et de l'énergie s'est avérée élevée et varie de 86 à 91 % pour les protéines et de 89 à 92 % pour l'énergie. A elle seule, la méthode des digestibilités n'a pas reflété clairement la valeur nutritive des protéines, elle ne peut donc pas être considérée comme un bon critère de jugement de l'efficacité protéique, du moins quand les sources protéiques sont de digestibilités voisines. Elle demeure, cependant très utile pour la sélection des matières premières pour la formulation des régimes hautement digestible et non polluant.

Mots clés : *Dicentrarchus labrax* - Digestibilité - Sources de protéines - Energie.

Abstract :

Study of protein efficiency of some experimental diets on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fry with protein and energy digestibility method.

Sea bass fry adapted to nine isonitrogenous, isolipidics and isoenergetics diets were used to study protein and energy digestibilities in relation to dietary protein sources. The reference diet was based on fish meal, whereas the other diets contained greaves meal, fish protein hydrolysate, squid meal and soya protein hydrolysate at 30 or 50 % of crude protein at the expense of fish meal protein. Protein and energy apparent digestibility was high and varied between 86 and 91 % for proteins and between 89 and 92 % for the energy. By itself, digestibility method had not clearly reflected the nutritive values of dietary proteins and could not be considered as a good criteria to evaluate the biologic value of dietary proteins, at least when digestibilities of protein sources are nearly similar. But, studies on digestibilities remain very useful to preselect feed stuffs from a large variety of raw materials available on the market.

Key-words : *Dicentrarchus labrax* - Digestibility - Protein sources - Energy.

I - INTRODUCTION

L'efficacité protéique témoigne de l'aptitude d'un aliment à satisfaire le besoin azoté de l'organisme. Schématiquement, elle est fonction de deux séries de facteurs: le taux de l'utilisation digestive azotée et le potentiel protéique de la fraction digérée. Ce dernier se traduit par le degré d'utilisation métabolique.

L'azote absorbé par l'organisme n'est pas intégralement utilisé à des fins anaboliques. Une grande partie des protéines alimentaires est utilisée à des fins énergétiques (Cho et Kaushik, 1985). Il a même été démontré que les acides aminés sont des sources d'énergie préférentielles, comparés au glucose et aux acides gras (Fauconneau *et al.*, 1986 ; Van den Thillard, 1986). Fauconneau (1988) n'exclut pas l'hypothèse d'un besoin spécifique du métabolisme oxydatif en chaînes carbonées provenant des acides aminés. Outre les acides aminés essentiels et non essentiels, les nutritionnistes distinguent une troisième catégorie d'acides aminés dits semi-essentiels et qui regroupe les acides aminés qui sont synthétisables par l'organisme à partir d'acides aminés indispensables (Guillaume, 1990). Ces acides aminés sont la cystine et la tyrosine synthétisables, respectivement, à partir de la méthionine et de la phénylalanine. La classification des acides aminés est, depuis les travaux de Halver *et al.* (1957), considérée comme identique pour les poissons et les vertébrés supérieurs (Tableau 1).

A digestibilité égale, une protéine est d'autant mieux utilisée qu'elle est riche et équilibrée en éléments assimilables par les tissus. C'est cette notion de pouvoir inégal de remplacement ou de construction qu'exprime la valeur biologique (Jacquot, 1957).

Tableau 1. Liste des acides amines essentiels et non-essentiels chez les vertébrés supérieurs et les poissons .

ESSENTIELS	NON-ESSENTIELS
Arginine	Alanine
Histidine	Asparagine
Isoleucine	Acide aspartique
Leucine	Cystine*
Lysine	Acide glutamique
Méthionine	Glutamine
Phénylalanine	Glycine
Thréonine	Proline
Tryptophane	Sérine
Valine	Tyrosine*

* Acides aminés semi-essentiels.

L'efficacité protéique est donc la résultante de deux processus : l'utilisation digestive et l'utilisation métabolique. Elle peut être étudiée soit par des méthodes *in vivo* mettant en jeu l'organisme animal lui-même, soit par des méthodes *in vitro* reposant sur l'analyse chimique des aliments.

Toutes ces considérations générales concernant l'utilisation digestive et l'utilisation métabolique demeurent valables chez le poisson adulte, et particulièrement chez le loup ou bar (*Dicentrarchus labrax*) (Spyradakis, 1989). Au stade actuel de nos connaissances, les alevins n'ont pas fait objet de tels travaux. Le but de ce travail, est donc, d'étudier chez le jeune alevin de loup, par la méthode des digestibilités (bilans azoté et énergétique) l'efficacité protéique de quelques régimes expérimentaux iso-protéiques et iso-énergétiques ne différant entre eux que par la source protéique et par conséquent par la qualité des protéines utilisées.

II - MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été réalisée au laboratoire de Nutrition de l'IFREMER, Centre de Brest, dans des bacs cylindro-coniques de 20 l, alimentés par une eau de mer préfiltrée sur sable, d'une salinité de 35 ‰, ayant un pH voisin de 8 et maintenue à 18 ± 1 °C. Le système d'alimentation en eau est de type ouvert et les débits dans les bacs sont réglés à 3 l.mn^{-1} .

Chacun des bacs expérimentaux est équipé par le haut d'une arrivée d'eau réglable et d'une surverse. Le fond du bac est percé et fait de telle façon qu'il soit possible de brancher, à ce niveau, une ampoule de décantation amovible de 20 ml de volume. La fixation de l'ampoule de décantation au bac est assurée par un tuyau flexible assez court, limitant ainsi le parcours des fèces lors de la décantation, et par conséquent, leur lessivage (Spyridakis, 1989). L'"outil" utilisé au cours de cette expérience consiste, en fait, en une miniaturisation et une adaptation de l'installation décrite par Spyridakis *et al.*, (1989), elle-même dérivant de celle utilisée par Cho *et al.*, (1982).

Des alevins de loups ou bars (*Dicentrarchus labrax*) d'un poids moyen de 1,3 g, issus d'une même ponte et élevés dans les conditions classiques des fermes aquacoles sont utilisés pour la réalisation de cette expérience. Vingt sept bacs expérimentaux contenant chacun 50 alevins sont utilisés pour tester, avec trois répétitions, la digestibilité protéique et énergétique de neuf régimes expérimentaux. Les régimes ne se différencient entre eux que par la qualité des protéines.

Les matières premières utilisées comme sources de protéines dans les régimes expérimentaux sont la farine de poisson (NORSEAMINK ¹), la farine de creton d'extraction VIANDOR ², le concentré de péines solubles de poissons (CPSP 90 ANOREL ³), le concentré de protéines de soja ³ et la farine de calmar (fabriquée au laboratoire). La farine de poisson est utilisée dans tous les régimes et apporte la totalité des protéines brutes du régime témoin (T) (Tableau 2) ; les quatre autres sources protéiques sont incorporées dans les aliments aux taux de 30 et 50% des protéines brutes en remplacement de celles de la farine de poisson. Tous les régimes sont formulés de telle sorte qu'ils soient isoprotéiques, isolipidiques et isoénergétiques, contenant

¹ Norsildmel, Minde, Norvège

² CTPP, Boulogne sur mer, France

³ Française maritime, BP 174, Concarneau, France

50% de protéines brutes, 12% de lipides brutes et 15% de glucides. La composition centésimale, les analyses globales et la dénomination des régimes sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2. Composition centésimale et dénomination des régimes expérimentaux

INGREDIENTS	T	CR30	CR50	CPSP30	CPSP50	CL30	CL50	CPS30	CPS50
F. POISSON	71,04	49,73	35,52	49,73	35,52	49,73	35,52	49,73	35,52
F. CRETON	-	22,35	37,25	-	-	-	-	-	-
CPSP 90	-	-	-	18,05	30,08	-	-	-	-
F. CALMAR	-	-	-	-	-	20,22	33,71	-	-
Conc. Prot. Soja	-	-	-	-	-	-	-	18,08	30,13
Amidon									
prégélatinisé	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Alginate	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Melange Vit.¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Vitamine C	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Chl Choline 50%	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Lécithine Soja	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
H. Foie de morue	3,43	5,30	5,43	3,65	3,80	3,54	3,61	5,63	7,10
Cellulose	3,78	0,87	0,05	6,82	8,85	4,76	5,41	4,81	5,50

ANALYSES

Mat. Sèche ²	94,61	92,59	90,54	89,82	90,69	93,47	92,83	95,73	97,28
Protéines ³	49,06	52,40	52,56	51,39	51,17	50,75	51,59	50,77	48,92
Lipides ³	11,87	12,31	12,48	12,09	11,93	11,87	12,21	12,36	12,12
Cendres ³	18,75	20,05	23,02	21,26	22,31	17,26	16,47	17,29	16,84
Energie brute ⁴	19,86	19,13	18,67	18,98	19,18	19,60	19,51	20,23	21,70

¹ Mélange vitaminique détaillé dans Spyridakis et al., (1988) - ² En % de la matière fraîche.

³ En % de la matière sèche. - ⁴ En kJ / g de matière fraîche.

Après une adaptation des poissons aux aliments expérimentaux pendant une semaine, les fèces et l'eau contenus dans l'ampoule de décantation d'un même bac expérimental sont récupérés quotidiennement et sont immédiatement congelés.

La collecte s'effectue une fois par 24 h, avant la distribution unique de la ration alimentaire et pendant une période d'une semaine ; les échantillons collectés d'un même bac sont mélangés. Pour éviter la contamination des fèces par des traces d'aliment excédentaire restant au fond du bac, un nettoyage quotidien des bacs est effectué par purge après le nourrissage, avant la fixation de l'ampoule.

Le coefficient d'utilisation digestive apparent (C.U.D.A.) des protéines ou de l'énergie est estimé en incorporant dans l'aliment une quantité connue (1 %) d'oxyde de chrome (Cr_2O_3 : indicateur coloré inerte) puis en mesurant les taux de protéines ou d'énergie dans l'aliment et dans les fèces par rapport à ce marqueur selon la formule classique de Maynard et Loosli (1969) :

$$\text{C.U.D.A.} = 100 \times \left(1 - \frac{\text{Ia} \times \text{Nf}}{\text{Na} \times \text{If}} \right) \quad (\text{en } \%)$$

où Ia = % de l'indicateur coloré dans l'aliment.
 Na = % de protéine ou d'énergie dans l'aliment
 If = % de l'indicateur coloré dans les fèces.
 Nf = % de protéine ou d'énergie dans les fèces.

Le dosage de l'oxyde de chrome est effectué par la méthode colorimétrique de Bolin *et al.*, (1952) ; l'oxyde de chrome oxydé en chromate par de l'acide perchlorique est dosé à 440 nm.

La teneur en protéines brutes dans les aliments et dans les fèces sont estimés par multiplication de la teneur en azote de la matière sèche des aliments et des fèces par le coefficient 6,25 ($\text{N} \times 6,25$). La teneur en azote ayant été déterminée par la méthode de Kjeldahl.

L'énergie dans les aliments et les fèces est déterminée moyennant un calorimètre adiabatique à bombe PARR . Une quantité d'acide benzoïque, dont l'énergie est connue, est ajoutée aux échantillons de fèces dont la combustion est rendue difficile à cause des quantités importantes de sels qu'ils contiennent ; cette quantité d'acide benzoïque représente environ 20 % de l'échantillon.

Les résultats obtenus sont traités par une analyse de variance à une voie. La comparaison des moyennes et le regroupement des résultats significativement différents sont effectués par le test de Newman-Keuls (Sokal and Rohlf, 1981) au seuil de confiance p égal à 5 %, après avoir transformé les paramètres exprimés en pourcentage en arcsin (Zar, 1984).

III - RESULTATS

La digestibilité apparente des protéines et de l'énergie est élevée. Elle varie de 86 à 91 % pour les protéines respectives des régimes CR50 et T et de 89 à 92 % pour les énergies respectives des régimes CPS50 et T (tab. 3). Aucune variation de la digestibilité n'est observée avec l'augmentation du taux d'incorporation de la matière première substituée à la farine de poisson.

Tableau 3. Digestibilité protéique et énergétique des régimes expérimentaux

REGIMES	CUDA des protéines	CUDA de l'énergie
T	90,9 ± 1,4 ^a	91,9 ± 1,6 ^a
CR30	87,3 ± 1,0 ^{cd}	90,1 ± 0,8 ^{ab}
CR50	85,9 ± 1,2 ^d	91,6 ± 0,4 ^{ab}
CPSP30	89,5 ± 1,2 ^{abc}	89,0 ± 0,5 ^b
CPSP50	87,9 ± 1,5 ^{bcd}	89,7 ± 1,7 ^{ab}
CL30	87,7 ± 0,8 ^{bcd}	89,4 ± 1,0 ^{ab}
CL50	90,2 ± 0,7 ^{ab}	89,7 ± 1,2 ^{ab}
CPS30	88,5 ± 1,2 ^{abcd}	89,9 ± 1,0 ^{ab}
CPS50	90,1 ± 0,4 ^{ab}	88,9 ± 1,4 ^b

Les résultats indexés par une même lettre ne sont pas significativement différents ($p > 0,05$)

IV - DISCUSSION

La digestibilité protéique du régime témoin est similaire à celle obtenue à plusieurs reprises par Spyridakis (1989) avec des bars de plus grandes tailles (50 g). De même, la digestibilité protéique du régime CR30 se rapproche de celle obtenue par Langar et Métailler (1989) avec le même régime mais avec des bars de 27 g. Ces observations permettent d'avancer l'hypothèse que, chez le juvénile de bar, la digestibilité protéique est indépendante de la taille, et par conséquent, de l'âge des animaux. Ce résultat contredit les conclusions de Windell *et al.* (1978) pour qui la digestibilité augmenterait avec la taille des poissons. Schgade (1982) avait, cependant, montré que, chez les carpes, et particulièrement dans des conditions d'élevage se caractérisant par une basse température, la digestibilité des protéines et d'autres nutriments baisse quand la taille des animaux augmente de 2,5 à 50 g. Kitamikado *et al.* (1964) avaient, par contre, conclu que chez la truite, la digestibilité protéique est similaire chez les individus de

taille variant de 10 à 100 g et est beaucoup plus faible que chez les individus de poids moyen inférieur ou égal à 6 g. Steffens (1989) associe ce défaut de digestibilité dans ce dernier cas au faible niveau de l'activité enzymatique chez les petits animaux. Chez le bar, les activités trypsiques semblent être présentes dans le tube digestif dès l'éclosion ; elles sont cependant très faibles au cours des premiers jours du stade larvaire (Alliot *et al.*, 1977 ; Person Le-Ruyet *et al.*, 1989). L'activité pepsique, quant à elle, est détectable 30 jours après l'éclosion (Person-Le Ruyet, 1989). Au delà de 30 jours le tube digestif larvaire acquiert progressivement la structure définitive de l'adulte et le mécanisme de la digestion passe également du type larvaire au type adulte (Vu, 1976). L'alevin de bar de 1 g étant âgé, en moyenne, de 90 jours, son équipement enzymatique définitif serait donc en place, lui permettant une aussi bonne digestibilité protéique que chez les individus adultes, ce qui expliquerait les résultats du présent travail.

Queque soit la source protéique substituée, l'augmentation du niveau d'incorporation dans le régime de 30 à 50 % des protéines ne semble pas influencer d'une façon significative la digestibilité apparente des protéines brutes. Cependant, entre régimes, des différences significatives de digestibilité protéiques ont été observées. Ces différences sont difficilement imputables à la nature de la protéine ou à sa composition en acides aminés ; en effet, Spyridakis (1989) chez le bar, Kaushik et Luquet (1976) et Hudon et de la Noüe (1985) chez la truite ont déjà montré que la disponibilité apparente (digestibilité apparente) des acides aminés totaux est du même ordre de grandeur que le CUDA de l'azote total total.

La digestibilité de l'énergie relativement constante et élevée avec tous les régimes confirme d'une part, la bonne digestibilité des protéines et reflète d'autre part, une bonne utilisation énergétique des autres nutriments autres que les protéines (lipides et glucides).

En conclusion, la méthode de digestibilité à elle seule ne peut pas être considérée comme un bon critère d'évaluation de la valeur nutritive des protéines quand les sources protéiques sont de digestibilités voisines. Elle est par contre, très utile pour sélectionner des matières premières pour la formulation des régimes hautement digestibles et donc non polluants. D'autres méthodes d'investigation devraient donc être utilisées pour la définition de la valeur biologique de la protéine alimentaire chez le jeune alevin de loup.

BIBLIOGRAPHIE

- Alliot E., Pastoureaud A. et J. Trellu**, 1977.- Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar, *Dicentrarchus labrax*. Variations des protéinogrammes et des zymogrammes.- *3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13. Actes de Colloques du C.N.E.X.O.*, 4 : 85-91.
- Bolin D. W., King R. P. and E. W. Klosterman**, 1952.- A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr_2O_3) when used as an index substance. *Science*, 116 : 634-635.
- Cho C. Y. and S. J. Kaushik**, 1985.- Effects of protein intake on metabolisable and net energy values of fish diets. *IN : Nutrition and feeding in fish*. (Cowey C. B., A. M. Mackie and J. G Bell. Eds).- London : Academic Press : 95-117
- Cho C. Y., Slinger S. J. and H. S. Bayley**, 1982.- Bioenergetic of salmonid fishes : energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B : 25-41.
- Fauconneau B.**, 1988.- Partial substitution of protein by a single amino acid or an organic acid in rainbow trout diets. *Aquaculture*, 70 : 97-106.
- Fauconneau B., Kaushik S. J. et J. M. blanc**, 1986.- Utilisation de différents substrats énergétiques chez la truite : Influence de la ploïdie.- *Diabète métabolisme*, 12 : 111-112.
- Guillaume J.**, 1990.- Les bases de la nutrition des salmonidés : I - Généralités - Besoins qualitatifs.- *La Pisciculture Française*, 100 : 47-59.
- Halver J. E., De Long D. C. and E. T. Mertz**, 1957.- Nutrition of salmonoid fishes. 5 - classification of essential amino acids for chinook salmon. *J. Nutr.*, 63 (1) : 95-105.
- Hudon B. and J. de la Noüe**, 1985.- Amino acid digestibility in rainbow trout : Influence of temperature, meal size and type of food.- *World Maric. Soc.*, 7 : 11- 19.
- Jacquot R.**, 1957.- Les facteurs d'efficacité alimentaire. *IN : Nutrition et alimentation tropicale : recueil des conférences du deuxième cours de nutrition pour l'Afrique noire.- Reunion de la F.A.O. sur la nutrition*, Rapport N° 20 : 323-430.
- Kaushik S. J. et P. Luquet**, 1976.- Etude de la digestibilité des acides aminés de régimes à base de zéine chez la truite arc-en-ciel.- *Ann. Hydrobiol.*, 7 : 11-17.
- Kitamikado M., Morishita T. and S. Tashino**, 1964.- Digestibility of dietary protein in rainbow trout. II. Effects of starch and oil contents in diets, and size of fish.- *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, 30 : 50-54.

- Langar H. and R. Métailler**, 1989.- Use of some protein from animal origin for european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), feeding.- *E.A.S., Special Publication*, 10 : 139-140.
- Maynard L. A. and J. K. Loosli**, 1969.- *Animal Nutrition, sixth edition.* (Mc Graw-Hill Ed), New York, St. Louis, San francisco, London, Sydney, Toronto, Mexico, Panama, 613 p.
- Person-Le Ruyet J.**, 1989.- Early weaning of marine fish larvae onto microdiets : constraints and perspectives.- *Advances in Tropical Aquaculture. Tahiti, Feb. 20- March 4. AQUACOP, IFREMER, Actes de Colloques*, 9 : 625-642.
- Person Le-Ruyet J., Samain J. F. et J. Y. Daniel**, 1989.- Evolution de l'activité de la trypsine et de l'amylase au cours du développement chez la larve de bar (*Dicentrarchus labrax*). Effet de l'âge au sevrage.- *Océanis*, 15 (4) : 465-480.
- Schgade R.**, 1982.- Untersuchungen zur Nahrungsausnutzung im Darm von Karpfen (*Cyprinus carpio* L.).- *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 59 : 377-415.
- Sokal R. R. and F. J. Rohlf**, 1981.- *Biometry.* (Freeman Ed), New York, 859 pp.
- Spyridakis P.**, 1989.- Utilisation des protéines alimentaires chez le bar (*Dicentrarchus labrax*) : aspects digestifs et métaboliques.- *Thèse Doct. Univ. Bretagne Occidentale*, Brest, 192 p.
- Spyridakis P., Gabaudan J., Métailler R. et J. Guillaume**, 1988. Digestibilité des protéines et disponibilité des acides aminés de quelques matières premières chez le bar (*Dicentrarchus labrax*).- *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28 (6 A) : 1509-1517.
- Spyridakis P., Métailler R., Gabaudan J. and A. Riaza**, 1989 .- studies on nutrient digestibility in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). 1.- Methodological aspects concerning faeces collection.- *Aquaculture*, 77 : 61-70.
- Steffens W.**, 1989.- Principles of fish nutrition.- (Laird L. M. ed), 384 p.
- Van den Thillard G.**, 1986.- Energy metabolism of swimming trout (*Salmo gairdneri*). Oxydation rates of palmitate, glucose, lactate, alanine, leucine and glutamate. *J. Comp. Physiol.*, 156 : 511-520.
- Vu T. T.**, 1976.- Etude du développement du tube digestif des larves de bar *Dicentrarchus labrax* (L.).- *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 117 : 493-509.
- Windell J. T., Foltz J. W. and J. A. Sarokon**, 1978.- Effect of fish size, temperature and amount fed on nutrient digestibility of a pelleted diet by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107 : 613-616.
- Zar J. H.**, 1984.- Biostatistical analysis. Second edition. Prentice-Hall Internat. ed., U.S.A. : 187 p. + i-xiv.