

USN 717

00292891

EFFETS du FLUOR et du PHOSPHOGYPSE

CHEZ les ORGANISMES MARINS

- Létalité

- Fonctions Ethologiques

- Bioaccumulation

.CNEXO

.COB

.ELGMM

Mal 1982

F26

DÉPARTEMENT ENVIRONNEMENT
LITTORAL ET GESTION DU MILIEU
MARIN

EFFETS DU FLUOR ET DU PHOSPHOGYPSE CHEZ LES ORGANISMES MARINS

- LETALITE - FONCTIONS ETHOLOGIQUES - BIOACCUMULATION -

J.L. MARTIN, A.M. LE GUELLEC, R. COSSON

Centre National pour l'Exploitation des Océans
Centre Océanologique de Bretagne
BP 337, 29273 BREST CEDEX

Mai 1982

SOMMAIRE

I INTRODUCTION

II MATERIEL ET METHODES

- 1) Organismes testés
- 2) Paramètres déterminés
- 3) Conditions expérimentales
- 4) Analyse des échantillons

III RESULTATS

A - ACTION DE F⁻

- 1) Choix du composé fluoré utilisé
- 2) Evaluation de l'action létale de F⁻
 - a) Action sur l'artémie *Artemia salina*
 - b) Action sur le crabe vert *Carcinus maenas*
 - c) Action sur la crevette *Penaeus japonicus*
 - d) Action sur la patelle *Patella vulgata*
 - e) Action sur la moule *Mytilus edulis*
 - f) Action sur l'orveau *Haliotis tuberculata*
 - g) Action sur les larves de Coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus*
- 3) Evaluation de l'action de F⁻ sur des fonctions éthologiques
 - a) Action sur la croissance (division cellulaire) de l'algue *Tetraselmis suecica*
 - b) Action sur la croissance du crustacé *Artemia salina*
 - c) Action sur le pouvoir de fixation des mollusques
 - d) Action sur la nutrition et la croissance de l'orveau *Haliotis tuberculata*
 - e) Action sur l'éclosion des oeufs et la viabilité des larves de turbot *Scophthalmus maximus*

4) Accumulation du fluor dans les organismes

- a) Accumulation dans l'algue *Tetraselmis suessica*
- b) Accumulation dans la moule *Mytilus edulis*
- c) Accumulation dans la patelle *Patella vulgata*
- d) Accumulation dans l'ormeau *Haliotis tuberculata*
- e) Accumulation dans l'artémie *Artemia salina*
- f) Accumulation dans la crevette *Penaeus japonicus*
- g) Accumulation dans la truite *Salmo gairdnerii*

B - ACTION DU PHOSPHOGYPSE ET DE F⁻ ISSU DU PHOSPHOGYPSE

1) Action sur la létalité

2) Accumulation du fluor dans les organismes

- a) Accumulation dans la moule *Mytilus edulis*
- b) Accumulation dans la crevette *Penaeus japonicus*
 - * Accumulation du fluor
 - * Accumulation des métaux
- c) Accumulation dans la truite *Salmo gairdnerii*

IV DISCUSSION

V CONCLUSIONS

I INTRODUCTION

- Dans le cadre général des recherches visant à déterminer l'action des effluents industriels et plus précisément du fluor dans le cas de cette étude, le programme dont les résultats sont présentés avait pour but de déterminer les effets de cet élément sur les organismes marins. Trois aspects essentiels ont été envisagés :

- Effets létaux du fluor ;
- effets du fluor sur certaines fonctions éthologiques ;
- bio-accumulation de l'élément par les organismes marins.

Dans une dernière partie, les études ont traité de la toxicité du phosphogypse et de la bio-accumulation du fluor libéré par dissolution du phosphogypse et/ou du fluor associé aux particules de phosphogypse.

L'ensemble des expérimentations a été effectué *in vitro* selon des modalités décrites. Il s'avère donc que les résultats et conclusion issus de ces expériences possèdent une spécificité propre aux études expérimentales *in vitro*, ne permettant une extrapolation au milieu naturel qu'avec les réserves d'usage en la matière.

Cependant, comme décrit dans ce rapport, la plupart des expérimentations ont été effectuées en utilisant des concentrations de fluor dans les bacs expérimentaux qui, d'une part, ne sont jamais rencontrées dans le milieu marin, même à proximité de rejets de phosphogypse ou bien, d'autre part, ne sont rencontrées que de façon ponctuelle dans le temps (AMINOT, 1977 ; MARTIN et SALVADORI, 1980 ; DARMOUL et col., 1980). De ce fait, la plupart des expériences ont été réalisées dans des conditions certainement contraignantes par rapport au milieu naturel, d'abord par les concentrations mises en jeu, ensuite par la permanence du contact entre l'organisme et le contaminant.

Le programme de recherche traitait des organismes marins. Nous n'avons pas tenu compte pour l'interprétation de nos résultats et, en particulier, pour la comparaison de ceux-ci avec les observations effectuées par d'autres auteurs, des données obtenues pour les organismes d'eau douce. En effet, il est parfaitement établi que le comportement physico-chimique du fluor est en grande partie fonction de la concentra-

tion des ions complexants spécifiques (Ca et Mg en particulier) dans l'eau. De ce point de vue, l'eau de mer et l'eau douce constituent deux entités différentes, et les résultats qui sont issus de l'une et l'autre de ces entités n'apparaissent pas pouvoir être comparés.

La majeure partie de ce travail a été effectuée avec des organismes produits par le département Biologie-Aquaculture-Pêche du Centre Océanologique de Bretagne. Il s'agit plus précisément des algues planctoniques, des crevettes, des artémies, des ormeaux, des larves de coquille Saint-Jacques, des oeufs de turbot et des truites. La partie expérimentale concernant les conditions d'élevage et de nutrition a bénéficié des conseils des différents spécialistes en la matière. Nous remercions les personnes concernées du département BAP pour leur collaboration et leurs conseils désintéressés.

II MATERIEL ET METHODES

1) Organismes testés

Les expériences ont été réalisées sur un certain nombre d'organismes prélevés à la côte, ou en provenance des unités d'élevage du département Biologie- Aquaculture-Pêche du CNEXO.

Ces organismes, qui ont été choisis en fonction de leur représentativité sur le plan éthologique d'un grand nombre d'organismes marins, sont les suivants :

- Algues : *Tetraselmis suessica*
- Mollusques :
 - Moule *Mytilus edulis*
 - Patelle *Patella vulgata*
 - Ormeau *Haliotis tuberculata*
- Crustacés :
 - Crevette *Penaeus japonicus*
 - Crabe vert *Carcinus maenas*
 - Artemie *Artemia Salina*
- Poissons :
 - Turbot *Scophthalmus maximus*
 - Truite de mer *Salmo gairdnerii*

2) Paramètres déterminés

Les paramètres déterminés ont été choisis pour leur représentativité des fonctions physiologiques des organismes. C'est ainsi que dans un premier temps, l'action létale du F^- a été déterminée.

Dans un deuxième temps, l'action de F^- a été testée sur un certain nombre de fonctions représentatives de la nutrition (ormeaux), de la croissance (artémies, algues monocellulaires), de la reproduction (turbot) par exemple.

Enfin, le potentiel d'accumulation du F^- par les organismes a été déterminé soit par des analyses en cours d'expérience, soit par un bilan global en fin d'expérience.

Le tableau n° 1 synthétise l'ensemble des paramètres déterminés. Lorsque dans ce tableau il est noté que l'accumulation du F^- a été déterminée, celle-ci peut l'être pour l'organisme total ou pour

différents organes de cet organisme. Ceci est indiqué dans le chapitre concerné.

	LETALITE	FONCTION(S)	ACCUMULATION
<i>Tetraselmis suecica</i>	-	X	X
<i>Mytilus edulis</i>	X	X	X
<i>Patella vulgata</i>	X	X	X
<i>Haliotis tuberculata</i>	X	X	X
<i>Pecten maximus</i>	X	-	-
<i>Artemia salina</i>	X	X	X
<i>Penaeus japonicus</i>	X	-	X
<i>Carcinus maenas</i>	X	-	-
<i>Scophthalmus maximus</i>	-	X	-
<i>Salmo gairdnerii</i>	X	-	X

Tableau n° 1

Paramètres mesurés pour déterminer l'action de F⁻ chez les organismes marins.

3) Conditions expérimentales

Dans ce chapitre ne sont décrits que les éléments communs à l'ensemble des expériences réalisées. Les éléments spécifiques d'une seule expérimentation sont décrits dans le chapitre concerné.

Les expériences décrites ont été effectuées *in vitro*, en circuit fermé, exceptées les expériences concernant la truite, dont le déroulement est décrit par ailleurs.

Les bacs utilisés étaient en verre, d'une contenance de 15 à 50 litres. L'eau contaminée était renouvelée tous les jours et aérée à l'aide de diffuseurs d'air.

Les expériences ont eu des durées variables, en fonction du but recherché. C'est ainsi, par exemple, que l'action de F^- sur le taux d'attachement des moules et des patelles ou sur l'éclosion des oeufs de turbot peut être appréciée en quelques heures ou quelques dizaines d'heures. Par contre, d'autres actions nécessitent plusieurs dizaines de jours, sinon de mois d'expérimentation pour pouvoir ou non être mis en évidence, nutrition des ormeaux ou accumulation de F^- dans la patelle par exemple.

Au cours des expériences, les organismes testés ont été nourris, et ce en fonction de leur éthologie alimentaire. C'est ainsi par exemple que les moules et les artémies ont été nourries par apport régulier d'algues unicellulaires *Tetraselmis suecica* ; les crevettes ont été nourries avec des moules et les ormeaux à l'aide de l'algue macrophyte *Rhodomenia palmata*.

Les expériences ont été effectuées à température de l'eau de mer courante, variant entre 13° C et 17° C, en fonction de la saison de réalisation. La température était constante durant toute la durée de chacune des expériences, celles-ci ayant été réalisées dans une chambre thermostatée.

Le rythme d'éclairage artificiel était, pour l'ensemble des expériences, de 12 heures de jour, 12 heures de nuit.

Pour chacune des expériences le nombre d'organismes testés est variable et fonction de la taille des organismes. Des précisions complémentaires sont données dans chacun des chapitres concernés.

Au début de la mise en oeuvre du programme de recherche, les expérimentations ont été effectuées en eau de mer normale (Salinité = 33‰) et en eau de mer saumâtre (Salinité = 22‰). Cependant, comme les variations des paramètres étudiés étaient soit nulles, soit fonction de la salinité, la suite du programme s'est déroulée uniquement en eau de mer normale (Salinité = 33‰).

Dans un même ordre d'idée, les expériences de début de programme ont été effectuées à 3 et 6 ppm, en plus du témoin. Par la suite, des concentrations supérieures, pouvant aller jusqu'à 240 ppm F^- ont été testées.

C'est la raison pour laquelle, les expériences étant décrites selon un ordre non chronologique, certains résultats font apparaître les deux types d'expérimentation, à savoir, eau de mer normale et eau de mer saumâtre. De même qu'apparaissent pour certains types d'expérimentations des résultats n'ayant trait qu'à des concentrations de 3 et 6 ppm F^- .

4) Analyse des échantillons

- Analyse de l'eau de mer contaminée ou non. Les analyses ont été effectuées par la méthode d'électrode spécifique mesurant une différence de potentiel au cours d'ajouts dosés. L'ajustage du pH d'analyse est réalisé à l'aide d'un tampon acétique. Les ajouts sont réalisés à l'aide d'une solution 0,01 M de $Na F$.

- Analyse des organismes marins et des organes. Immédiatement après leur prélèvement, les organismes étaient lavés plusieurs minutes à l'eau de mer normale pour éliminer le F^- contaminant cet organisme par adsorption sur les organes ou tissus en contact avec la solution contaminée. Pour permettre leur analyse, les organismes et organes doivent auparavant subir une minéralisation après séchage à 60° C. Celle-ci est effectuée dans des creusets, à 550° C pendant 36 heures, suivie d'une attaque à l'aide d'acide nitrique pur. Après minéralisation, les échantillons subissent une dilution adéquate. Les analyses ont été effectuées sur le fluor libéré par la minéralisation et l'attaque acide. Après ajout du tampon et ajustage du pH à l'aide d'une solution de $Na OH$ concentré, les analyses sont effectuées selon le même principe que pour l'eau.

III RESULTATS

A - ACTION DE F^-

1) Choix du composé fluoré utilisé

Au cours des différentes expériences réalisées et décrites, il s'agissait de déterminer l'action de l'ion F^- . Le problème se posait donc de déterminer un composé qui subirait une dissociation permettant une libération suffisante de l'ion F^- pour que soit déterminée la toxicité de cet ion, et non pas la toxicité d'un composé ou d'une molécule, soluble ou non, dans son intégrité.

Deux composés fluorés ont été testés, Ca F_2 et Na F . Ces tests ont été effectués sur une eau de mer de salinité 22‰ et sur une eau de mer normale de salinité 33‰. De plus, la dissociation du composé, et plus particulièrement Na F , a été testée en fonction du temps.

Salinité	Concentration de F^- théorique	Temps				
		Jours	0	1	2	13
22 ‰	Témoin		0,80	0,81	0,79	-
	Ca F_2 6 ppm		1,27	0,91	0,91	-
	Na F 3 ppm		3,20	3,79	3,71	3,66
	Na F 6 ppm		5,12	6,53	6,39	6,67
33 ‰	Témoin		1,41	1,40	1,39	-
	Ca F_2 6 ppm		-	1,43	1,29	-
	Na F 3 ppm		3,57	4,09	4,23	4,26
	Na F 6 ppm		3,89	5,81	6,19	7,27

Tableau n° 2

Dissociation de Na F et Ca F_2 .

Concentration de F^- observée au cours du temps en fonction de la quantité de F^- théorique ajoutée.

Le tableau n° 2 met en évidence les résultats obtenus. Nous pouvons constater que pour Ca F_2 , aussi bien à 33‰ qu'à 22‰, les concentrations de F^- mesurées sont inférieures aux concentrations de F^- théoriques ajoutées. En effet, les concentrations de F^- mesurées ne sont pas significativement différentes de celles déterminées dans l'eau de mer témoin. Le Ca F_2 ne subit pas de dissociation permettant une libération de l'ion F^- .

Par contre, Na F présente une dissociation apparaissant totale aux concentrations testées. En effet, les concentrations mesurées correspondent aux quantités ajoutées, à la fois pour l'eau diluée (Salinité 22‰) que pour l'eau de mer à salinité normale (33‰).

Le composé Na F a donc été choisi pour la mise en oeuvre des expériences traitant de la toxicité de F^- .

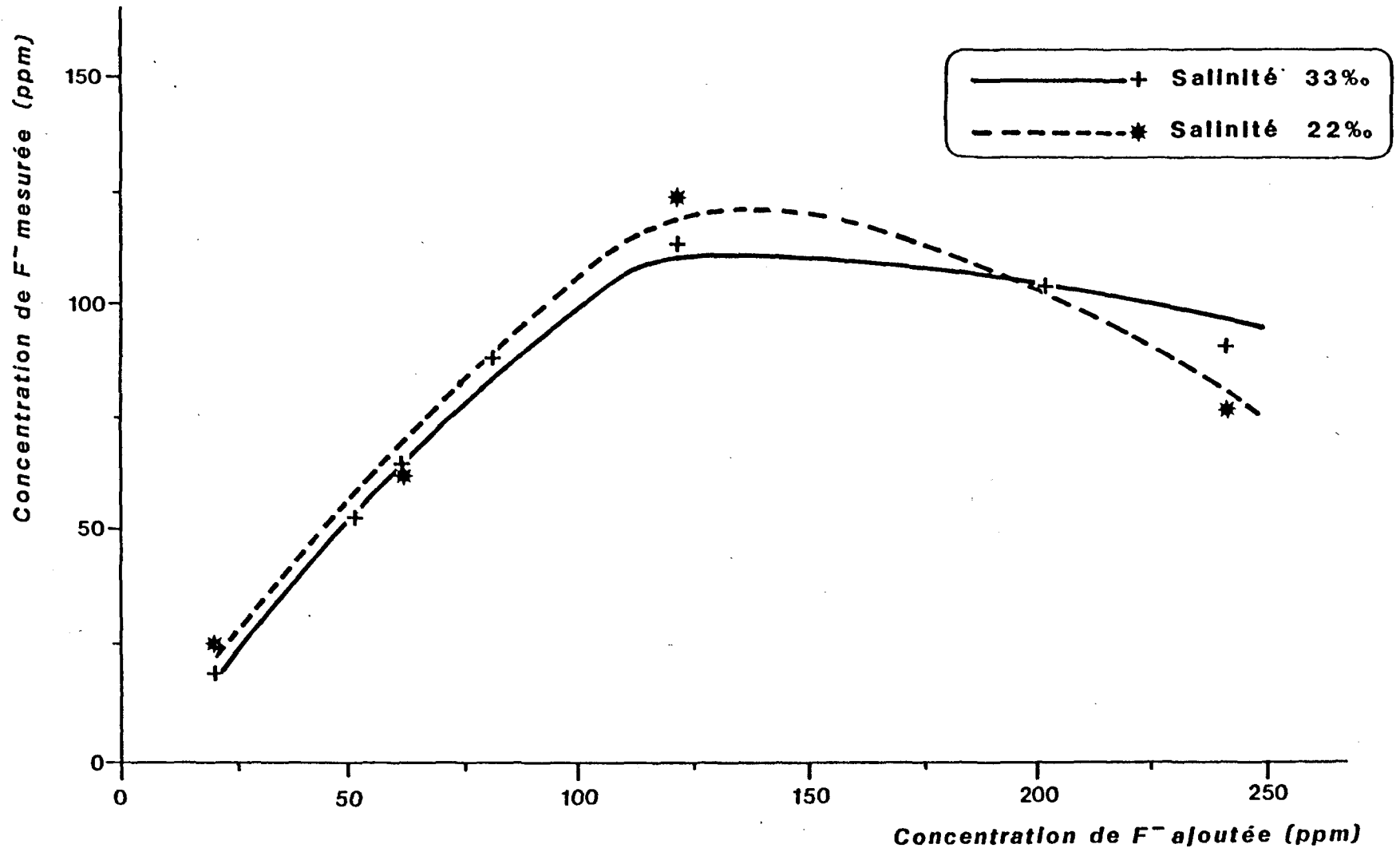
Pour réaliser les expériences, il est apparu nécessaire de déterminer les concentrations maximales de F^- qui pouvaient être présentes dans l'eau de mer. Les concentrations sont définies par le pouvoir de dissociation de Na F en fonction de la concentration.

La figure n° 1 montre que la concentration de F^- en eau de mer de salinité 33‰ ainsi qu'en eau de mer de salinité 22‰ présente des limites situées aux environs de 120 ppm de F^- ajouté sous forme de Na F . En effet, pour des concentrations de F^- ajouté sous forme Na F supérieures à 120 ppm, les concentrations observées n'augmentent pas, et ce, aussi bien en eau de mer normale qu'en eau saumâtre.

Pour les expériences, la concentration maximale de F^- testée sera de 120 ppm. Pour certaines d'entre elles, quelques essais à saturation, soit 240 ppm théoriques de F^- seront effectués. Dans ce cas, la solution expérimentale présente une grande opacité. Cette opacité pourrait correspondre à la précipitation des composés Mg F_2 et Ca F_2 , hautement insolubles, formés par l'association de l'anion F^- et des cations Mg et Ca présents dans l'eau de mer.

Figure 1

Courbe de dissociation et de dilution de NaF
Concentration de F^- observée en fonction de F^- théorique ajouté



2) Evaluation de l'action létale de F⁻

a) Action sur l'artémie (*Artemia salina*)

Les expériences ont été effectuées dans des bocaux de 2 litres, à raison de 40 artémies adultes par litre d'eau de mer. La nourriture était constituée d'algues monocellulaires *Tetraselmis suessica*.

Différents types d'expérimentations ont été réalisés :

- Animaux nourris et non nourris ;
- Eau de mer à salinité normale ($\approx 33\text{‰}$) et eau de mer à salinité réduite ($\approx 22\text{‰}$).

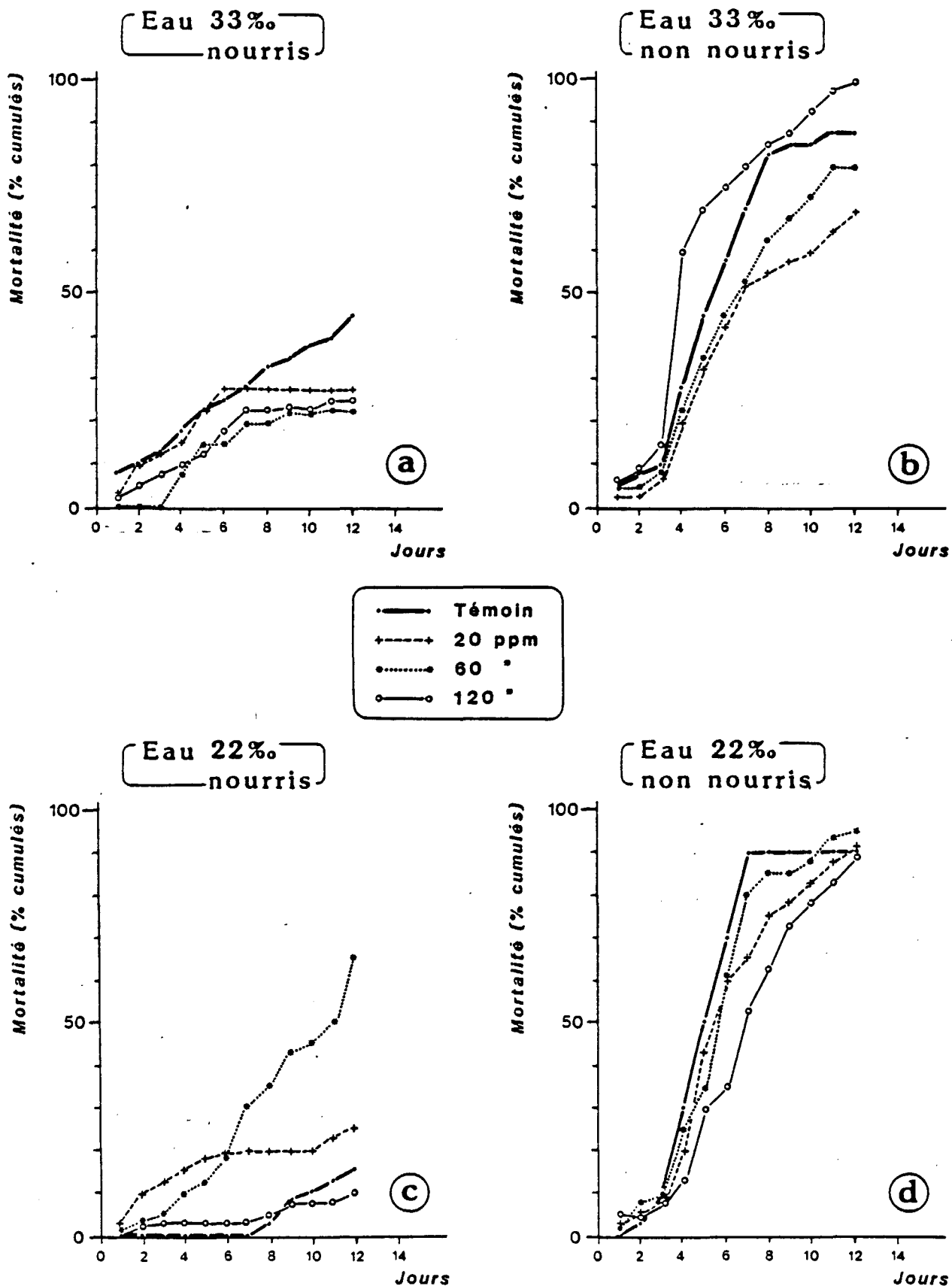
Les résultats sont reportés sur la figure n° 2. D'après ceux-ci, nous pouvons constater que les taux de mortalité cumulés semblent n'être que peu redevables à la présence de F⁻ dans l'eau de mer. En effet, pour 2a, par exemple, (animaux nourris - 33‰), les taux de mortalité les plus importants sont observés chez le témoin. En 2b (non nourris - 33‰) et 2c (nourris - 22‰), si les taux de mortalité les plus élevés sont observés pour des concentrations de F⁻ de 120 et 60 ppm respectivement, il est à noter que, par exemple, en 2b le taux de mortalité du témoin est supérieur à celui observé pour 60 ppm, et est identique, sinon supérieur à celui observé pour 120 ppm en 2c. Pour 2d (non nourris - 22‰) les taux de mortalité observés sont visiblement identiques pour toutes les concentrations testées, du témoin à 120 ppm F⁻. Il semble donc que les mortalités observées soient soumises à une distribution aléatoire dans les conditions optimales (nourris - 33‰), et soient plus sous la dépendance de la salinité réduite et de l'absence de nourriture dans les autres cas. En effet, la mortalité maximale est observée dans les conditions les plus pénalisantes (absence de nourriture - salinité 22‰), et identique quelle que soit la concentration de F⁻.

b) Action sur le crabe vert (*Carcinus maenas*)

Les expériences ont été effectuées dans des bacs de 50 litres, à raison de 30 individus par bac. Les crabes mis en expérimentation présentaient une largeur de carapace de 5 à 7 cm. Durant la durée de l'ex-

Figure 2

Action de F^- sur la mortalité de *Artemia salina*
Les courbes expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.



périence, ils ont été nourris avec de la chair de moule.

Sur le tableau n° 3 exprimant les pourcentages cumulés de mortalité, deux éléments apparaissent :

D'une part, la mortalité semble plus être fonction de la salinité de l'eau que de la présence de fluor. En effet, les mortalités sont observées dans l'eau saumâtre (Salinité $\approx 22\text{‰}$) alors que pour des salinités de 33‰ , un seul individu (correspondant à 3,3 % des trente crabes présents dans le bac) meurt pour la concentration ajoutée de 240 ppm F^- .

D'autre part, pour une salinité identique (22‰) la distribution de la mortalité n'est pas reliée apparemment à la concentration de F^- dans l'eau de mer. En effet, les mortalités les plus faibles sont observées pour les concentrations les plus élevées de F^- . La salinité semble donc être le facteur essentiel pour ce qui concerne la mortalité observée de ces organismes.

c) Action sur la crevette (*Penaeus japonicus*)

Les expériences ont été effectuées pour un seul type de salinité (33‰). Vingt crevettes, présentant une taille de 3 à 4 cm, ont été utilisées dans chacun des bacs expérimentaux. Elles ont été nourries avec de la chair de moule.

La figure n° 3 traduisant les pourcentages cumulés de mortalité montre que seule la concentration de 120 ppm de F^- ajouté se traduit par une mortalité supérieure à celle observée dans les autres cas. Pour les concentrations testées égales ou inférieures à 60 ppm de F^- ajouté, les mortalités observées apparaissent similaires et non significativement différentes de celles observées pour le témoin. En particulier, après 13 jours de contamination, nous pouvons constater que dans une gamme de pourcentages similaires, la mortalité observée chez le témoin est supérieure à celle observée pour 20 et 60 ppm de F^- ajouté.

d) Action sur la patelle (*Patella vulgata*)

Les expériences ont été effectuées à deux salinités différentes ($\approx 22\text{‰}$ et $\approx 33\text{‰}$). Trente patelles ont été utilisées par

Salinité	Concentration de F ⁻ ajouté	Temps									
		Jours									
		0	1	2	3	5	6	7	8	9	
22 %	Témoin	0	0	0	0	10,0	13,3	13,3	13,3	13,3	
	60 ppm	0	0	0	0	13,3	16,7	16,7	16,7	16,7	
	120 ppm	0	0	0	0	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	
	240 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
33 %	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	7,5 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	37,5 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	75 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	240 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tableau n° 3

Action de F⁻ sur la mortalité de *Carcinus maenas*, dans l'eau de mer et dans l'eau saumâtre.
Les données expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.

Figure 3

Action de F^- sur la mortalité de *Penaeus japonicus*
Les courbes expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.

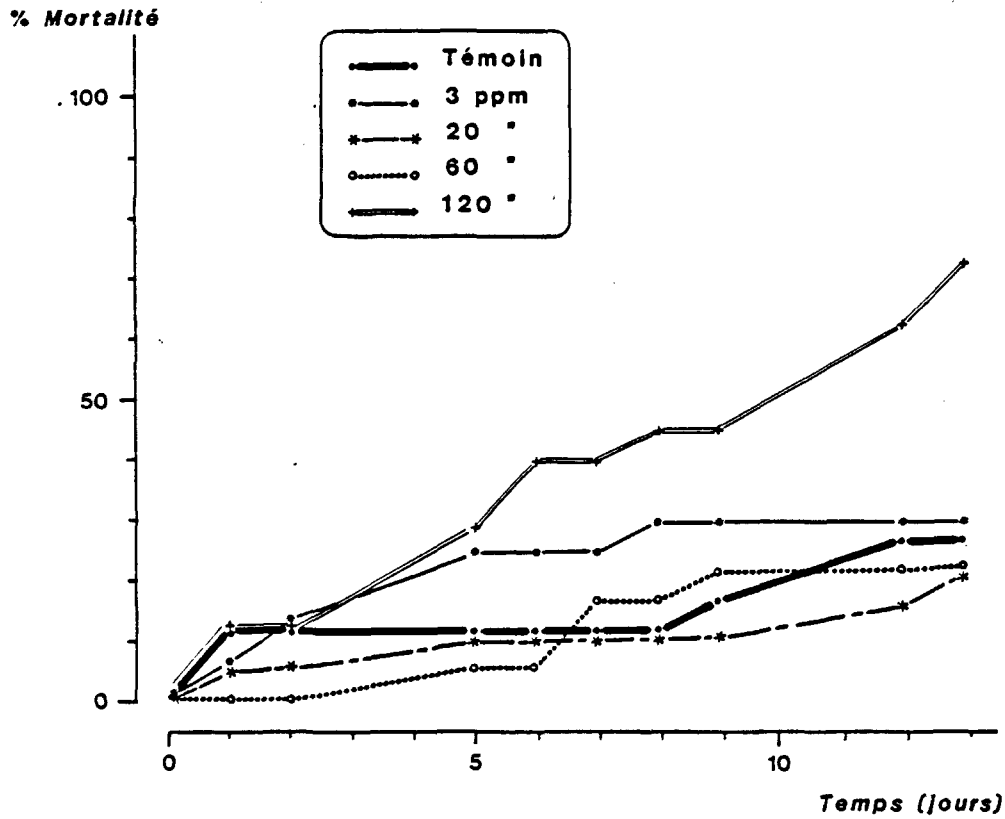
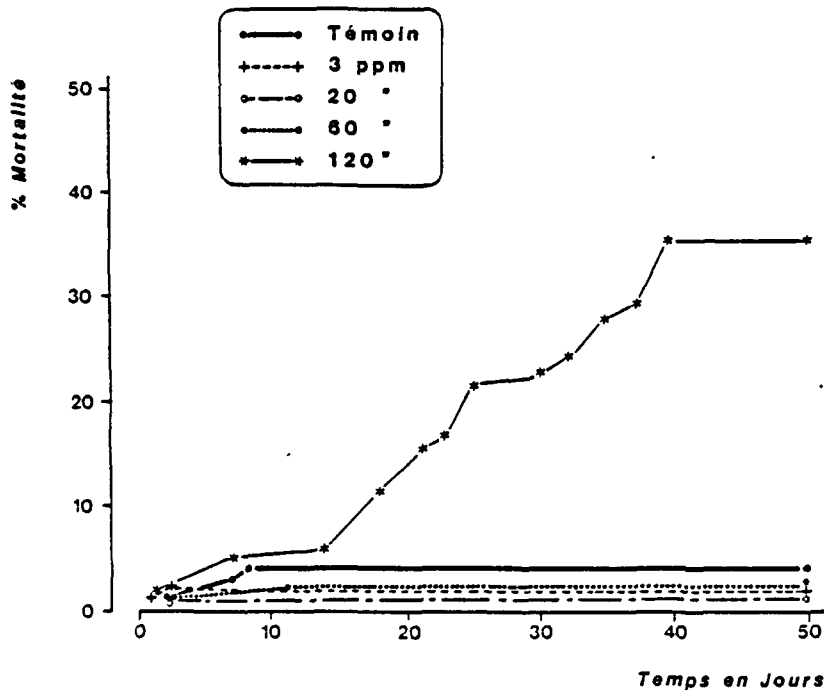


Figure 4

Action de F^- sur la mortalité de l'ormeau (*Haliotis tuberculata*)
Les courbes expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.



bac expérimental.

Le tableau n° 4 exprime les pourcentages cumulés de mortalité après 6 semaines de contamination. Il apparaît que, dans tous les cas, salinité normale et salinité réduite, les taux de mortalité observés ne sont pas significatifs d'une concentration du fluor dans l'eau de mer. Dans aucun cas, la mortalité n'a excédé 4 individus sur 30 au cours des 6 semaines d'expérimentation. Les taux de mortalité observés semblent plus fonction d'une distribution aléatoire que fonction de la concentration de F^- dans le bac expérimental.

e) Action sur la moule (*Mytilus edulis*)

Les expériences ont été effectuées à deux salinités différentes = 22‰ et = 33‰. Trente moules de taille comprise entre 3 cm et 4,5 cm ont été utilisées par bac expérimental.

Le tableau n° 5 exprime les pourcentages cumulés de mortalité en fonction du temps. Sur ce tableau, nous pouvons constater que des taux de mortalité significatifs, pour la durée de l'expérience, apparaissent pour des concentrations égales ou supérieures à 100 ppm de F^- ajouté. En effet, pour les concentrations de F^- ajouté de 100 et 240 ppm, la quasi totalité (92 %) ou la totalité (100 %) des organismes meurent. Pour les concentrations testées, égales ou inférieures à 50 ppm de F^- , les mortalités observées, pour les deux salinités, ne sont pas significatives de la concentration du F^- pour la durée de l'expérience.

f) Action sur l'ormeau (*Haliotis tuberculata*)

Les expériences ont été effectuées pour une seule salinité (= 33‰). Quarante ormeaux, mesurant de 15 à 25 millimètres ont été utilisés par bac expérimental. Pendant la durée de l'expérimentation, ils ont été nourris à l'aide de l'algue macrophyte *Rhodimenia palmata*.

Les pourcentages cumulés de mortalité sont représentés sur la figure n° 4. Il apparaît que seule la concentration de 120 ppm de F^- est responsable d'une mortalité significative des organismes pendant la durée de l'expérience. Pour les concentrations égales ou

Salinité \ Concentration ppm F ⁻ ajouté	Témoin	3	6	20	60	100
22 ‰	0	6,7	6,7	3,3	6,7	10
33 ‰	6,7	13,3	3,3	6,7	13,3	13,3

Tableau n° 4

Action de F⁻ sur la mortalité de la patelle *Patella vulgata*, dans l'eau de mer normale et dans l'eau saumâtre.

Les chiffres expriment des pourcentages cumulés après 6 semaines d'expérimentation.

Salinité	Concentration ppm F ⁻ ajouté	Temps					
		Jours	1	2	3	5	7
33 ‰	Témoin		0	0	0	0	0
	10		0	0	0	0	0
	50		0	0	0	0	3
	100		0	20	37	77	93
	240		20	23	100	-	-
22 ‰	Témoin		0	0	0	0	0
	10		0	0	0	0	0
	50		0	0	0	0	10
	100		0	27	77	100	-
	240		7	13	100	-	-

Tableau n° 5

Action de F⁻ sur la mortalité de la moule *Mytilus edulis* dans l'eau de mer normale et dans l'eau saumâtre. Les chiffres expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.

inférieures à 60 ppm de F^- , les mortalités observées ne sont pas significativement différentes de celles observées pour le témoin.

g) Action sur les larves de Coquilles Saint-Jacques
(*Pectus maximus*)

Les expériences ont été effectuées à la seule salinité de $\approx 33\text{‰}$ dans des bacs de 5 litres, contenant $\approx 7\ 000$ larves chacun. L'eau de mer utilisée était auparavant filtrée à $0,45\ \mu\text{m}$. Les larves mises en expérimentation présentaient une taille de $239\ \mu\text{m} \pm 11$. Elles ont été nourries pendant la durée de l'expérience avec un mélange d'algues unicellulaires.

La détermination du pourcentage d'organismes morts était effectuée sur un aliquote du milieu de contamination après homogénéisation de celui-ci.

La figure n° 5 met en évidence les pourcentages cumulés de mortalité en fonction des concentrations de F^- ajouté et du temps. Nous pouvons constater que pour des concentrations de F^- égales ou inférieures à 20 ppm, les mortalités ne sont pas significativement différentes de celles observées pour le témoin. Par contre, pour les concentrations supérieures à 20 ppm, les mortalités semblent proportionnelles à la concentration de F^- ajouté. C'est ainsi que, pour 240 ppm de F^- ajouté, le taux de mortalité maximal (100 %) est obtenu après 17 jours d'expérience. Ce taux maximal est obtenu au bout de 24 jours et 27 jours pour 120 ppm et 60 ppm respectivement.

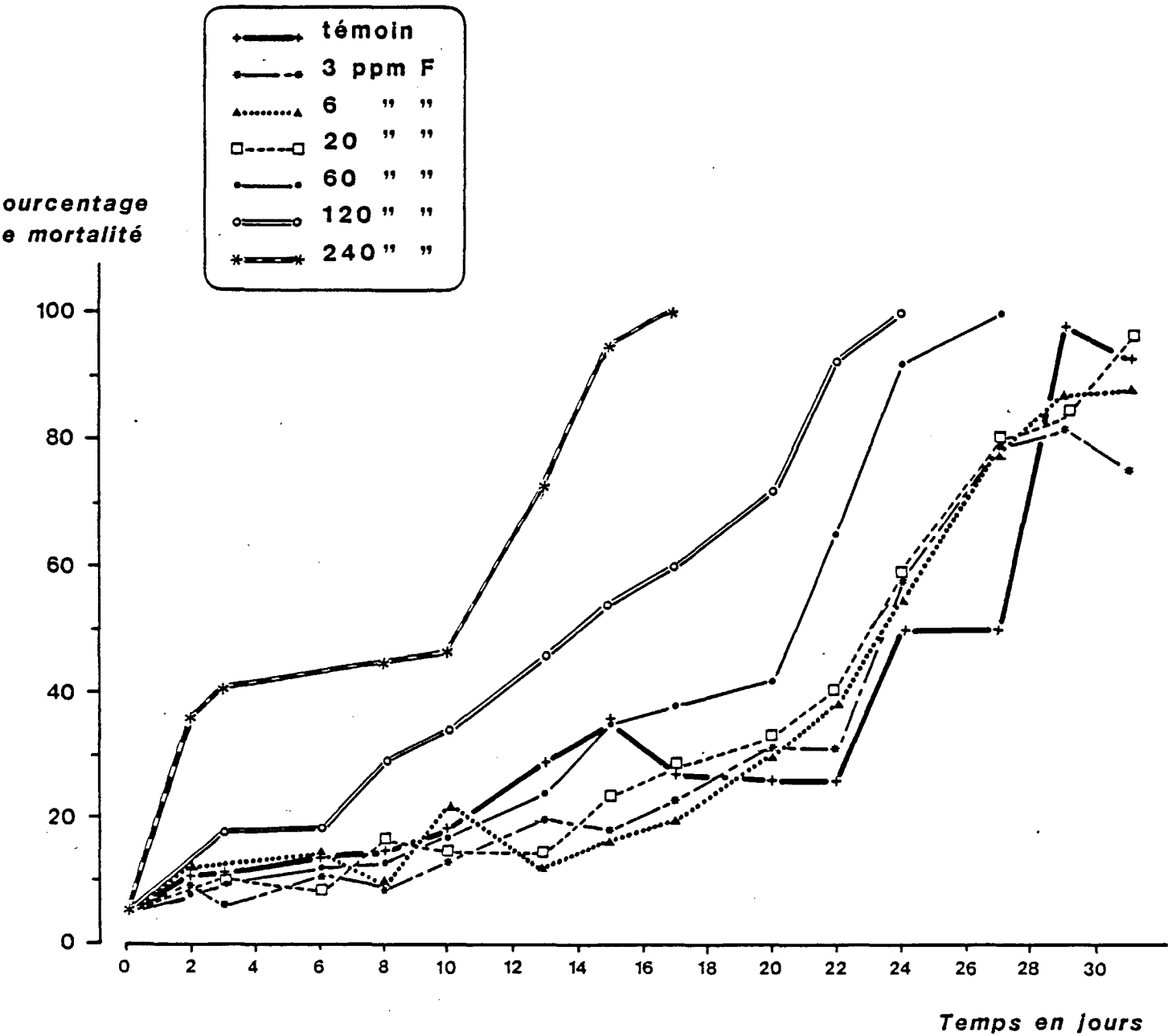
3) Evaluation de l'action de F^- sur des fonctions éthologiques

a) Action sur la croissance (division cellulaire)
de l'algue *Tetraselmis suecica*

Cette expérimentation a été effectuée, outre le témoin, pour deux concentrations de F^- , 3 et 6 ppm. De même, elle a été effectuée à deux salinités, $\approx 33\text{‰}$ et $\approx 22\text{‰}$. Pour sa réalisation, des ballons sphériques d'une contenance de deux litres ont été utilisés.

Figure 5

Action de F^- sur la mortalité des larves de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*)
Les courbes expriment des pourcentages cumulés en fonction du temps.



L'inoculation a été effectuée en utilisant une souche pure de *Tetraselmis suessica*. Les expériences ont été effectuées en lumière continue. Toutes les opérations ont été effectuées en observant les précautions d'asepsie nécessaires en la matière. Tout le matériel utilisé, ainsi que l'eau de mer filtrée à 0,45 μm étaient stérilisés à 110° C.

L'enrichissement du milieu de culture était réalisé à l'aide d'une solution de Conway, contenant vitamines et sels nutritifs, à raison de 1 ml par litre de milieu de culture. Le comptage des cellules présentes dans le milieu de culture est effectué à l'aide d'une cellule de Malassez sur une partie aliquote. Chaque mesure représente une moyenne de 10 comptages effectués sur 5 aliquotes.

La croissance de *Tetraselmis suessica* dans les différentes conditions expérimentales est représentée sur la figure n° 6. Nous pouvons constater que des concentrations de 3 et 6 ppm de F^- , pour des eaux de salinité $\approx 33\text{‰}$ ou 22‰ , n'affectent pas significativement la multiplication de l'algue par rapport aux résultats observés pour le milieu témoin.

La période de stabilité concernant le nombre de cellules par mm^3 , observée à partir du 3ème - 4ème jour d'expérimentation est due à une déficience de nutriment (solution de Conway) dans le milieu expérimental. L'apport de nutriment au sixième jour d'expérimentation permet, après un temps de latence, une reprise de la division cellulaire pour l'ensemble des milieux, témoins ou contaminés.

b) Action sur la croissance du crustacé *Artemia salina*

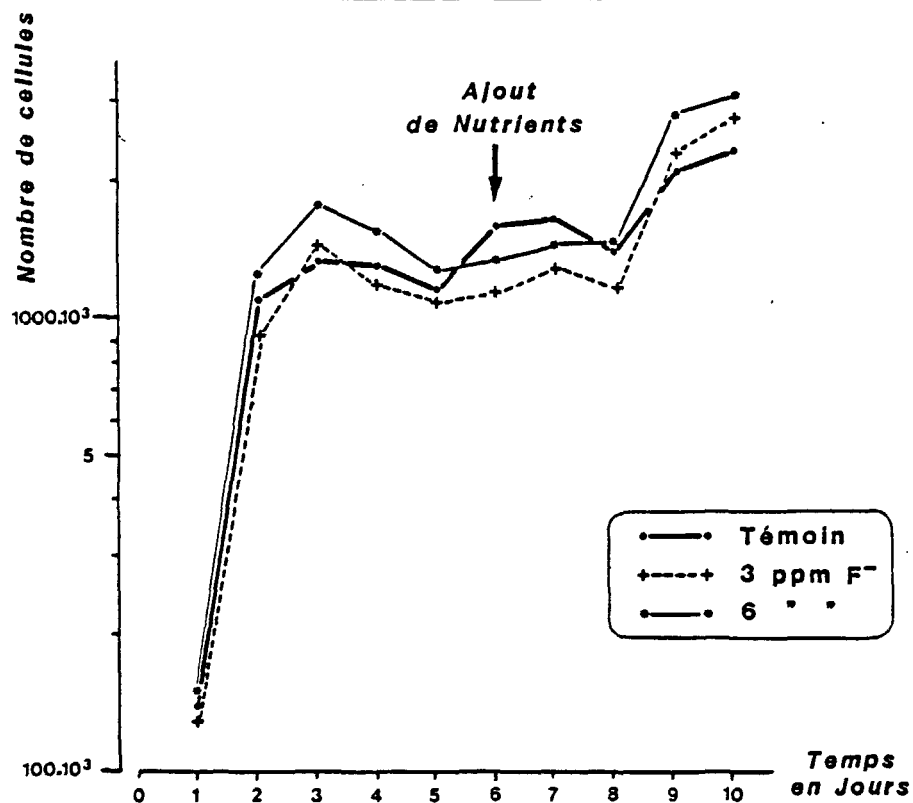
Les expériences ont été effectuées, outre le témoin, pour des concentrations de F^- de 3 et 6 ppm, en eau de mer à salinité normale ($\approx 33\text{‰}$) et réduite ($\approx 22\text{‰}$).

Des larves de deux jours, issues d'un même bac d'éclosion ont été placées dans des bacs de deux litres et nourries par apport d'algue *Tetraselmis suessica*. Les mensurations ont été effectuées sur un aliquote à l'aide d'un micromètre optique. Chaque valeur exprimée sur la figure n° 7 représente une moyenne de 15 mesures.

Figure 6

Action de F^- sur la croissance de l'algue monocellulaire (*Tetraselmis suecica*)
Les courbes expriment la variation du nombre de cellules par millilitre en fonction du temps.

Salinité 33‰



Salinité 22‰

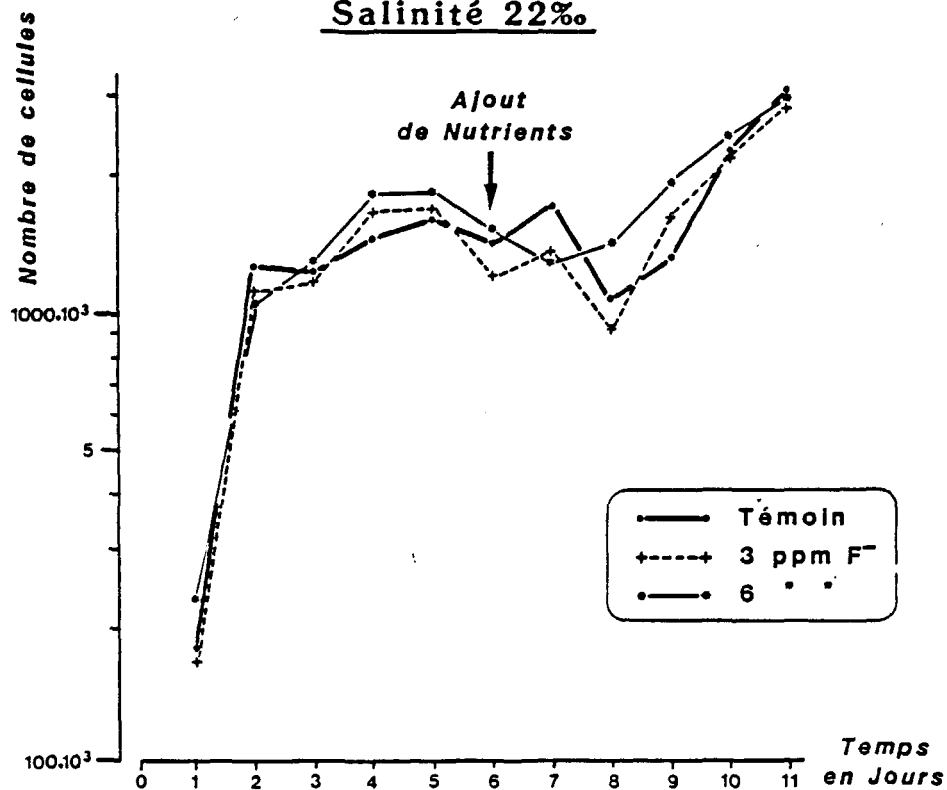
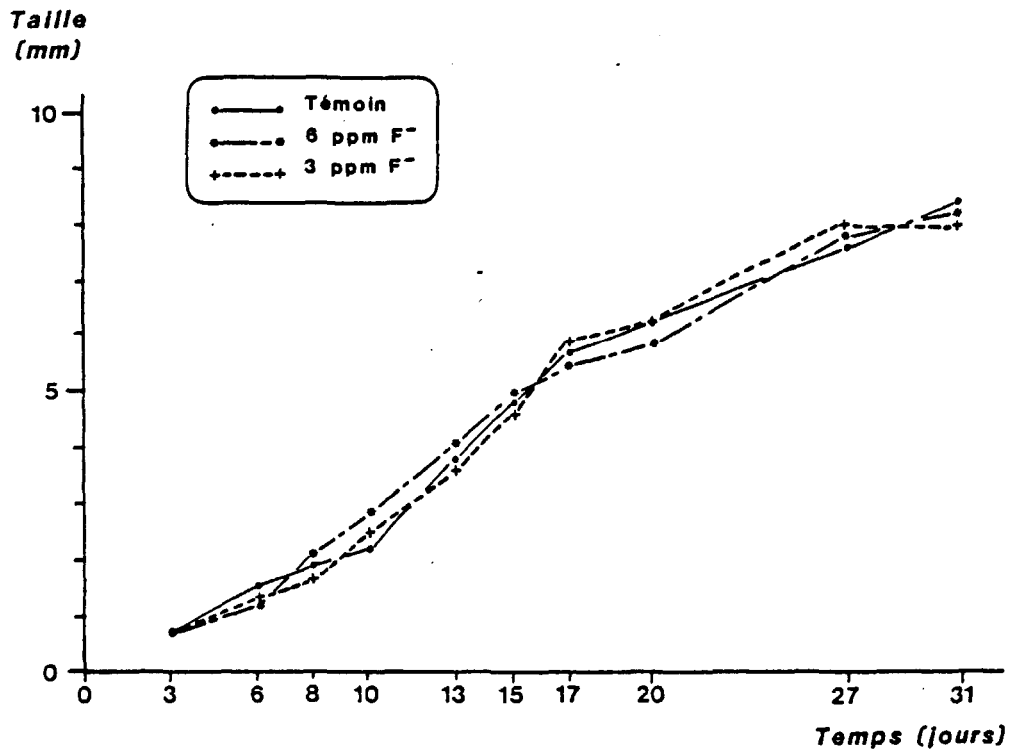


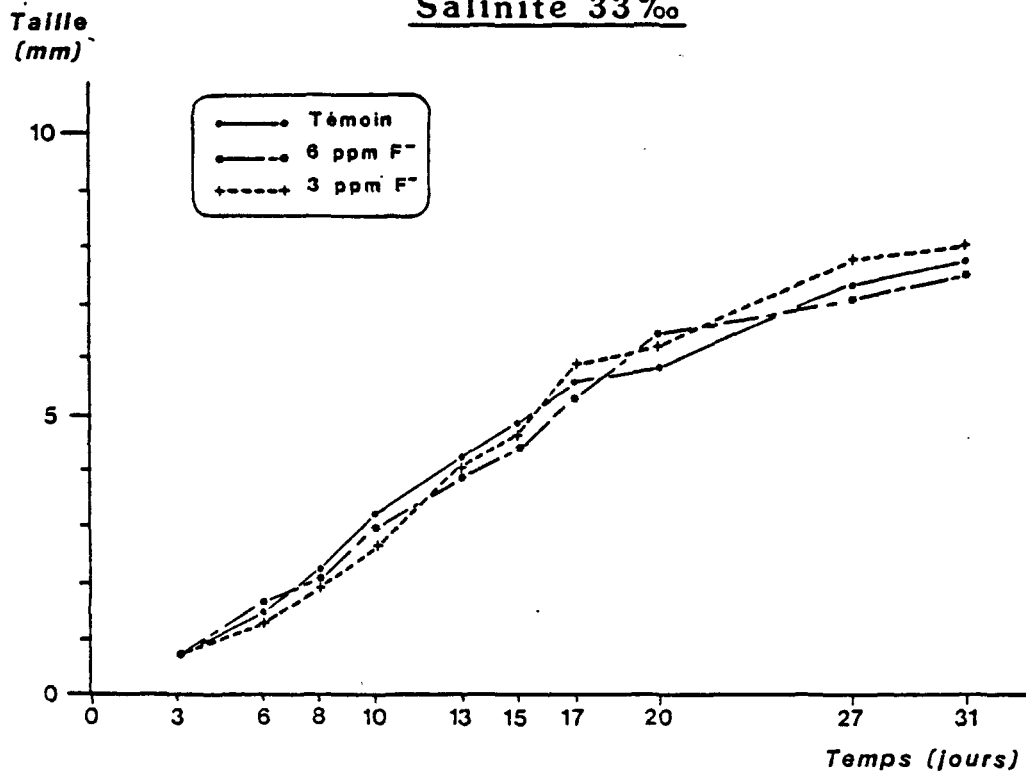
Figure 7

Action de F^- sur la croissance du crustacé *Artemia salina*
en fonction du temps

Salinité 22‰



Salinité 33‰



Les différentes courbes de variation de taille montrent qu'aucune différence significative n'est observée entre les organismes contaminés et les organismes témoins. Ceci est observé aussi bien pour les expérimentations effectuées en eau saumâtre qu'en eau de salinité normale.

c) Action sur le pouvoir de fixation des mollusques

Comme indiqué par ailleurs, l'équilibre des espèces vivant fixées sur un substrat, les mollusques en particulier (patelles et moules par exemple), peut être endommagé si le pouvoir de fixation de celles-ci est compromis, soit par des conditions internes, soit par des conditions externes à l'organisme.

L'action de F^- sur le pouvoir de fixation de la patelle et de la moule a été testée.

Pour la patelle, se fixant par un phénomène de ventouse, aucune variation significative de pouvoir de fixation n'est observée pour les concentrations de F^- testées, c'est à dire jusqu'à 120 ppm. La totalité des organismes dans la totalité des bacs était fixée sur le substrat (parois du bac) en 90 minutes.

Pour ce qui concerne la moule, les expériences ont été effectuées, outre le témoin, pour des concentrations de F^- égales à 3 et 6 ppm, en eau de mer normale et saumâtre. Pour la moule, le système de fixation se fait par l'intermédiaire de filaments. Le pouvoir de fixation peut être exprimé par le nombre de filaments secrétés par l'animal et permettant l'adhérence au substrat.

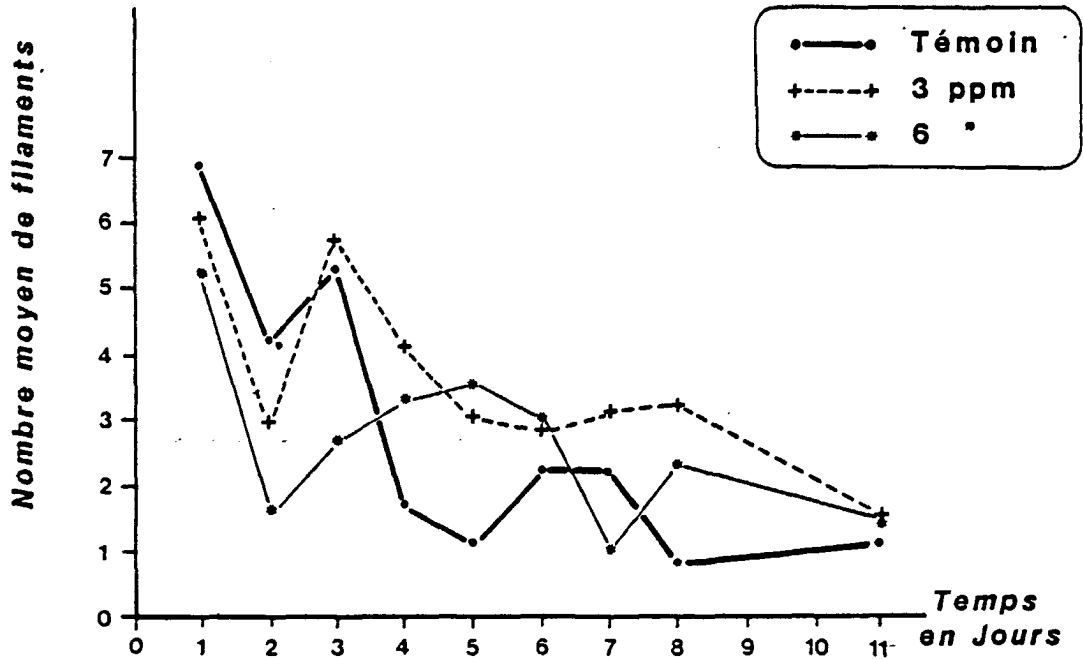
Avant d'être introduites dans le milieu expérimental, les moules ont leur coquille débarassée de toute adhérence et filaments de fixation.

Sur la figure n° 8 est représenté, exprimé par le nombre de filaments reliant la moule au substrat, le potentiel d'attachement des organismes. Ce nombre peut varier en fonction du temps de présence de la moule dans les bacs expérimentaux. Cependant, que les expériences

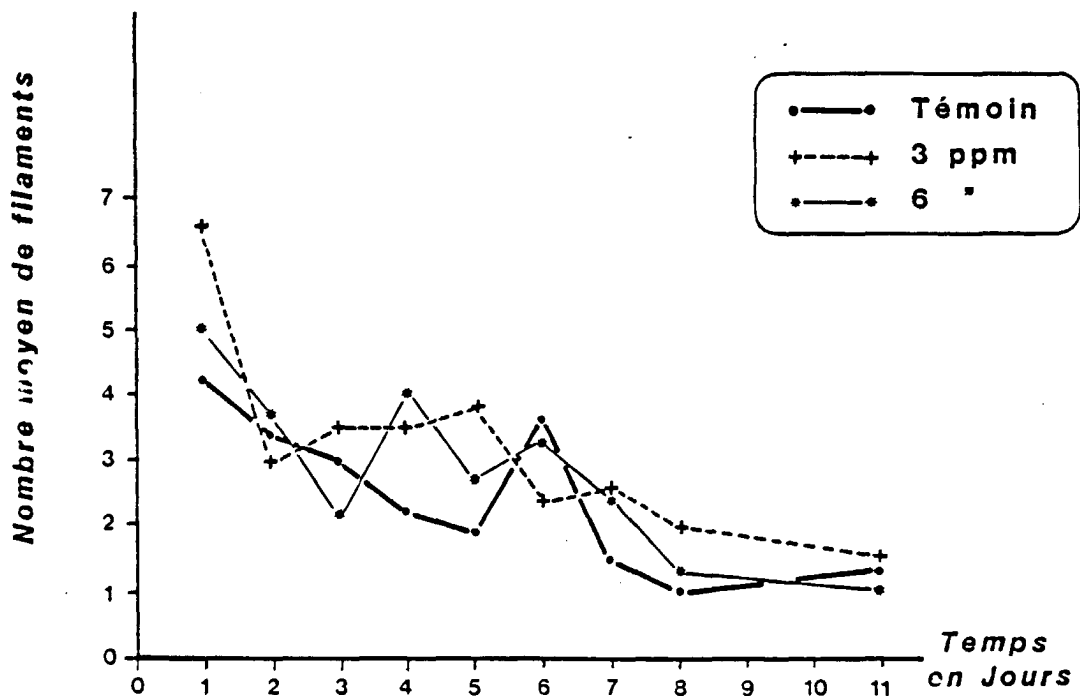
Figure 8

Action de F^- sur le taux d'attachement des moules (*Mytilus edulis*)
exprimé par le nombre de filaments émis

Salinité 22‰



Salinité 33‰



soient effectuées en eau de mer normale ($S \approx 33\text{‰}$) ou en eau de mer saumâtre ($S \approx 22\text{‰}$), aucune différence significative n'est observée entre les organismes témoins et les organismes contaminés.

d) Action sur la nutrition et la croissance de l'ormeau *Haliotis tuberculata*

Des ormeaux juvéniles, dont la taille est comprise entre 15 et 25 mm, ont été mis en expérimentation à raison de quarante individus par bac. Pendant la durée de l'expérience, ils ont été nourris par apport quotidien excédentaire d'algue macrophyte *Rhodomenia palmata*. Le poids de l'algue apportée est précisément déterminé de même que celui de l'algue excédentaire restant dans les bacs après 24 heures. Ces mesures sont effectuées quotidiennement et représentent la quantité journalière d'algue ingérée par les ormeaux.

Ces expériences ont été effectuées pour différentes concentrations de F^- , à salinité normale ($\approx 33\text{‰}$).

La figure n° 9 met en évidence les variations de quantité de nourriture ingérée quotidiennement à différentes concentrations de F^- . Les valeurs portées sur cette figure ont été calculées pour la durée de l'expérience (45 jours) et correspondent donc à la moyenne de 45 mesures, pour l'ensemble des 40 ormeaux.

Sur la figure n° 9, nous pouvons constater que des variations significatives de quantité quotidienne de nourriture ingérée apparaissent pour des concentrations de F^- ajoutée de 60 ppm et 120 ppm. Pour les concentrations égales ou inférieures à 20 ppm, ces quantités ne sont pas significativement différentes de celles observées pour le témoin. En effet, il apparaît que pour des concentrations de F^- de 120 ppm, les quantités journalières de nourriture ingérée sont équivalentes, en moyenne, à 1/7 de la quantité de nourriture ingérée pour des concentrations de F^- égales ou inférieures à 20 ppm.

Ces variations de quantité de nourriture ingérée interfèrent sur la croissance pondérale déterminée par le calcul de la moyenne du poids sec de la chair (coquille non comprise) des organismes (figure

Figure 9

Action de F^- sur la nutrition des ormeaux
(*Haliotis tuberculata*)

Dose de nourriture ingérée
(mg/l/g de chair)

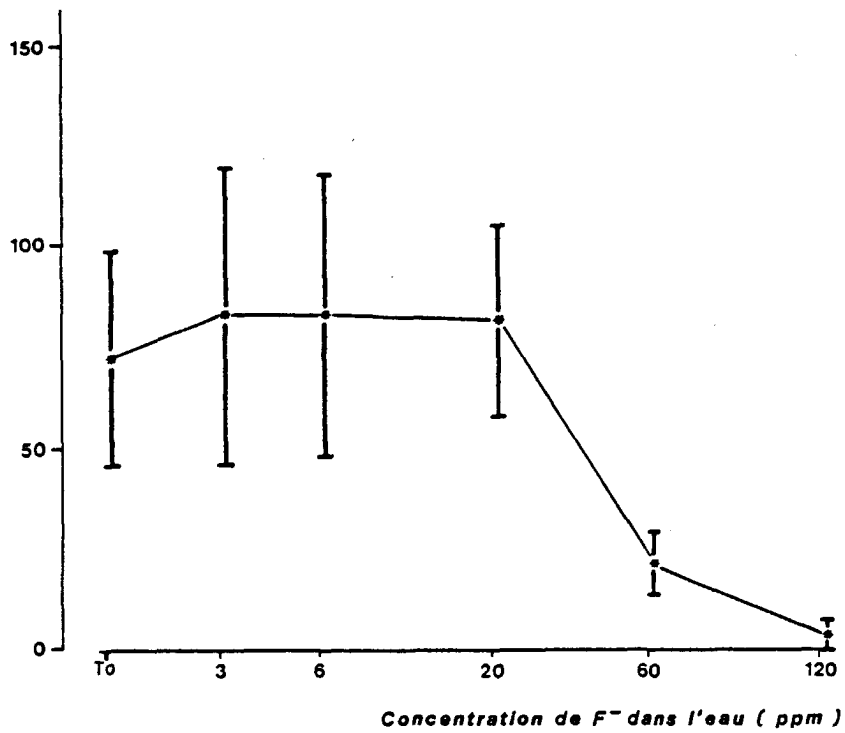
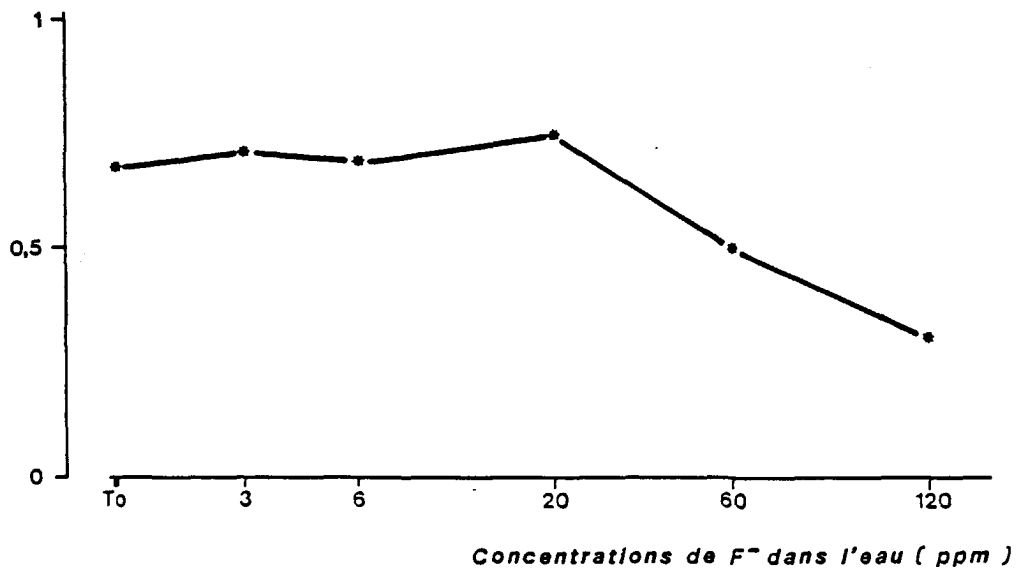


Figure 10

Action de F^- sur la croissance pondérale des ormeaux
(*Haliotis tuberculata*)

Poids moyen (g)



n° 10). Les valeurs exprimées sur cette figure représentent la moyenne du poids sec de chaque organisme calculée pour un pool d'organismes en fin de contamination. Nous pouvons constater que, comme pour la quantité de nourriture ingérée, des variations apparaissent pour des concentrations de F^- égales ou supérieures à 60 ppm. Pour les concentrations égales ou inférieures à 20 ppm, le poids moyen de l'organisme sans coquille n'est pas significativement différent de celui mesuré pour les témoins.

e) Action sur l'éclosion des oeufs et la viabilité des larves de turbot *Scophthalmus maximus*

Cette expérimentation est effectuée à salinité normale ($S = 33\text{‰}$) à la température de 13°C . Des oeufs de turbot, issus des mêmes géniteurs, sont placés dans des récipients d'éclosion, à raison de 200 à 370 oeufs par récipient et comptés précisément. Ces oeufs sont incubés pendant 4 jours dans les solutions contaminées à différentes concentrations de F^- , jusqu'à leur éclosion. Les larves issues de ces oeufs sont conservées pendant 4 jours. Au cours de cette expérience ont été mesurés, et pour des concentrations de F^- ajouté s'échelonnant de 0 à 240 ppm, le pourcentage d'oeufs éclos, le pourcentage de larves malformées (déformation au niveau de la colonne vertébrale), et enfin, le pourcentage de "déchets" (oeufs non éclos et larves déformées) par rapport au nombre d'oeufs mis en expérimentation.

Les résultats sont présentés sur le tableau n° 6. Nous pouvons constater que seule la concentration de 240 ppm de F^- ajouté a un effet significatif sur les paramètres mesurés. En effet, pour cette valeur, le taux d'éclosion est de 82,5 % au lieu de $\approx 90\%$ pour les valeurs de F^- inférieures ou égales à 120 ppm, y compris les témoins. De même, si nous considérons, après éclosion, le taux de larves malformées, nous constatons que pour des valeurs de F^- inférieures ou égales à 120 ppm, celui-ci est situé aux environs de 3-5 % en moyenne, et qu'il atteint 42-49,5 % pour 240 ppm de F^- ajouté. Pour le bilan global, pour des valeurs de F^- inférieures ou égales à 120 ppm, de 11 à 17 % des oeufs et larves apparaissent non viables soit par non éclosion, soit par déformation, alors que ces chiffres atteignent 58 % pour des concentrations de 240 ppm de F^- ajouté.

Concentration de F ⁻ dans l'eau de mer	0	3	6	20	60	120	240
Nombre d'oeufs expérimentés	265	253	209	241	282	365	235
	258	263	369	307	322	281	228
% d'oeufs éclos	88,3	91,3	90,0	90,5	92,2	91,5	82,6
	89,5	90,1	90,5	87,3	86,3	90,8	82,5
% larves malformées vivantes	2,6	3,0	4,3	5,5	3,5	4,2	42,3
	3,9	4,2	3,6	4,4	4,3	4,7	49,5
% d'oeufs non éclos + larves malformées	14,0	11,5	13,9	14,5	11,0	12,3	52,3
	14,0	13,7	12,7	15,6	17,4	13,5	58,3

Tableau n° 6

Effets de F⁻ sur l'éclosion des oeufs et la viabilité des larves du turbot *Scophthalmus maximus*.

4) Accumulation du fluor dans les organismes

a) Accumulation dans l'algue *Tetraselmis suecica*

Après 28 jours de contamination à différentes concentrations de F^- , la culture d'algue *Tetraselmis suecica* est prélevée, filtrée et lavée à l'eau déminéralisée pour éliminer le fluor contaminant les cellules par adsorption. Les analyses sont effectuées selon le protocole précédemment décrit.

Concentration F^- dans eau de mer	Témoins	10 ppm	30 ppm	120 ppm
28 jours	6,3	9,6	42,8	49,0

Tableau n° 7

Accumulation de F^- chez l'algue monocellulaire *Tetraselmis suecica* après 28 jours de contamination.

Les concentrations de F^- dans les algues sont reportées sur le tableau n° 7. Nous pouvons constater qu'il existe une accumulation significative de F^- par ces organismes. En effet, après 28 jours d'expérimentation, les concentrations de F^- sont de 49 ppm pour une contamination de 120 ppm dans l'eau, alors que le témoin présente des concentrations de 6,3 ppm.

b) Accumulation dans la moule *Mytilus edulis*

Les analyses ont été effectuées après 14 jours et 30 jours de contamination respectivement.

Sur le tableau n° 8, nous pouvons constater que les concentrations de F^- dans les organismes soumis à une eau contaminée, ne sont pas significativement différents des concentrations de F^- mesuré pour les organismes témoins.

Concentration F ⁻ eau de mer	Témoin	3 ppm	6 ppm	20 ppm	60 ppm
Temps (Jours)					
14 (*)	0,7 (Pool de 4)	1,4 (Pool de 4)	3,4 (Pool de 4)	1,2 (Pool de 4)	2,4 (Pool de 4)
30 (**)	3,0 ± 1,4 (Pool de 5)	1,7 ± 0,3 (Pool de 5)	1,8 ± 1,2 (Pool de 5)	2,2 ± 0,7 (Pool de 5)	4,7 ± 2,4 (Pool de 5)

Tableau n° 8

Accumulation de F⁻ chez la moule *Mytilus edulis* en fonction du temps.

* 1 pool analysé

** 3 pools analysés

Pour 14 jours de contamination, les analyses ont été effectuées sur un pool de 4 moules.

Les variations observées, pour une même période de contamination, semblent être sous la dépendance des variations individuelles de concentration, de même que pour une même concentration à des périodes différentes. C'est ainsi, par exemple, que pour 30 jours d'expérimentation, les concentrations observées pour 20 ppm sont inférieures à celles observées pour le témoin (2,2 et 3,0 ppm respectivement), de même que pour une même concentration de contaminant, 6 ppm, les concentrations observées après 30 jours de contamination sont inférieures à celles observées après 14 jours (1,8 et 3,4 ppm respectivement).

La concentration de F^- dans les organismes apparaît indépendante de la concentration du F^- dans l'eau.

c) Accumulation dans la patelle *Patella vulgata*.

Les analyses ont été effectuées après 60 jours de contamination pour des organismes placés en eau de mer normale (Salinité $\approx 33\text{‰}$).

La figure n° 11 montre que F^- subit une accumulation de la part des organismes en relation avec la concentration de l'élément dans l'eau de mer. Après 60 jours de contamination, les valeurs observées peuvent atteindre 1 000 ppm de F^- , calculées par rapport au poids sec. Il est à noter que les cinétiques d'accumulation en fonction de la concentration du F^- dans le milieu sont différentes selon la salinité. L'accumulation en eau de mer de salinité $\approx 33\text{‰}$ est supérieure à celle observée pour une salinité de 22‰ .

Il est également à noter que des accumulations significatives de F^- sont observées pour des concentrations de 3 et 6 ppm. En effet, après 60 jours de contamination, les concentrations observées en eau de mer normale sont pour le témoin, 3 ppm et 6 ppm de 111 ppm, 149 ppm et 235 ppm respectivement.

d) Accumulation dans l'ormeau *Haliotis tuberculata*

Les analyses de F^- ont été effectuées après 45 jours de contamination dans une eau de mer à salinité normale. Les résultats concernant la contamination de la chair sont reportés sur la figure n° 12. Nous pouvons constater sur celle-ci que les concentrations dans l'organisme sont proportionnelles aux concentrations de F^- dans l'eau de mer. Ces concentrations atteignent 443 ppm de moyenne pour 120 ppm de F^- dans l'eau de mer.

Nous pouvons également constater que les premières variations significatives de concentration de F^- dans l'organisme apparaissent pour la concentration de 60 ppm de F^- dans l'eau de mer. En effet, pour les concentrations 3 ppm, 6 ppm, 20 ppm de F^- dans l'eau de mer, les concentrations mesurées dans l'organisme ne sont pas significativement différentes de celles mesurées dans le témoin. Les concentrations moyennes mesurées sont respectivement les suivantes : 2,6 ppm (témoin), 1,8 ppm (3 ppm), 2,0 ppm (6 ppm), 3,6 ppm (20 ppm).

Les ormeaux ont été pris comme organisme témoin pour démontrer quelle pouvait être la cinétique d'accumulation du F^- , pour une même concentration de contamination, en fonction du temps.

La concentration de 60 ppm de F^- dans l'eau de mer a été considérée. Cette expérience a été effectuée en eau de mer à salinité $\approx 33\text{‰}$ pendant 66 jours.

La figure n° 13 montre les variations de concentration de F^- dans l'organisme. Il est à remarquer que, comme cela a été précédemment observé, qu'une accumulation de F^- se produit. Cependant, cette accumulation, de la part de l'organisme, ne semble pas être immédiate. En effet, nous pouvons constater qu'au cours des 22 premiers jours de contamination, les concentrations mesurées ne sont pas significativement différentes les unes des autres et, ne sont pas significativement différentes des valeurs observées pour les organismes témoins. Les augmentations de concentration dans l'organisme apparaissent pour des temps de contamination égaux ou supérieurs à 22 jours et égaux ou inférieurs à 45 jours.

Figure 11
 Accumulation de F^- chez la patelle *Patella vulgata*
 à deux salinités différentes,
 après 60 jours de contamination

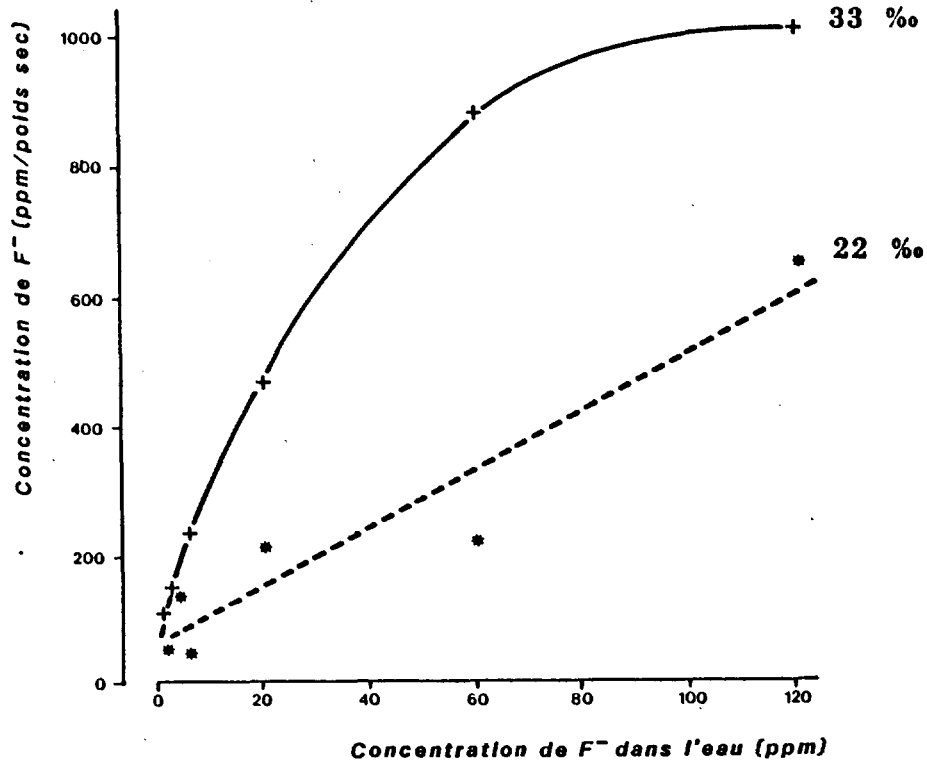
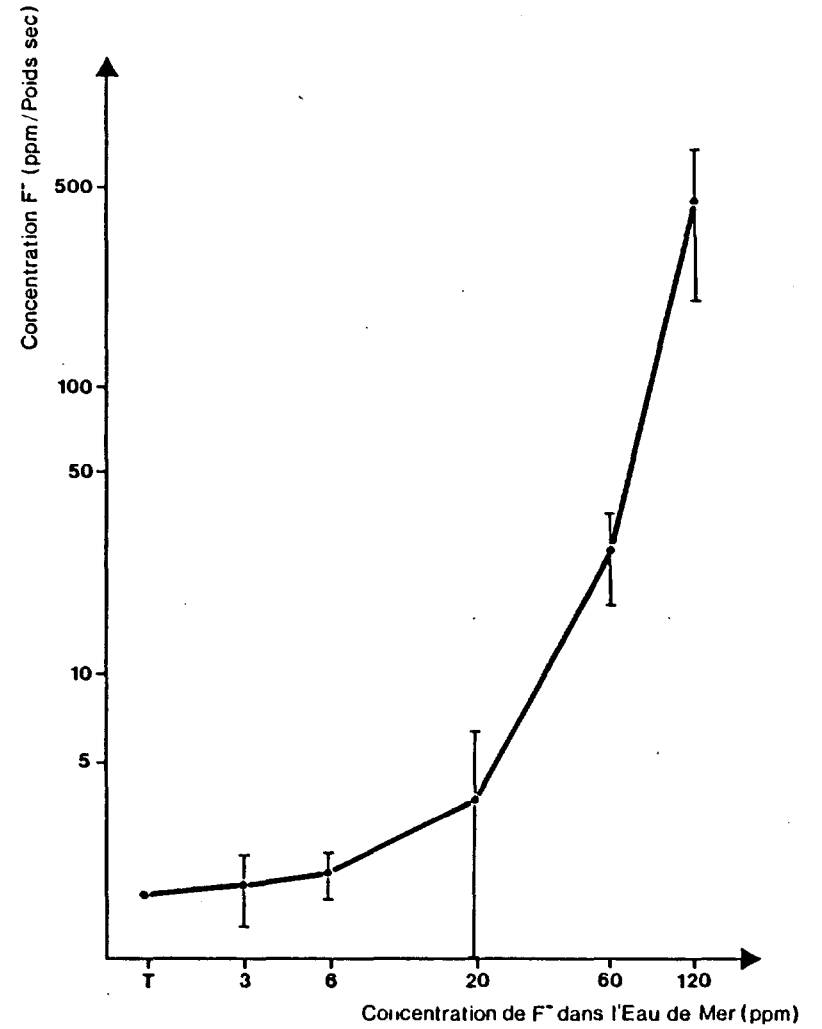


Figure 12
 Accumulation de F^- chez l'ormeau *Haliotis tuberculata*
 après 45 jours de contamination



L'accumulation du F^- dans la coquille de l'ormeau a été mise en évidence, en fonction du temps, pour une concentration de F^- dans l'eau de mer, 60 ppm. L'expérimentation a été réalisée pendant 66 jours.

Sur la figure n° 14, nous pouvons constater que F^- est accumulé dans la coquille de façon directement proportionnelle au temps de contact entre l'organisme et la solution contaminante.

e) Accumulation dans l'artémie *Artemia Salina*

Les contaminations ont été effectuées pendant une période de 40 jours. Cette période couvre la phase essentielle d'existence des artémies puisque les cystes ont éclos dans les solutions contaminées et que les organismes avaient atteint leur taille adulte au moment du prélèvement pour l'analyse.

Concentration F^- dans l'eau de mer	T	10 ppm	20 ppm	60 ppm	120 ppm
Concentration F^- dans l'organisme	3,73	2,08	2,56	2,00	3,10

Tableau n° 9

Accumulation de F^- chez le crustacé *Artemia salina* après 40 jours de contamination. Chaque mesure a été effectuée sur un pool de plusieurs dizaines d'organismes.

Le tableau n° 9 montre que la concentration de F^- dans *Artemia salina*, après 40 jours de contamination à des concentrations allant jusqu'à 120 ppm F^- , ne sont pas significativement différentes de celles observées pour les échantillons témoins.

f) Accumulation dans la crevette *Penaeus japonicus*

Les expériences ont été réalisées pour un type de salinité (= 33‰). Les prélèvements et les analyses ont été effectués pour deux périodes de contamination, 13 jours et 30 jours.

Figure 13

Accumulation de F^- chez l'ormeau *Haliotis tuberculata*
en fonction du temps,
pour une concentration de 60 mg/l de F^- dans l'eau de mer

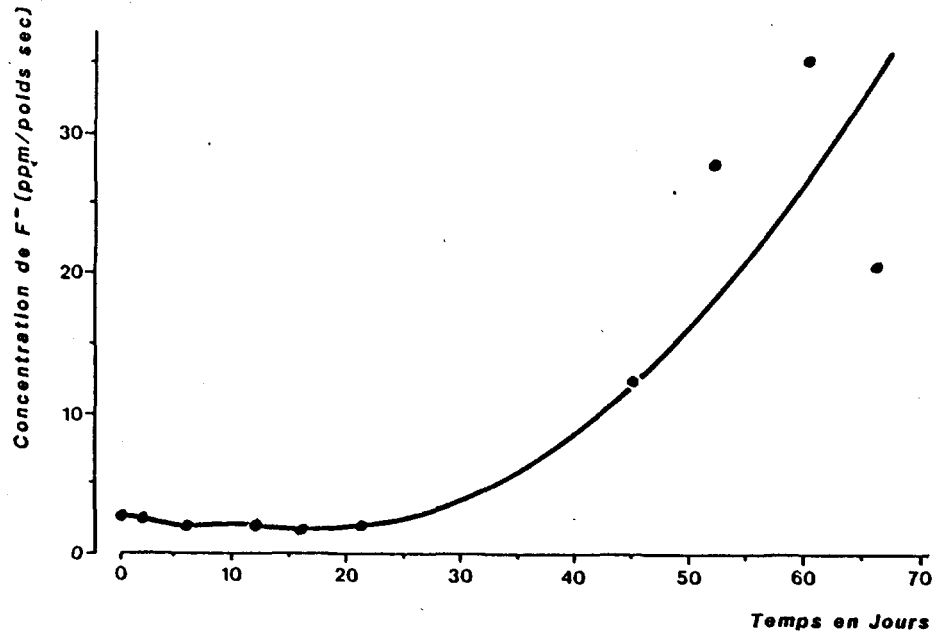
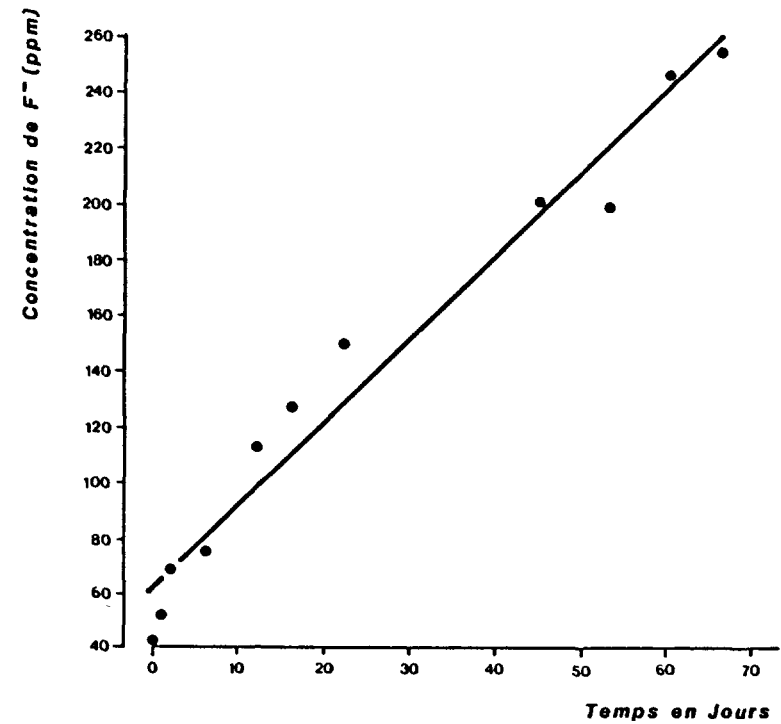


Figure 14

Accumulation de F^- dans la coquille de l'ormeau *Haliotis tuberculata*
en fonction du temps,
pour une concentration de 60 mg/l de F^- dans l'eau de mer



La figure n° 15 met en évidence les variations de concentration de F^- dans l'organisme en fonction de la concentration de F^- dans l'eau de mer. Il apparaît que la concentration dans l'organisme est directement proportionnelle à la concentration dans l'eau de mer.

Il est à remarquer que l'augmentation de concentration de F^- dans l'organisme est significative pour des concentrations de F^- dans l'eau de mer de 3 et 6 ppm. En effet, les concentrations observées dans les organismes témoins et les organismes contaminés par 3 et 6 ppm sont respectivement de 27,4 ppm, 48,8 ppm et 117,1 ppm.

Identification	ppm F^- /poids sec
Témoin Total	27,9 ± 6,2
Exosquelette	84,5
Hépatopancréas	9,8
Muscle	3,4
60 ppm Total	987 ± 338
Exosquelette	1 208,3
Hépatopancréas	25,9
Muscle	9,6

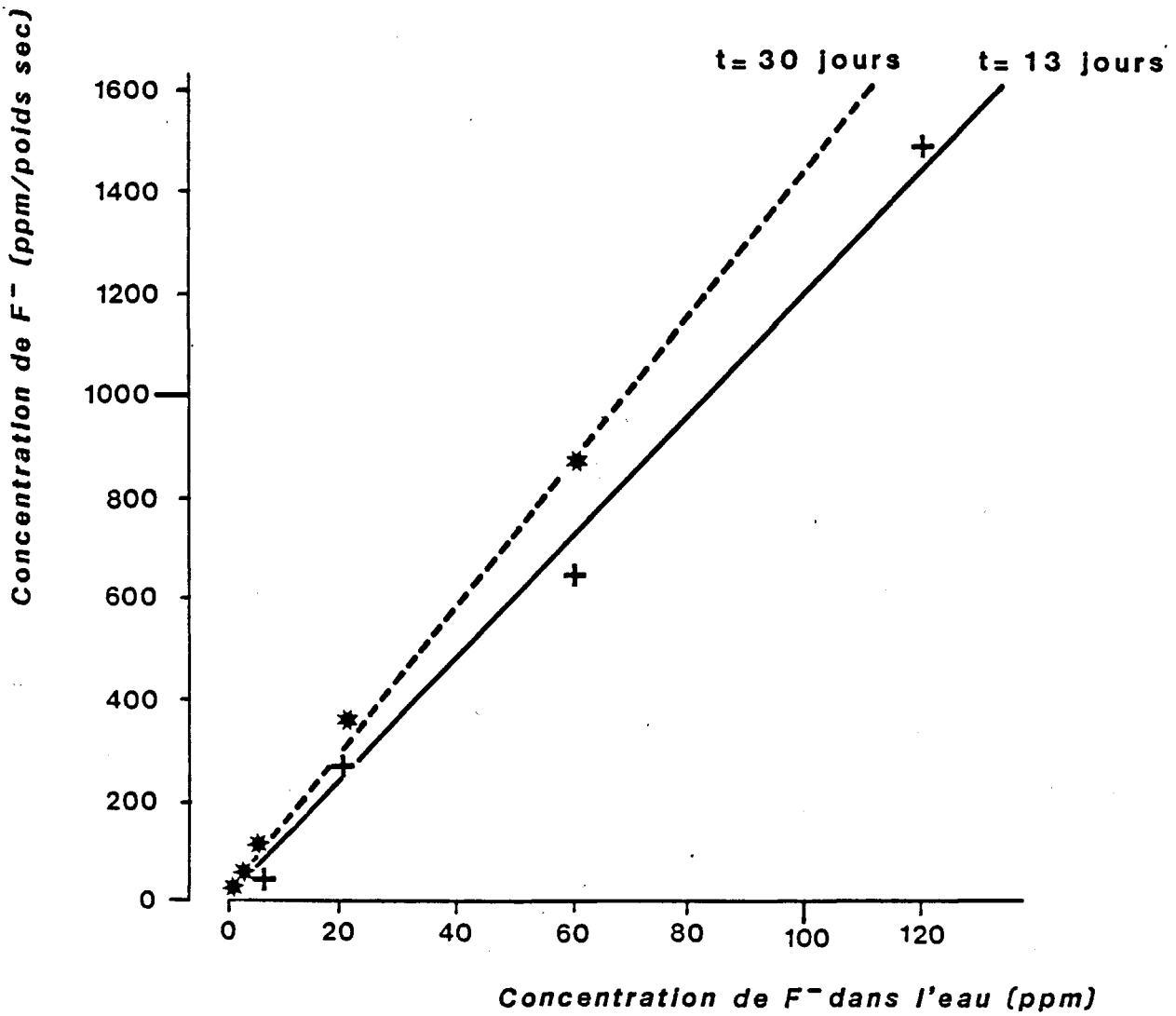
Tableau n° 10

Accumulation de F^- dans les crevettes *Penaeus japonicus* totales et dans leurs tissus après 2 semaines de contamination.

La détermination des sites préférentiels de fixation de F^- dans l'organisme a été effectuée pour des organismes prélevés après 2 semaines de contamination dans une solution 60 ppm. Le tableau n° 10 montre que la majeure partie du fluor a été fixée au niveau de l'exosquelette. Toutefois, les valeurs observées au niveau de l'hépatopancréas et du muscle témoignent d'une augmentation du F^- dans ces tissus au cours de la contamination.

Figure 15

Accumulation de F^- chez la crevette *Penaeus japonicus*
après 13 jours et 30 jours de contamination



g) Accumulation dans la truite *Salmo gairdnerii*

Les expériences ont été réalisées en eau de mer à salinité normale. Les contaminations étaient effectuées en système ouvert par apport régulier de contaminant (la description des modalités de réalisation de cette expérience est effectuée par ailleurs).

Une expérience préliminaire d'une durée de 8 mois a été effectuée. Les concentrations théoriques de F^- ajoutées sous forme $Na F$ étaient de 3 ppm, 6 ppm et 12 ppm respectivement. Les concentrations réelles mesurées dans l'eau sont reportées sur le tableau n° 11, de même que les concentrations mesurées dans les organismes.

	T	3 ppm	6 ppm	12 ppm
42ème jour	21,8 ± 5,5 (4)	19,3 ± 0,5 (2)	-	33,6 ± 2,8 (2)
83ème jour	11,3 ± 1,9 (4)	19,8 ± 8,0 (2)	27,9 ± 4,8 (2)	42,4 ± 23,3 (2)
110ème jour	-	23,9 ± 11,5 (2)	25,2 ± 5,2 (3)	43,3 ± 9,6 (4)
Concentrations moyennes dans l'eau	1,1 ± 0,1	3,2 ± 0,7	6,1 ± 1,3	10,3 ± 2,0

Tableau n° 11

Accumulation de F^- chez le poisson *Salmo gairdnerii* analysé *in toto* en fonction du temps ainsi que la concentration réelle moyenne de F^- dans l'eau des élevages.

Entre parenthèses : nombre d'individus analysés.

Les résultats montrent que les organismes sont l'objet d'une concentration restreinte de F^- , mais cependant significative, en particulier pour la concentration de 12 ppm de F^- ajouté.

Pour la seconde série d'expériences, les concentrations théoriques de F^- testées étaient de 6 et 18 ppm.

Ajout \ Temps en semaine	14	18	28	35
	6 ppm	7,4 ± 1,2 (4)	6,1 ± 0,3 (4)	6,1 ± 0,4 (4)
18 ppm	18,5 ± 2,4 (3)	15,7 ± 1,1 (3)	14,9 ± 2,0 (3)	13,7 ± 0,9 (3)

Tableau n° 12

Concentration en F^- réelle de l'eau d'élevage en fonction du temps, en fonction des quantités de F^- ajoutées sous forme Na F.

La concentration de F^- dans l'eau d'élevage du témoin est comprise entre 1 mg/l et 1,2 mg/l.

Entre parenthèses : nombre d'analyses effectuées.

Le tableau n° 12 montre les concentrations de F^- mesurées en fonction du temps dans les bacs expérimentaux.

Pour cette seconde série d'expériences, les concentrations de F^- n'ont pas été déterminées pour l'organisme *in toto*, mais au niveau de chaque organe.

Le tableau n° 13 montre les concentrations de F^- dans les différents tissus et organes après 40 semaines d'expérimentation pour la contamination de 18 ppm de F^- ajouté dans l'eau de mer. Les résultats montrent que F^- est accumulé significativement dans trois tissus et organes : la peau, les branchies et les arêtes-épine dorsale. Les concentrations de F^- observées dans les muscles, les testicules, les oeufs-ovaires et le foie ne sont pas significativement différentes de celles observées pour les témoins. Les concentrations les plus élevées, supérieures à 1 000 ppm, sont observées au niveau des arêtes-épine dorsale.

	Témoïn	18 ppm Na F
Foies	1,5 (Pool)	0,5 (Pool)
Oeufs-ovaires	0,6 (Pool)	0,4 (Pool)
Testicules	0,5 (Pool)	0,2 (Pool)
Muscles	0,7 ± 0,3 (6)	0,4 ± 0,1 (5)
Peau	16,5 ± 15,2 (6)	42,1 ± 26 (6)
Branchies	140,9 ± 70,6 (6)	418,9 ± 215,4 (6)
Arêtes	310 ± 137 (15)	1 163 ± 466 (12)

Tableau n° 13

Concentration de F⁻ dans les différents tissus des truites *Salmo gairdneri* après 40 semaines de contamination.

Entre parenthèses : nombre d'analyses effectuées.

L'évolution du fluor au niveau des arêtes et de l'épine dorsale a été déterminée (Tableau n° 14). Les résultats montrent que des variations significatives de concentration existent entre les arêtes témoin et les arêtes d'organismes contaminés à 18 ppm et 6 ppm. Il est à remarquer que les concentrations observées pour chacune des contaminations témoignent de grandes variations individuelles.

Par ailleurs, les variations de concentration dans le temps pour les organismes contaminés n'apparaissent pas significatives. Il semblerait que les concentrations maximales de F⁻ dans les arêtes et l'épine dorsale soient atteintes avant la 14^{ème} semaine de contamination, durée qui correspond aux premiers prélèvements analysés.

Il est à remarquer que pour les organismes témoins, la concentration de F⁻ dans les arêtes et l'épine dorsale augmente en fonction du temps et donc de l'âge de l'animal. En effet, la concentration de F⁻ est constante au cours de l'expérience, alors que la concentration de F⁻ dans les arêtes est respectivement de 192 ppm, 279 ppm et 310 ppm après 14, 28 et 40 semaines d'expérimentation.

Concentration eau de mer \ Temps	14 semaines	28 semaines	40 semaines
Témoïn	192 ± 52	279 ± 108	310 ± 137
	136 - 285	187 - 487	163 - 673
	(6)	(6)	(15)
6 ppm Na F	525,5 ± 109	736 ± 373	538 ± 286
	464 - 747	418 - 1 409	299 - 1 347
	(6)	(6)	(15)
18 ppm Na F	967 ± 150	1 083 ± 250	1 163 ± 466
	807 - 1 189	712 - 1 299	653 - 2 278
	(6)	(6)	(15)

Tableau n° 14

Accumulation de F^- dans les arêtes et l'épine dorsale des poissons *Salmo gairdnerii* en fonction du temps. Les chiffres expriment les moyennes ainsi que la valeur minimale et maximale observés. Entre parenthèses : nombre d'analyses.

B - ACTION DU PHOSPHOGYPSE ET DE F⁻ ISSU DU PHOSPHOGYPSE

Ces expériences avaient pour but de comparer l'action réciproque du F⁻ fourni sous forme de Na F et du phosphogypse, surtout pour ce qui concerne l'accumulation de cet élément. Par ailleurs, des expérimentations ont été réalisées avec Ca F₂, qui a été démontré comme insoluble dans l'eau de mer, pour déterminer l'action du matériel en suspension dans les accumulations observées de F⁻.

Les protocoles expérimentaux d'élevage et d'analyses sont identiques à ceux décrits précédemment (chapitre II).

Comme pour les expériences effectuées avec Na F, l'eau des bacs, contaminée ou non, a été renouvelée toutes les 24 heures. Il était nécessaire de connaître les concentrations réelles de F⁻ dans les bacs expérimentaux en fonction de l'apport de phosphogypse et de Ca F₂.

Temps	Valeur de l'ajout :				
	0 g/l	1 g/l	10 g/l	50 g/l	100 g/l
6 h	1,6	2,8	5,8	9,4	14,1
1 j	1,4	3,7	7,0	11,1	16,8
2 j	1,3	3,8	8,4	14,9	20,3
5 j	1,6	4,2	9,9	20,8	26,5
12 j	1,3	4,5	16,0	32,5	35,0
28 j	-	5,2	17,5	42,5	41,0
42 j	-	6,1	26,5	49,9	50,0

Tableau n° 15

Dissolution du phosphogypse. Concentration en ppm de F⁻ observée au cours du temps en fonction de la quantité de phosphogypse ajoutée.

Il apparait (Tableau n° 15) que le phosphogypse libère du fluor. Il est à noter également que dans le cas de nos expériences, les quantités de F^- libéré ne sont pas proportionnelles à la quantité de phosphogypse ajouté. Ceci est dû au fait que les expériences de dissolution ont été effectuées dans une enceinte pour laquelle le volume d'eau est par définition "fini".

Pour une expérience de 24 heures, des apports de phosphogypse de 0,250 et 1,0 gm/litre d'eau de mer occasionnent une concentration de F^- de 2,05 et 4 ppm de F^- (Tableau n° 16). Par contre $Ca F_2$, comme cela a été précédemment montré, ne libère pas d'ion F^- ; les concentrations observées n'étant pas différentes de celles mesurées dans l'eau de mer.

	Ajout dans l'eau	Concentration de F^- dans l'eau de mer
Ca F_2	50 mg/l	1,43
	250 mg/l	1,53
Phosphogypse	250 mg/l	2,05
	1 g/l	4,00

Tableau n° 16

Solubilité de $Ca F_2$ et du phosphogypse.

Concentration réelle de F^- dans l'eau en fonction des ajouts de $Ca F_2$ et phosphogypse après 24 heures.

1) Action sur la létalité

Les expériences ont été réalisées sur la moule *Mytilus edulis* et la crevette *Penaeus japonicus*.

Pour ce qui concerne la moule, les expériences effectuées pour des contaminations de 1 gm/litre de phosphogypse et 0,25 gm/litre de $Ca F_2$ ne témoignent d'aucune mortalité significative des organismes pendant la durée de l'expérience, c'est à dire 20 jours.

Aucune mortalité n'est également observée pour la crevette

Penaeus japonicus pour des concentrations de phosphogypse de 0,1 g/l, 0,2 gm/l et 0,5 gm/l, et des concentrations de Ca F₂ de 0,025 gm/l, 0,75 gm/l et 0,150 gm/l pour une expérimentation de 12 jours.

2) Accumulation du fluor dans les organismes

Les analyses ont été effectuées en considérant 3 organismes test : la moule *Mytilus edulis*, la crevette *Penaeus japonicus* et la truite *Salmo gairdnerii*.

a) Accumulation dans la moule *Mytilus edulis*

Le tableau n° 17 montre que le fluor est accumulé dans les moules de façon significative, à partir du phosphogypse et à partir du Ca F₂. Ces valeurs peuvent atteindre respectivement 70 et 250 fois les valeurs observées pour les organismes témoins.

Contamination	Concentration de F ⁻
Témoin	1,9 ppm
1 g/l phosphogypse	223 ppm
0,25 g/l Ca F ₂	761 ppm

Tableau n° 17

Accumulation de F⁻ dans la moule *Mytilus edulis* après 20 jours de contamination par le phosphogypse et Ca F₂.

b) Accumulation dans la crevette *Penaeus japonicus*

* Accumulation du fluor

Le tableau n° 18 montre que, comme pour la moule, chez la crevette contaminée par le fluorure de calcium et le phosphogypse, le fluor est accumulé par l'organisme. Les concentrations observées dans le cas du fluorure de calcium sont sensiblement identiques entre elles, quelle que soit la quantité de Ca F₂ ajouté, 25, 75 ou 150 mg de Ca F₂/litre d'eau de mer.

Ajout dans l'eau		Concentration du fluor dans les crevettes
Témoin		36
Ca F ₂	150 mg/l	1 878
	75 mg/l	1 540
	25 mg/l	1 842
Phosphogypse	500 mg/l	617
	200 mg/l	701
	100 mg/l	193

Tableau n° 18

Accumulation du fluor chez la crevette *Penaeus japonicus* au bout de 12 jours de contact avec Ca F₂ et phosphogypse.

Les analyses ont été effectuées sur des pools de 5 crevettes. Les concentrations sont exprimées en ppm.

* Accumulation des métaux

Le phosphogypse représente un ensemble de composés minéraux faisant intervenir dans sa composition des phosphates et des éléments fluorés, mais aussi des éléments métalliques.

A titre d'exemple, l'accumulation de certains éléments métalliques a été déterminée chez la crevette *Penaeus japonicus* après 12 jours de contamination par Ca F₂ et par le phosphogypse. Les résultats sont reportés sur le tableau n° 19. Il est possible de constater que pour le Ca F₂, aucune accumulation significative des métaux étudiés n'est observée. Pour le phosphogypse, seul le fer apparaît comme étant significativement accumulé par les crevettes. En effet, la concentration de ce métal dans l'organisme témoin est de 34 ppm/poids sec et atteint 775 ppm pour des organismes contaminés à raison de 500 mg de phosphogypse par litre d'eau de mer.

Ajout dans l'eau de mer		Cu	Mn	Fe	Zn	Cd	Pb	Ni	Ca	Cr
Ca F ₂	150 mg/l	87,0	2,2	18,7	66,5	0,87	< 2	< 1	< 1	< 1
	75 mg/l	75,5	2,1	21,2	68,0	0,83	< 2	< 1	< 1	< 1
	25 mg/l	70,6	2,1	19,3	69,0	0,61	< 2	< 1	< 1	< 1
Phosphogypse	500 mg/l	80,0	2,8	77,5	69,7	0,75	< 2	< 1	< 1	< 1
	200 mg/l	137,1	4,0	114	77,1	0,86	< 2	< 1	< 1	< 1
	100 mg/l	90,1	2,8	48,7	68,2	0,61	< 2	< 1	< 1	< 1
Témoin		93,3	3,0	34,3	68,6	0,48	< 2	< 1	< 1	< 1

Tableau n° 19

Concentration de métaux lourds chez la crevette *Penaeus japonicus* au bout de 12 jours de contamination par Ca F₂ et le phosphogypse.

Les valeurs obtenues pour Pb, Ni, Ca et Cr sont indiquées par un seuil de détection. Malgré cela, il apparaît que pour ces métaux aucune accumulation significative n'est mise en évidence.

c) Accumulation dans la truite *Salmo gairdnerii*

Les expériences de contamination par le phosphogypse ont été réalisées selon différents protocoles expérimentaux. Trois types de contamination ont été réalisés : par plateau contenant du phosphogypse posé sur le sol du bac expérimental, par apport quotidien et réparti sur 24 heures de 300 grammes de phosphogypse dans les bacs et par apport quotidien de 1 500 gm de phosphogypse. Les modalités techniques précises concernant ces expériences sont décrites par ailleurs.

Le phosphogypse apporté dans les bacs expérimentaux subit une dissolution et libère du fluor dans l'eau de mer.

Ajout de phosphogypse	Plateaux phosphogypse	300 g/j phosphogypse	1,5 kg/j phosphogypse
Concentration F ⁻ réelle moyenne	2,2 ± 0,4 (11)	1,6 ± 0,2 (8)	2,1 ± 0,5 (9)

Tableau n° 20

Concentration de F⁻ réelle moyenne de l'eau d'élevage pour des prélèvements effectués dans le temps.

Entre parenthèses : nombre d'analyses effectuées.

La concentration de F⁻ dans l'eau d'élevage du témoin est comprise entre 1 mg/l et 1,2 mg/l.

Le tableau n° 20 montre la concentration de F⁻ mesurée dans les bacs expérimentaux au cours de différents prélèvements et, en fonction du mode de contamination. Ces concentrations sont variables dans le temps mais permettent de constater que les concentrations de F⁻ sont dans tous les cas augmentées d'un facteur sensiblement égal ou inférieur à 2 par rapport à la concentration du fluor contenue dans l'eau de mer témoin (1,2 - 1,3 ppm en moyenne).

	Témoïn	1,5 kg phosphogypse/j
Foie	1,5 (Pool)	1,0 (Pool)
Oeufs-ovaires	0,6 (Pool)	0,4 (Pool)
Testicules	0,5 (Pool)	1,5 ± 1,1 (5)
Muscles	0,7 ± 0,3 (6)	0,8 ± 0,5 (6)
Peau	16,5 ± 15,2 (6)	26,6 ± 25,9 (6)
Branchies	140,9 ± 70,6 (6)	274,3 ± 222,8 (6)
Arêtes	310 ± 137 (15)	589 ± 326 (10)

Tableau n° 21

Concentration de F⁻ dans les différents tissus des truites *Salmo gairdnairii* après 40 semaines de contamination.

Entre parenthèses : nombre d'analyses effectuées.

Le tableau n° 21 montre la distribution du fluor dans les différents tissus et organes de *Salmo gairdnairii* après 40 semaines de contamination par apport quotidien de 1 500 grammes de phosphogypse. Il apparaît que le fluor n'est pas significativement accumulé dans le foie, les oeufs, les ovaires, les testicules et les muscles. Des accumulations sont observées dans la peau, les branchies et les arêtes.

Les arêtes et l'épine dorsale constituent, comme dans le cas d'une contamination par Na F, le site préférentiel d'accumulation du F⁻. Le tableau n° 22 montre l'évolution de la concentration dans le temps du fluor au niveau des arêtes et de l'épine dorsale. Nous pouvons constater que, quel que soit le mode de distribution du phosphogypse, des accumulations significatives sont observées. En effet, les concentrations mesurées sont dans tous les cas supérieures à celles observées chez les organismes témoins. Il est à noter que les variations individuelles dans un même bac expérimental sont très importantes. En effet, pour les organismes prélevés après 40 semaines d'expérimentation par exemple, 15 analyses ont été effectuées. Les moyennes obtenues présentent un écart-type important, toujours supérieur à 50 % de la moyenne. C'est ainsi, par exemple, que les concentrations minimales et maximales pour la contamination 1,5 kg phosphogypse par jour, après 40 semaines, sont respectivement

234 ppm et 840 ppm. Pour la contamination par le plateau, ces concentrations sont 257 ppm et 1 733 ppm. Les concentrations sont également très variables pour le témoin : 163 et 673 ppm.

Temps Concentration eau de mer	14 semaines	28 semaines	40 semaines
Témoin	192 ± 52	279 ± 108	310 ± 137
	136 - 285	187 - 487	163 - 673
	(6)	(6)	(15)
300 g/j Phosphogypse	644 ± 370	917 ± 394	485 ± 312
	258 - 1 339	397 - 1 518	161 - 1 284
	(6)	(6)	(15)
1,5 kg/j Phosphogypse	574 ± 253	618 ± 366	589 ± 326
	375 - 1 070	268 - 1 198	234 - 840
	(6)	(6)	(15)
Plateaux Phosphogypse	340 ± 134	464 ± 144	482 ± 370
	116 - 474	274 - 640	257 - 1 733
	(6)	(6)	(15)

Tableau n° 22

Accumulation de F^- dans les arêtes de poisson *Salmo gairdnerii* en fonction du temps. Les chiffres expriment les moyennes ainsi que la valeur minimale et la valeur maximale observées.

Entre parenthèses : nombre d'analyses.

Il apparait également que les concentrations moyennes observées ne fluctuent pas de façon significative dans le temps. Il semblerait, comme dans le cas de la contamination par $Na F$, que la concentration maximale au niveau des arêtes et de l'épine dorsale soit obtenue avant 8 semaines de contamination.

IV DISCUSSION

La première série d'expérimentation permet d'avoir une idée concrète de l'action de F^- sur la mortalité des organismes marins. Il est évident que les résultats issus de ce type d'expérience ne peuvent donner qu'une indication sur l'action à court terme du contaminant. En particulier, c'est sur une période de 24 ou 48 heures que sont déterminées les DL 50 des produits et composés potentiellement toxiques.

Dans le cadre de cette étude, il ne nous a pas paru judicieux de déterminer la DL 50 - 24 heures ou 48 heures. En effet, les résultats observés montrent que la mortalité des organismes, lorsqu'elle est observée, survient après des temps d'expérimentation très largement supérieurs à 24 heures ou 48 heures. De plus, certaines des expérimentations ont été effectuées avec des apports de 240 ppm théoriques de F^- . Nous avons montré que le niveau maximum de F^- pouvant être présent dans l'eau de mer se situait aux environs de 100 - 120 ppm. La détermination des DL 50, 24 heures ou 48 heures, aurait pu être effectuée avec des concentrations théoriques de F^- supérieures à 120 ppm. Dans ce cas, la DL 50 déterminée n'aurait pas correspondu à l'action du F^- , mais à la synergie du F^- , du Na F non dissocié et des composés $Mg F_2$ et $Ca F_2$. Na F non dissocié et ces composés se présentent dans l'eau comme du matériel en suspension. Son action délétère pouvant faire intervenir des processus inhérents à tout matériel en suspension et, en particulier, des processus de nature physique (colmatage des branchies...).

Les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec les informations recueillies dans la littérature scientifique. C'est ainsi, par exemple, que MOORE (1971) a élevé des crabes *Callinectes sapidus* durant des temps variables et des concentrations variées de F^- sous forme de Na F. Des expérimentations d'une durée de 90 jours à 100 ppm F^- et de 70 jours à 400 ppm F^- ont été réalisées sans mortalité significative de *Callinectes sapidus*. MOORE (1969) avait montré que les huîtres ne toléraient pas de concentrations de F^- supérieures à 32 ppm de F^- . HEMENS et col. (1975) ne mettent en évidence aucune mortalité significative chez les juvéniles de mullet *Mugil cephalus*, la crevette *Penaeus indicus* et le crabe *Tyloideplax blephariskios* soumis pendant 113 jours à une concentration de 5,5 ppm F^- . HEMENS et WARWICK (1972) précédemment n'avaient observé aucun effet toxique chez les poissons *Mugil cephalus*, *Ambassis safgha*, *Therapon jarbua* et les crevettes *Penaeus indicus* et *Penaeus monodon* pour des concentrations de F^- de 10 à 100 ppm, testées

à des salinités variables, après 96 heures d'exposition. Cependant, ces mêmes auteurs montraient une mortalité significative de la moule *Perma perna* après 5 jours d'expérimentation et une concentration de F^- de 7,2 ppm. Cependant, ces auteurs considèrent que les mortalités observées de *Perma perna* semblent plus sous la dépendance d'une synergie F^- - absence de nutrition que sous la dépendance de F^- seul. En effet, les expériences qui ont duré 20 jours ont été effectuées sans apport de nourriture aux organismes testés et les mortalités observées dans les bacs témoins étaient importantes (jusqu'à 60 %). Ceci est à mettre en rapport avec nos propres résultats obtenus chez *Artemia salina* qui montrent que l'absence de nourriture peut être le facteur prépondérant de mortalité.

L'étude de fonctions physiologiques et éthologiques permet la détermination plus fine de l'action du F^- sur les organismes marins, que celle observée par la détermination des doses létales.

Les tests effectués sur l'algue monocellulaire *Tetraselmis suessica* montrent que la croissance de celle-ci, exprimée par la multiplication cellulaire, n'est pas affectée pour des concentrations de 3 et 6 ppm pendant la durée de l'expérience. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par OLIVERA et col. (1978). Ces auteurs étudient l'action de F^- sur la croissance de 12 souches d'algues monocellulaires pour des concentrations allant jusqu'à 100 ppm. Pour les expérimentations effectuées à 100 ppm, ces auteurs notent que trois souches phytoplanctoniques ont leur croissance inhibée de 25 à 30 % par rapport aux souches témoins. Par contre, la croissance des 12 souches n'est pas affectée pour des concentrations de 50 ppm de F^- . Ces auteurs notent, en outre, une possible stimulation de la croissance pour des concentrations de F^- inférieures à 10 ppm. Ces résultats sur la croissance des algues sont confirmés par les travaux de MALEWITCZ et col. (1973) qui notent que le métabolisme du CO_2 n'est pas affecté par des concentrations de F^- de 50 ppm.

Les expériences effectuées sur la croissance des organismes, appréciée par la longueur (*Artemia salina*) ou le poids (*Haliotis tuberculata*) n'ont pas permis de mettre en évidence l'action du F^- pour des concentrations de 3 et 6 ppm dans le premier cas, et ont montré une action significative dans le deuxième cas pour des concentrations égales ou supérieures à 60 ppm. La variation de croissance pondérale de l'orveau a pour origine une diminution de la quantité quotidienne de nourriture ingérée par les orveaux pour ces concentrations.

Des expériences similaires sur la croissance ont été effectuées par HEMENS et col. (1975) sur le mullet (*Mugil cephalus*), la crevette (*Penaeus indicatus*) et le crabe (*Tylodiplax blephariskios*). Ces expériences ont été effectuées pendant 68 et 113 jours pour des concentrations de 5,0 - 5,8 ppm F^- . Sur l'ensemble des expériences réalisées, les auteurs notent que des variations de croissance peuvent être observées pour certains bacs expérimentaux. Cependant, ces auteurs "suspectent" que ces différences ne sont pas causées par la présence ou l'absence de fluor mais qu'elles sont dues aux différences dans la disponibilité en nourriture au cours de la réalisation de l'expérience.

Les expériences traitant du pouvoir de fixation des organismes (moules et patelles) n'ont, à notre connaissance, pas été réalisées par ailleurs en utilisant le F^- comme composé test. Des comparaisons ne sont, de ce fait, pas possibles. Nous avons cependant noté que ce pouvoir n'était pas altéré pour les concentrations testées.

La reproduction et l'éclosion des oeufs sont des fonctions essentielles à l'équilibre des espèces et des écosystèmes. Nos expériences ont montré que l'éclosion des oeufs de turbot ainsi que le pourcentage des larves viables n'étaient pas affectés pour des concentrations égales ou inférieures à 120 ppm.

Chez la crevette *Palaemon pacificus*, HEMENS et WARWICK (1972) montrent que les processus de reproduction sont affectés pour une concentration de F^- égale à 52 ppm. En effet, dans les bacs contaminés, les auteurs notent, après 72 jours d'expérimentation, que 12,5 % des femelles étaient gravides avec des oeufs viables contre 57 % dans les bacs expérimentaux.

CONNEL et AIREY (1979) étudient le taux de reproduction des amphipodes *Grandidierella lutosa* et *G. lignorum* au cours d'expérimentation allant jusqu'à 90 jours. Ces expériences portent sur l'accroissement de la population des amphipodes au cours de quatre générations successives. Ces auteurs déterminent que la "concentration maximale acceptable de toxique" est comprise respectivement entre 4,8 et 5,5 ppm de F^- et 5,5 et 6,9 de F^- pour ces paramètres et pour la durée de l'expérience.

CLEVELAND et ROTHSCHILD (1952) étudient le métabolisme des carbohydrates dans l'oeuf d'oursin *Echinus esculentus* et, en particulier, l'action de F^- sur l'oxydation du fructose. Ces auteurs montrent une

inhibition partielle (23 %) de la réaction pour une concentration de F^- de 5×10^{-3} molaire (95 ppm). De même, SATO et YOKOYA (1976) montrent des effets inhibiteurs ou des inhibitions irréversibles sur les taux de fécondation et le développement embryonnaire de l'oeuf d'oursin pour des concentrations de F^- comprises entre 50 ppm et/ou supérieures à 3 750 ppm.

La détermination de la bio-accumulation du fluor montre que les organismes marins ont un comportement variable vis-à-vis de cet élément. Il apparaît, par ailleurs, qu'il n'est pas possible de distinguer des classes d'organismes qui accumuleraient et d'autres qui n'accumuleraient pas. Chez les mollusques, par exemple, aucune accumulation significative n'est observée chez la moule après 30 jours de contamination à 60 ppm. Par contre, la patelle est l'objet d'une très forte accumulation. Pour cet organisme, une accumulation significative se produit pour des concentrations de 3 et 6 ppm.

Il en est de même chez les crustacés où aucune accumulation n'est observée chez *Artemia salina* après 40 jours de contamination à 120 ppm alors que chez la crevette *Penaeus japonicus*, de très importantes concentrations de fluor, jusqu'à 1 400 ppm, sont observées pour la même contamination après 13 jours d'expérimentation.

Il est à noter que la notion de temps de contact entre l'organisme et la solution contaminante semble devoir être un paramètre essentiel pour les phénomènes de bio-accumulation. En effet, nous avons vu chez l'ormeau *Haliotis tuberculata* que aucune accumulation significative n'était observée après 20 jours de contamination permanente à 60 ppm alors qu'une accumulation allant croissante dans le temps est observée après 45 jours de contact organisme-contaminant.

Il semblerait que, après une période de contact organisme-contaminant, les conditions d'accumulation du F^- dans l'organisme soient réunies. Nous ne pouvons préjuger quelles sont ces conditions qui relèvent certainement de la biochimie et du fonctionnement des "barrières physiologiques" (problème des membranes cellulaires et de régulation des échanges ioniques) que les organismes opposent aux agressions dont ils peuvent être l'objet et à la rupture ou à

l'épuisement de ces "barrières" après un contact prolongé avec le contaminant.

Il apparaît, et ceci est connu depuis longtemps, que la métabolisation du fluor est d'autant plus importante que le métabolisme calcique de l'organe ou de l'animal est lui-même plus important. C'est ainsi, par exemple, que les accumulations les plus significatives sont observées dans l'exosquelette chez la crevette et dans l'épine dorsale chez la truite. De même, si l'on compare des organismes appartenant à une même classe, la moule et la patelle, par exemple, on constate que l'accumulation de F^- chez la patelle, où le métabolisme calcique dans la chair est élevé, est plus importante que chez la moule qui possède un métabolisme calcique moins important. Les concentrations de Ca dans la chair de patelle étant environ 10 fois plus élevées que dans la chair de moule (VINOGRADOV 1953).

L'importance du métabolisme calcique apparaît comme le facteur essentiel sur le potentiel d'accumulation du fluor aux concentrations testées les plus basses. C'est ainsi que des accumulations n'ont pas été observées pour la moule, par exemple, quelle que soit la concentration de F^- dans l'eau de mer ou que des accumulations se produisent pour les concentrations les plus élevées, ormeaux par exemple. Par contre, des accumulations significatives sont observées pour les plus basses concentrations testées (3 ppm réels) pour des organismes possédant des structures calcifiées (crevettes) ou à métabolisme calcique intense (chair de patelle). Pour la truite *Salmo gairdneri*, les études effectuées montrent que les tissus à métabolisme calcique faible (foie, testicules, ovaires-oeufs, muscles) ne sont l'objet d'aucune accumulation significative alors que, les tissus ou organes présentant des structures calcifiées, peau (avec écailles), branchies et surtout épine dorsale accumulent F^- de façon significative à la concentration testée la plus faible (≈ 5 ppm).

L'importance de la nature du tissu, calcique ou non, et du métabolisme général du calcium dans les tissus est confirmée par les travaux de MOORE (1971) et de WRIGHT et DAVISON (1975) chez les crabes *Callinectes sapidus* et *Carcinus maenas* pour lesquels les accumulations les plus significatives sont observées dans l'exosquelette. Cependant, les travaux de MOORE (1971) montrent qu'en milieu saumâtre (Salinité 8 - 12‰), le fluor était accumulé dans les muscles et l'hépatopancréas

du crabe *Callinectes sapidus* pour des concentrations de F^- égales ou supérieures à 8 ppm. Les résultats obtenus chez la crevette *Penaeus japonicus* confirment cette possibilité d'accumulation de F^- au niveau des structures musculaires et de l'hépatopancréas chez les crustacés.

D'une façon générale, les analyses quantitatives au niveau d'un tissu ou d'un organisme ne permettent pas de déterminer des variations globales de F^- au niveau de cet organe ou de cet organisme. Dans le cas de variations non significatives, cela ne préjuge pas des possibilités existantes d'accumulation dans des structures spécialisées et réduites de ce tissu ou de cet organisme, plus particulièrement certaines cellules ou structures cellulaires. Cette accumulation qui peut être ponctuellement importante ne peut pas être mise en évidence par une analyse quantitative globale.

Les tests effectués avec le phosphogypse ont permis de montrer que, dans les conditions expérimentales de concentration ou de distribution dans les bacs, le phosphogypse n'avait pas d'action létale sur les organismes testés. DARMOUL et VITIELLO (1980) ont montré que les DL 50, 48 heures ou 96 heures, pour des organismes tels que *Sphaeroma serratum*, *Mytilus galloprovincialis*, *Cymodoce truncata*, *Nassa corniculum*, *Venerupis decussatus*, faisaient intervenir des quantités de phosphogypse de 14 grammes à 43 grammes par litre d'eau de mer.

Les phénomènes d'accumulation de fluor, lié à la présence de phosphogypse dans les bacs expérimentaux, apparaissent comme significatifs pour les organismes testés, moules, crevettes et truites.

La comparaison entre les accumulations de fluor selon le mode de contamination, Na F ou phosphogypse, apparaît particulièrement intéressante. En effet, il a été montré que aucune accumulation significative de fluor n'était observée chez *Mytilus edulis* lorsque la contamination était effectuée avec Na F et ce, pour des concentrations de F^- dans l'eau allant jusqu'à 60 ppm. Or, lorsque la contamination est effectuée par le phosphogypse ou par $Ca F_2$, des accumulations significatives de fluor sont observées dans les organismes. Dans le cas de $Ca F_2$, il a été montré que la libération de F^- dans l'eau de mer était nulle. Dans le cas du phosphogypse, il a été montré que la concentration du fluor sous forme F^- dans l'eau de mer des bacs contenant 1 gramme de phosphogypse par litre était égale à 4 ppm dans les conditions

expérimentales (eau des bacs et contaminant renouvelés tous les jours). Pour des concentrations de F^- dans l'eau de mer allant jusqu'à 60 ppm, aucune accumulation n'est observée. L'accumulation de fluor observée en contaminant l'eau par le phosphogypse n'est donc pas redevable du fluor sous sa forme F^- qui est libéré par le phosphogypse dans l'eau de mer. Cette accumulation doit concerner des particules de phosphogypse en suspension dans l'eau et, être probablement redevable de processus physiques : adsorption, transit dans le trachus digestif...

Les résultats obtenus pour $Ca F_2$ confortent la thèse de l'accumulation du fluor par la moule sous forme liée à une particule. En effet, $Ca F_2$ qui est insoluble, est lui même fortement accumulé par l'organisme.

Une évaluation de même nature peut être effectuée dans le cas de la crevette *Penaeus japonicus*. En effet, en présence de concentrations de F^- de 3 ppm et 6 ppm introduits sous forme $Na F$, des concentrations respectives de fluor de 48,8 ppm et 117 ppm étaient mesurées dans les crevettes (les échantillons témoins présentaient des concentrations de 27,4 ppm). Lorsque la contamination est effectuée par le phosphogypse, à raison de 100 mg/l, 200 mg/l et 500 mg/l, les concentrations de F^- réelles mesurées dans l'eau sont inférieures à 2,80 ppm, alors que les concentrations de fluor mesurées dans les crevettes sont respectivement de 193 ppm, 701 ppm et 617 ppm. Il apparaît donc que dans le cas de la contamination par le phosphogypse, la contamination des crevettes est plus redevable du phosphogypse considéré comme une particule en suspension dans l'eau que du fluor libéré sous la forme F^- par le phosphogypse. Cette accumulation pouvant se faire, comme l'hypothèse en est émise pour la moule, par des processus de nature physique (adsorption au niveau des branchies, passage dans le trachus digestif entre autres).

Cependant, et plus particulièrement dans le cas de la crevette, il est certain que l'accumulation du F^- sous forme ionisée ou soluble peut exister comme cela a été démontré avec l'utilisation du $Na F$ au niveau du muscle, de l'hépatopancréas, mais surtout de l'exosquelette.

L'étude de l'accumulation d'éléments métalliques qui peuvent être liés à la présence de phosphogypse dans les bacs expérimentaux montre que seul le fer est accumulé de façon significative.

L'accumulation du fluor chez la truite *Salmo gairdnerii* montre que aussi bien avec Na F qu'avec le phosphogypse, le fluor n'est pas accumulé dans les organes et tissus tels que le foie, les oeufs-ovaires, les testicules, les muscles, mais que des accumulations significatives se produisent dans les deux cas au niveau de la peau, des branchies et surtout des arêtes et de l'épine dorsale.

L'accumulation de fluor au niveau des arêtes et de l'épine dorsale par contamination par le phosphogypse ne peut pas être redevable comme nous l'avons démontré dans le cas de la moule et en grande partie de la crevette de processus d'accumulation de nature physique, de phosphogypse particulaire en suspension dans le milieu. L'incorporation de F^- au niveau des structures osseuses ne peut pas s'effectuer au niveau de l'os par simple adsorption par exemple. Les analyses de F^- dans les bacs contaminés par le phosphogypse montrent que les concentrations moyennes de cet élément dans les bacs expérimentaux sont respectivement de 2,2 ppm, 1,6 ppm et 2,1 ppm (voir Tableau n° 20) selon le mode de contamination (plateau, apport de 300 g/jour, apport de 1 500 g/jour respectivement). Or, nous constatons que dans le cas des concentrations minimales (1,6 ppm), des accumulations significatives de fluor sont observées dans les truites, essentiellement au niveau des arêtes. Les concentrations moyennes de F^- dans l'eau des bacs témoins étaient, au cours du temps, de $1,1 \pm 0,1$ ppm. Il s'avère que des accumulations de F^- au niveau des structures calcifiées (arête - épine dorsale) peuvent s'opérer chez la truite *Salmo gairdnerii* à partir de concentrations de F^- dans l'eau de mer peu supérieures aux concentrations témoins et/ou à partir de l'assimilation de particules de phosphogypse contenues dans l'eau de mer. Les modalités de métabolisation de F^- au niveau des structures calcifiées n'ont pas été l'objet d'investigation permettant de démontrer si le phosphogypse contenu dans l'eau de mer transitant dans le trachus digestif pouvait être l'objet d'une assimilation et d'une métabolisation permettant sa mobilisation au niveau des structures calcifiées. Cependant, il y a tout lieu de supposer que l'assimilation et l'incorporation de F^- au niveau des structures calcifiées s'effectuent pour la truite à partir du F^- ionique ou solubilisé contenu dans l'eau de mer. En effet, la mobilisation du fluor au niveau de l'épine dorsale a été mise en évidence dans le cas d'une contamination par Na F.

Il est à noter également que l'incorporation du fluor au niveau des structures calcifiées et plus particulièrement de l'épine dorsale - arêtes semble sous la dépendance de l'âge de l'organisme. C'est ainsi que pour les organismes témoins, maintenus pendant 40 semaines en bacs expérimentaux, les truites sont passées de l'état juvénile (quelques centimètres de long) à l'état adulte (sexuellement mature) or, il est à noter que les concentrations de fluor dans l'épine dorsale sont, chez l'animal adulte, significativement supérieures à celles observées chez les juvéniles. Par ailleurs, les variabilités individuelles sont telles, que pour 40 semaines d'expérimentation, les concentrations les plus élevées dans les épines dorsales des organismes témoins sont supérieures aux concentrations les moins élevées dans les organismes contaminés par Na F ou le phosphogypse. Ces notions de variation individuelle et de variation en fonction de l'âge apparaissent essentielles dans l'interprétation des résultats issus des études de contrôle ou de recherche *in situ*.

V CONCLUSIONS

Au cours des différentes expérimentations, l'action du fluor a été testée sur trois types de paramètres :

- Mortalité des organismes
- Fonctions éthologiques
- Bio-accumulation

Pour les différents tests concernant la mortalité des organismes, faisant intervenir des temps variables d'expérimentation et des concentrations variables de F^- sous forme de Na F, les constats suivants ont été effectués.

* Pour l'artémie *Artemia salina*, dans des conditions normales de salinité et de nutrition, des concentrations de 120 ppm de F^- n'occasionnent pas de mortalité significative. Dans des conditions pénalisantes de salinité et/ou de nutrition, les mortalités observées sont sous la dépendance de ces conditions et indépendantes des concentrations de F^- .

* Pour le crabe *Carcinus maenas*, aucune mortalité significative n'a été observée pour des concentrations de fluor allant jusqu'à 240 ppm sous forme Na F. Lorsque des mortalités sont observées, elles sont sous la dépendance de la salinité.

* Pour la crevette *Penaeus japonicus*, aucune mortalité significative n'a été observée pour des concentrations de fluor inférieures ou égales à 60 ppm. Des mortalités significatives ont été observées pour des concentrations égales à 120 ppm.

* Pour la patelle *Patella vulgata*, aucune mortalité significative n'est observée pour des concentrations égales ou inférieures à 100 ppm.

* Pour la moule *Mytilus edulis*, dans des conditions normales de salinité, aucune mortalité significative n'est observée pour des concentrations de F^- égales ou inférieures à 50 ppm. Des mortalités significatives sont observées pour la concentration 100 ppm.

* Pour l'ormeau *Haliotis tuberculata*, aucune mortalité significative n'est observée pour des concentrations égales ou inférieures à 60 ppm. Une mortalité significative est observée pour la concentration 120 ppm.

* Pour les larves de coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus*, aucune mortalité n'est observée pour des concentrations égales ou inférieures à 20 ppm. Des mortalités significatives sont observées pour des concentrations égales ou supérieures à 60 ppm.

Il ressort de l'étude de l'action létale du fluor sous forme Na F, synthétisée sur le tableau n° 23, que dans les conditions expérimentales décrites, ou bien aucune mortalité significative n'est observée, ou bien les mortalités significatives mises en évidence le sont pour des concentrations de fluor dans l'eau de mer égales ou supérieures à 60 ppm.

Pour les différents tests concernant les fonctions éthologiques, les constats suivants ont été effectués.

* Pour l'algue unicellulaire *Tetraselmis suecica*, aucun effet sur la croissance (division cellulaire) n'a été observé pour des concentrations de 3 et 6 ppm de fluor.

* Pour l'artémie *Artemia salina*, aucun effet sur la croissance (taille) n'a été observé pour des concentrations de 3 et 6 ppm de fluor.

* Pour la moule *Mytilus edulis*, des concentrations de 3 et 6 ppm de fluor n'affectent pas le pouvoir de fixation au substrat.

* Pour la patelle *Patella vulgata*, le pouvoir de fixation n'est pas affecté pour des concentrations égales ou inférieures à 120 ppm.

* Pour l'ormeau *Haliotis tuberculata*, le taux de nutrition (quantité journalière de nourriture ingérée) n'est pas affecté pour des concentrations de F⁻ égales ou inférieures à 20 ppm. Ce taux de nutrition est affecté pour des concentrations de F⁻ égales ou supérieures à 60 ppm.

* Pour le turbot *scophthalmus maximus*, l'éclosion des oeufs n'est pas affectée pour des concentrations de F⁻ égales ou inférieures à

Organismes	Temps d'exposition (jours)	Concentration maximale testée (ppm)	Mortalité significative	Concentration où apparaît la mortalité (ppm)
<i>Artemia salina</i>	12	120	-	-
<i>Carcinus maenas</i>	9	240	-	-
<i>Mytilus edulis</i>	7	240	X	100
<i>Patella vulgata</i>	42	100	-	-
<i>Haliotis tuberculata</i>	50	120	X	120
<i>Pecten maximus</i> (larves)	30	240	X	60
<i>Salmo gairdnerii</i>	280	18	-	-

Tableau n° 23

Synthèse des observations effectuées concernant l'action létale du fluor (Na F).

X : significatif

- : non significatif

120 ppm. Le pourcentage de larves viables issues des oeufs n'est pas affecté pour des concentrations égales ou inférieures à 120 ppm.

Il ressort de l'étude de l'action du fluor sous forme Na F sur certaines fonctions éthologiques, synthétisée sur le tableau n° 24, que dans les conditions expérimentales décrites lorsque des effets significatifs ont été observés, les concentrations de F⁻ dans les milieux expérimentaux étaient égales ou supérieures à 60 ppm.

L'étude de la bio-accumulation du fluor a permis de faire les constats suivants.

* Pour l'algue *Tetraselmis suessica*, des accumulations significatives de fluor sont observées pour les concentrations testées, comprises entre 10 et 60 ppm.

* Pour l'artémie *Artemia salina*, aucune accumulation significative n'est observée pour les concentrations testées, comprises entre 10 et 120 ppm.

* Pour la crevette *Penaeus japonicus*, des accumulations significatives ont été observées pour les concentrations testées, comprises entre 3 et 120 ppm.

* Pour la moule *Mytilus edulis*, aucune accumulation significative de fluor n'est observée pour les concentrations testées, comprises entre 3 et 60 ppm.

* Pour la patelle *Patella vulgata*, des accumulations significatives de fluor sont observées pour les concentrations testées, comprises entre 3 et 120 ppm.

* Pour l'orveau *Haliotis tuberculata*, aucune accumulation significative n'est observée pour les concentrations testées de 3, 6 et 20 ppm. Des accumulations significatives sont observées pour les concentrations 60 et 120 ppm.

Organismes	Fonction testée	Temps d'exposition (jours)	Concentration maximale testée (ppm)	Effet significatif	Concentration où apparaît l'effet (ppm)
<i>Tetraselmis suessica</i>	Multiplication cellulaire	10	6	—	-
<i>Artemia salina</i>	Croissance	31	6	—	-
<i>Mytilus edulis</i>	Fixation	11	6	—	-
<i>Patella vulgata</i>	Fixation	60	120	—	-
<i>Haliotis tuberculata</i>	Nutrition - Poids	45	120	X	60
<i>Scophthalmus maximus</i>	Eclosion des oeufs Larves viables	8	240	X	240

Tableau n° 24

Synthèse des observations effectuées concernant l'action du fluor (Na F) sur certaines fonctions éthologiques.

X : Effets significatifs

— : Effets non significatifs

* Pour la truite *Salmo gairdnerii in toto*, des accumulations significatives ont été observées pour les concentrations testées, égales ou inférieures à 12 ppm.

La détermination quantitative des sites préférentiels de fixation du fluor a été effectuée chez la crevette *Penaeus japonicus* et chez la truite *Salmo gairdnerii*. Dans les deux cas, le site préférentiel concerne les tissus calcifiés ou possédant des structures calcifiées : exosquelette chez la crevette ; peau, branchies et surtout épine dorsale chez la truite.

Chez la truite, aucune accumulation significative de fluor n'est observée au niveau des oeufs-ovaires, des testicules, du foie et des muscles. Chez la crevette, les analyses effectuées pour la concentration 60 ppm ont montré que le muscle et l'hépatopancreas pouvaient accumuler le fluor de façon faible, comparée à l'accumulation dans l'exosquelette, mais cependant significative.

L'ensemble des résultats concernant la bio-accumulation du fluor fourni sous forme Na F est synthétisé dans le tableau n° 25.

Il ressort également de l'étude de la bio-accumulation de F^- que celle-ci concerne essentiellement, soit les tissus calcifiés ou possédant des structures calcifiées, soit des organismes pourvus d'un métabolisme calcique intense.

La notion de temps de contact entre l'organisme et le contaminant peut apparaître comme un facteur important pour la bio-accumulation ; celle-ci pouvant n'entrer en jeu qu'après quelques jours, sinon semaines, de contact entre l'organisme et le contaminant. Ce principe, qui dans l'état actuel de nos connaissances ne peut être extrapolé à toutes les espèces, est applicable et démontré pour l'ormeau.

Les études effectuées concernant la contamination par le phosphogypse ont permis, dans les conditions expérimentales mises en oeuvre, de faire les constats suivants :

* Aucune mortalité significative n'a été observée pour les organismes testés.

Tableau n° 25

Synthèse des observations effectuées concernant la bio-accumulation du fluor (Na F).

Organisme ou tissu	Temps d'expérience (jours)	Gamme de concentrations testées (ppm)	Accumulation significative	Concentration présentant un effet significatif (ppm)
<i>Tetraselmis suessica</i>	28	10 - 120	X	10
<i>Artemia salina</i>	40	10 - 120	-	-
<i>Penaeus japonicus</i>				
<i>In toto</i>	30	3 - 120	X	3
Muscle	15	60	X	60
Exosquelette	15	60	X	60
Hépatopancréas	15	60	X	60
<i>Mytilus edulis</i>	14 et 30	3 - 60	-	-
<i>Patella vulgata</i>	60	3 - 120	X	3
<i>Haliotis tuberculata</i>	45	3 - 120	X	60
<i>Truita salmo</i>				
<i>In toto</i>	110	3 - 12	X	12
Muscle	280	18	-	-
Ovaire-oeufs	280	18	-	-
Testicules	280	18	-	-
Peau	280	18	X	18
Branchies	280	18	X	18
Arêtes-épine dorsale	280	6 - 18	X	6

* Des accumulations de fluor ont été observées chez tous les organismes testés : moules, crevettes, poissons. Dans ce cas, une distinction doit être effectuée entre la contamination par l'ion F^- issu de la dissolution du phosphogypse et le fluor contenu dans le phosphogypse en suspension dans l'eau. La comparaison des résultats concernant la bio-accumulation du fluor à partir du Na F, d'une part, et du phosphogypse, d'autre part, a permis de montrer :

- Pour la moule *Mytilus edulis*, la bio-accumulation du fluor ne concerne pas la forme ionique F^- mais le fluor minéral, lié aux particules de phosphogypse contenues dans le milieu. Cette accumulation de particules de phosphogypse se fait très certainement par des processus de nature physique : adsorption sur les tissus en contact avec l'eau, filtration, transit dans le trachus digestif... Ceci revêt une grande importance dans le cadre des analyses de contrôle ou des programmes de recherche *in situ* ; à savoir si le fluor analysé correspond à une assimilation réelle par l'animal ou à une simple contamination physique de celui-ci, au même titre que n'importe quelle autre particule en suspension.

- Pour la crevette *Penaeus japonicus*, en présence de phosphogypse, l'accumulation du fluor concerne essentiellement le fluor minéral lié aux particules de phosphogypse en suspension dans l'eau de mer ; cette accumulation se faisant certainement, comme pour la moule, par des processus de nature physique. Cependant, il n'est pas certain que, pour *Penaeus japonicus*, cette accumulation de fluor ne concerne que du fluor minéral particulaire. En effet, les travaux effectués avec Na F montrent que la crevette accumule également le fluor sous forme soluble ionique.

- Pour la truite *Salmo trutta*, comme dans le cas de la contamination par Na F, l'accumulation du fluor, issu du phosphogypse, s'effectue au niveau des tissus et organes présentant des structures calcifiées, essentiellement les arêtes et l'épine dorsale. L'accumulation du fluor dans les arêtes et l'épine dorsale ne peut pas mettre en jeu de simples processus physiques, mais des processus chimiques et biochimiques. Ces derniers concernent le fluor sous forme ionique ; ceci a été démontré dans le cas de la contamination par Na F, mais peut être également le fluor minéral lié aux particules de phosphogypse qui, après ingestion seraient

assimilées par l'animal. Cette dernière éventualité ne constitue qu'une hypothèse dans l'état actuel de nos connaissances.

Les travaux effectués sur l'accumulation du fluor par la truite *Salmo trutta* ont permis de montrer que de grandes variations individuelles existaient au niveau des arêtes et de l'épine dorsale et en outre que les concentrations du fluor dans ce tissu semblaient être fonction de l'âge des individus. Ces deux notions devront être prises en compte pour toute étude traitant du contrôle de la contamination *in situ*.

Les analyses concernant l'accumulation des métaux qui pourraient éventuellement être liés au phosphogypse, en considérant la crevette *Penaeus japonicus* comme organisme test, ont montré que parmi les métaux analysés, seul le fer semblait devoir être l'objet d'une accumulation significative.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMINOT A., 1977, Les fluorures en baie de Seine, Rapport interne CNEXO/COB, pp 36.
- CLEVELAND K.W. and ROTHSCCHILD L., 1952, The metabolism of the sea urchin egg. Anaerobic Breakdown of carbohydrate, J. exp. Biol., 29, 285-294.
- CONNELL A.D. and AIREY D.D., 1979, Chronic effects of fluoride on the estuarine amphipods *Grandidierella lutosa* and *G. lignorum*, S. Afr. J. Sci., 75, 566.
- DARMOUL B., HADJ ALI SALEM M., et VITIELLO P., 1980. Effets des rejets industriels de la région de Gabès (Tunisie) sur le milieu marin récepteur, Bull. Inst. natn. scient. tech. Oceanogr. Pêche Salammbô, 7, 5-61.
- DARMOUL B. et VITIELLO P., 1980, Recherches sur la toxicité aigue des rejets de phosphogypse sur quelques organismes benthiques marins, Bull. Inst. natn. scient. tech. Oceanogr. Pêche Salammbô, 7, 63-89.
- HEMENS J. and WARWICK R.J., 1972, The effects of fluoride on estuarine organisms, Water Res., 6, 1301-1308.
- HEMENS J., WARWICK R.J. and OLIFF W.D., 1975, Effects of extended exposure to low fluoride concentration on estuarine fish and crustacea, Prog. Water Technol., 7, 579-585.
- MALEWICZ B., BOJANOWSKI R., POPLAWSKI C., 1973, Effects of fluoride on the growth of some green algae, Rozpr. Wyzd. Nauk Mat, 9, 215-223.
- MARTIN J.M. et SALVADORI F., 1980, Le fluor dans l'estuaire et la baie de Seine - Rapport final, Contrat CNEXO 79/2102, pp 32.
- MOORE D.J., 1969, Water Resources Research Inst. Univ. of North Carolina, Report N° 20, 5-12.
- MOORE D.J., 1971, The uptake and concentration of fluoride by the blue crab *Callinectes sapidus*, Chesapeake Science, 12, 1-13.
- OLIVERA L., ANTIA N.J., BISALPUTRA T., 1978, Culture studies on the effects from fluoride pollution on the growth of marine phytoplankters, J. Fish. Res. Board Can., 35, 1500-1504.
- SATO Y. and YOKOYA S., 1976, The effect of sodium fluoride on fertilization and early development of urchin eggs, Igaku No Ayumi (Igayay), 98, 663-665.
- VINOGRADOV A.P., 1953, The elementary chemical composition of marine organisms, Memoir Sears Foundation for Marine Research, New Haven, pp 647.
- WRIGHT D.A. and DAVISON A.W., 1975, The accumulation of fluoride by marine and intertidal animals, Environ. Pollut., 8, 1-13.