

**ETUDE DES EFFETS D'EFFLUENTS DE FABRICATION  
DE DIOXYDE DE TITANE  
SUR LE DEVELOPPEMENT LARVAIRE D'UN CRUSTACE DECAPODE :  
*PALAEEMON SERRATUS* (PENNANT) <sup>(1)</sup>**

par Patrick LASSUS et Pierre MAGGI

***Introduction.***

Le dioxyde de titane est un pigment blanc utilisé essentiellement pour opacifier les peintures, les matières plastiques, les encres, les papiers, les textiles, les céramiques, les cosmétiques, les pâtes dentifrices...

Les deux variétés d'oxyde utilisées (rutile et anatase) ont supplanté les pigments anciennement employés du fait de leurs propriétés remarquables : indice de réfraction élevé, excellente réflectance à toutes les longueurs d'onde du spectre visible, très bonne stabilité chimique.

La production annuelle mondiale, qui a été de 2 200 000 t en 1974, atteindra 2 459 000 t en 1977. Le minerai utilisé, le titanate de fer (ilménite), existe en de nombreux pays : Inde, Norvège, Amérique, Australie...

Deux procédés sont actuellement utilisés pour obtenir le dioxyde de titane et éliminer le fer :

le procédé au chlore utilisé pour des minerais pauvres en fer (le rutile) qui consiste à attaquer par le chlore et purifier, par distillation, le tétrachlorure de titane obtenu ;

le procédé à l'acide sulfurique qui consiste à attaquer par l'acide sulfurique concentré, puis à diluer pour obtenir la précipitation de l'oxyde. La solution résiduelle est concentrée jusqu'à ce que la majeure partie du sulfate ferreux cristallise. Après séparation de la phase cristalline (copperas), la solution-mère est composée essentiellement d'acide sulfurique dilué, de sulfate ferreux et de divers autres sulfates. Vu l'importance des volumes en cause et l'encombrement qui résulterait de l'accumulation des boues fluides provenant d'une neutralisation, ces effluents sont très souvent évacués en mer.

---

(1) Etude réalisée avec le Centre national pour l'Exploitation des Océans (contrat n° 74/941).

Ces deux procédés se partagent à peu près également la production américaine, cependant qu'au niveau européen la production de pigment est essentiellement basée sur le procédé à l'acide sulfurique (fig. 1) ; en 1977, la production <sup>(1)</sup> est estimée à :

1977	Procédé à l'acide sulfurique	Procédé au chlore
Europe	1 062 000 t	99 000 t
Amérique	409 000 t	575 000 t
Asie	218 000 t	12 000 t
Océanie (Australie)	54 000 t	—
Afrique (Rép. S.-Africaine)	30 000 t	—
	<u>1 773 000 t</u>	<u>686 000 t</u>

Nous nous sommes attachés à étudier l'impact, sur le milieu marin, des rejets du procédé à l'acide sulfurique ; les effluents sont en effet caractérisés par : une forte acidité due à la

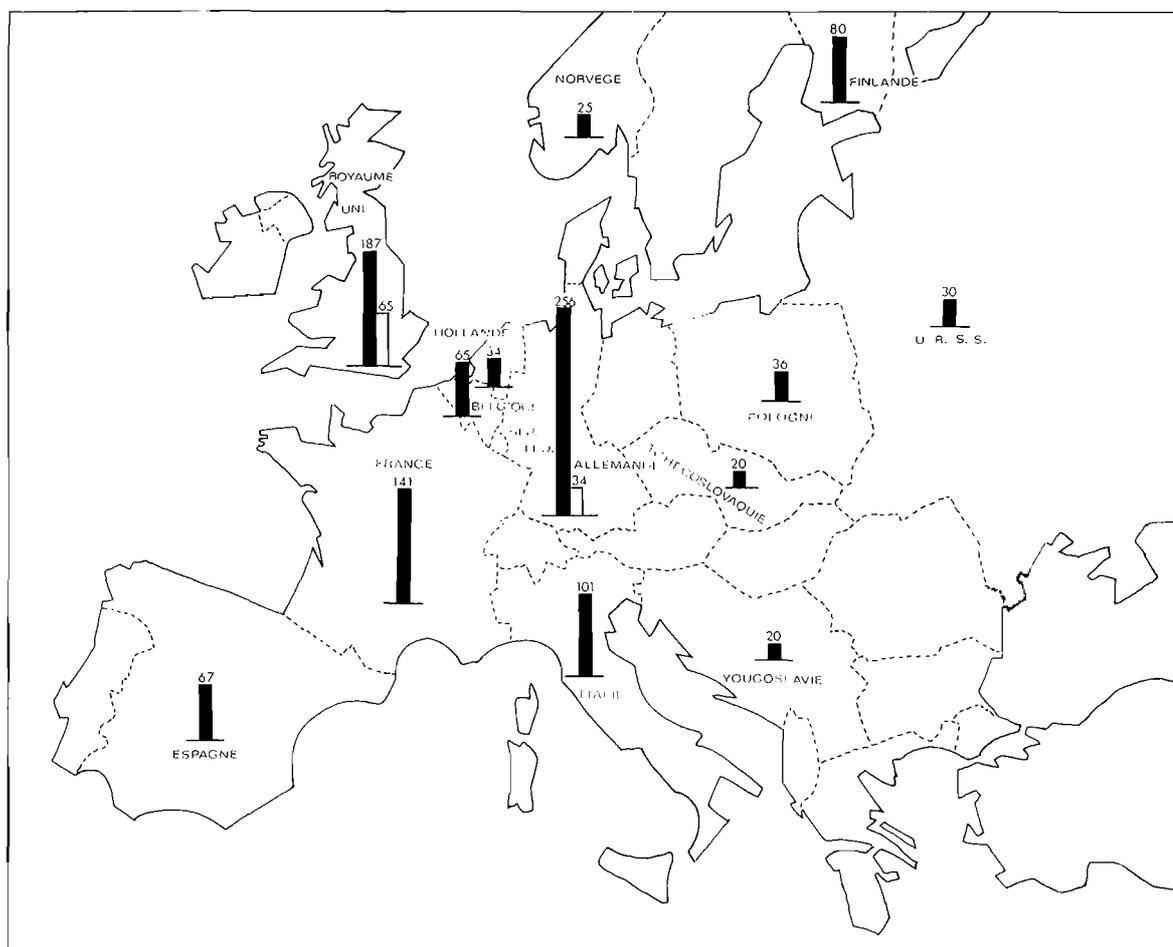


FIG. 1. — Capacité de production de dioxyde de titane, en milliers de tonnes par an, au 1<sup>er</sup> juillet 1977 en Europe ; en noir : procédé à l'acide sulfurique, en blanc : procédé au chlore.

présence de quantités importantes d'acide sulfurique, une teneur élevée en sulfate ferreux qui sera oxydé dans le milieu marin, une faible teneur en sels métalliques divers.

(1) Chiffres empruntés à *Information Chimie* (1977).

Notre étude vient compléter les résultats obtenus dans un travail antérieur (LASSUS, 1974) sur les toxicités directe et induite, à l'égard des organismes planctoniques, de trois rejets industriels résultant de la fabrication du dioxyde de titane.

Il nous a paru intéressant d'approfondir les premiers résultats relatifs aux larves de décapodes en augmentant la durée d'exposition aux différentes concentrations en effluent, et en recherchant la part relative de l'acidité et de la teneur en fer de ces effluents dans les effets observés.

Tout d'abord nous rappellerons brièvement quelques généralités sur les effluents testés, les travaux effectués tant en France qu'à l'étranger, et enfin la méthodologie utilisée dans la présente étude.

## I. Généralités.

Plusieurs effluents industriels chargés en sels de fer ont reçu la dénomination de « boues rouges », mais il convient de différencier, d'une part, les boues rouges vraies, composées principalement d'oxyde ferrique en milieu légèrement sodique et résultant du traitement alcalin de la bauxite en vue de la production d'aluminium et, d'autre part, les rejets acides contenant une forte proportion de sulfate ferreux en solution dans l'acide sulfurique dilué, venant de la fabrication d'oxyde de titane. Ce dernier type de rejet provoque, après dilution en mer, un précipité colloïdal composé essentiellement d'hydroxyde ferrique et dont la couleur varie du jaune au rouge-orangé.

Des effluents de ce type sont déversés en mer, aux Etats-Unis, en Allemagne, en Norvège, en Finlande, en Hollande, en Belgique, en Italie, en France, en Grande-Bretagne...

Nous étudierons, dans ce travail, trois effluents :

l'un déversé en mer Tyrrhénienne, au moyen de navires-citernes, par la Société Montedison ;

l'autre en estuaire de Seine, au moyen d'émissaire, par les Fabriques de Produits chimiques de Thann et de Mulhouse au Havre ;

le dernier en mer du Nord, également au moyen d'émissaire, par la Tioxide S.A., à Calais.

La composition de ces effluents dépend des minerais utilisés, de l'acide sulfurique employé et du mode de traitement des déchets. Nous avons déterminé, dans chacun des échantillons d'effluents reçus, les teneurs en acide sulfurique, en fer, en zinc, en cuivre, en cadmium et en mercure (tabl. 1). La composition moyenne des effluents, telle qu'elle nous a été communiquée, est donnée dans le tableau 2.

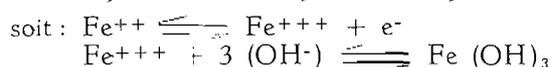
### 1° Les transformations chimiques des effluents dans le milieu marin.

Lorsque ces effluents sont rejetés, ils sont à la fois dilués, hydrolysés et neutralisés. Rappelons que l'eau de mer est légèrement basique (pH = 8,0 à 8,2) ; les sels qui s'y trouvent dissous lui confèrent un certain pouvoir tampon.

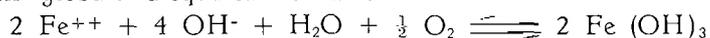
Dans le but d'étudier la relation qui existe entre la précipitation de l'hydroxyde ferrique et la neutralisation de l'acidité par l'eau de mer, nous avons procédé à des dilutions d'une solution faiblement acide (1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 34 N) de sulfate ferreux (30 g/l de fer sous forme de FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O).

Les valeurs du pH de ces dilutions après 24 h ont été notées, ainsi que l'apparition de fer précipité (tabl. 3).

On constate que pour des valeurs de pH inférieures à 3, les solutions restent limpides. En effet, l'équilibre fer précipité/fer soluble dépend, d'une part, de l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique et, d'autre part, des équilibres entre les ions Fe<sup>++</sup>, Fe<sup>+++</sup>, OH<sup>-</sup>, H<sup>+</sup> et SO<sub>4</sub><sup>-</sup>,



la réaction globale d'équilibre s'écrivant :



	Fe (mg/l)	Zn (mg/l)	Cu (mg/l)	Cd (mg/l)	Hg (mg/l)	Normalité (N)
Montedison	44 000	10	0,4	0,55	0,0004	3,00
Thann et Mulhouse	12 500	102,5	2,3	0,40	< 0,00005	0,71
Tioxide	4 700	11	0,10	0,10	< 0,0004	2,08

TABLE. 1. — Normalités et teneurs en différents métaux dosés dans les trois effluents utilisés lors de nos expérimentations.

	Montedison	Tioxide	Thann et Mulhouse
pH	0,2	0,4	0,6
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	110 g/l	56,7 g/l	33 g/l
Fe	48 g/l	4,8 g/l	8 g/l
Ti	2,6 g/l	Nd	0,55 g/l
Ti O <sub>2</sub> + solides	Nd	1,04 g/l	Nd
Na	70 mg/l	2 566 mg/l	4 855 mg/l
K	25 mg/l	Nd	Nd
Mg	3 200 mg/l	Nd	Nd
Ca	265 mg/l	Nd	Nd
Al	385 mg/l	1 401 mg/l	Nd
V	275 mg/l	190 mg/l	19 mg/l
Cr	40 mg/l	57 mg/l	7,5 mg/l
Mn	585 mg/l	67 mg/l	300 mg/l
Co	Nd	2,2 mg/l	Nd
Ni	Nd	2,2 mg/l	Nd
Cu	Nd	0,63 mg/l	Nd
Zn	Nd	19,5 mg/l	Nd
Cd	10 mg/l	< 0,06 mg/l	0,2 mg/l
Hg	Nd	0,033 mg/l	Nd
Sn	Nd	0,5 mg/l	Nd
Pb	10 mg/l	< 0,5 mg/l	1,2 mg/l
Si	2 200 mg/l	57 mg/l	Nd
As	Nd	Nd	0,15 mg/l

TABLE. 2. — Composition des trois effluents d'après les données communiquées (Nd = non déterminé).

Ces équilibres ont été très étudiés, notamment par DUURSMA et SEVENHUYSEN (1966) en ce qui concerne la solubilité du fer dans l'eau de mer. Il apparaît, d'après la courbe théorique d'apparition du  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  calculée à partir d'un produit de solubilité  $= 10^{-36}$  que le pH-limite pour l'état particulaire est égal à 4,52.

Outre leurs concentrations élevées en fer et en acide sulfurique, ces effluents se caractérisent par la présence de quelques ppm de métaux lourds. La dilution qui s'opère lors du rejet ramène rapidement ceux-ci au niveau des valeurs usuelles dans le milieu marin.

Dilutions en eau de mer	Teneurs en fer (g/l)	Valeurs du pH après 24 heures
1/5	6,00	1,40
1/10	3,00	1,65
1/20	1,50	1,90
1/50	0,60	2,40
1/100	0,30	3,00
1/125	0,24	3,25
1/150	0,20	3,50
1/175	0,17	3,85
1/200	0,15	4,52
1/250	0,12	5,45
1/500	0,06	6,20
1/1 000	0,03	6,65

TABLE. 3. — Valeurs du pH pour différentes dilutions d'une solution contenant 30 g/l de fer et 1 % de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  34 N.

## 2° Effets biologiques des effluents dans le milieu marin.

Les effets de ces effluents sur les organismes marins ont été étudiés dans divers pays.

### Finlande.

Une usine déverse journallement, depuis 1961, dans le golfe de Bothnie, 11 000 m<sup>3</sup> d'effluent contenant notamment 480 t de sulfate ferreux et 230 t d'acide sulfurique ; ce rejet est effectué par trois émissaires dans une zone déjà soumise à d'autres déversements industriels.

LEHTONEN et TUUNAINEN (1974) rapportent, pour des études en laboratoire, une toxicité aiguë liée aux pH bas sur diverses espèces de poissons. *In situ*, ces auteurs signalent une relation très nette entre le nombre et la biomasse du mollusque *Macoma balthica* et la distance à l'exutoire. Les poissons fuient la zone de déversement et les zones de pêches sont déplacées de 10 à 15 km au nord et au sud du rejet ; le volume des prises semble diminuer lorsque la concentration en fer est supérieure à 1 mg/l. Enfin, il aurait été noté une corrosion accrue des engins de pêche.

Ces études ont été poursuivies par des chercheurs finlandais ; leurs travaux sont résumés par LEHTONEN (1975) et aboutissent aux résultats suivants :

la production primaire paraît légèrement diminuée à l'intérieur de la zone de décharge, alors que le zooplancton ne serait que peu affecté ;

le benthos est de plus en plus clairsemé lorsqu'on approche de la zone de déversement ;

des œufs de *Esox lucius*, incubés à la sortie de l'émissaire, brunissent et ne produisent des larves qu'à partir d'une distance égale à 1 km de l'exutoire ;

des poissons adultes, placés à différents points de la nappe de déversement, meurent jusqu'à une distance située à 5 km du lieu de rejet.

#### *Belgique.*

De 1970 à 1973, les quantités d'effluents rejetées, avec une cadence de 1 500 t tous les deux ou trois jours au moyen de navires-citernes, sont passées de 62 800 à 138 000 t.

Des études à long terme, effectuées par DE CLERCK et VAN DE VELDE (1974), ont été entreprises au large de Zeebrugge afin de déterminer l'influence de ce déversement sur le stock ichthyologique local.

#### *Allemagne.*

Depuis 1969, la Titan Gesellschaft déverse en mer du Nord, au large d'Héligoland, 1 800 t d'effluent par jour. Ainsi, 91 000 t d'acide sulfurique et 65 000 t de sulfate ferreux sont rejetées annuellement (RACHOR et DETHLEFSEN, 1974).

DETHLEFSEN (1973) a comparé la composition spécifique des peuplements benthiques et ichthyologiques de la zone de déversement en 1971 avec des résultats remontant aux années 1959-1962 ; aucune variation importante n'a pu ainsi être mise en évidence.

KINNE et ROSENTHAL (1967) ont étudié l'influence de cet effluent sur les œufs et larves de hareng (*Clupea harengus*) ; les embryons présentent une augmentation de la fréquence des battements cardiaques, ainsi que des anomalies dans leur développement. Le comportement nutritif et la motilité sont également touchés. Des effets comparables ont été notés à l'égard de *Gobius pictus* et *Solea solea* (KINNE et SCHUMANN, 1968).

KAYSER (1969, 1970) montre en laboratoire un effet nocif de l'effluent sur le phytoplancton (*Proocentrum micans*, *Ceratium furca* et *Phaeocystis pouchetii*) jusqu'à la dilution 1/5 000. Les cellules survivant à cette dilution ont une reproduction limitée.

*In situ*, on n'a constaté que peu d'altération dans les populations benthiques pendant deux ans, en dépit des augmentations en fer de la couche superficielle des sédiments (STRIPP et GERLACH, 1969 ; WEICHART, 1972 ; RACHOR, 1972). Il n'y a pas eu d'incorporation notable du fer dans les sédiments, et des études ultérieures (WEICHART, 1975) ont montré qu'il n'y avait pas d'accroissement continu de la quantité de fer dans la zone étudiée.

L'influence des particules d'hydroxyde ferrique, sur le comportement de *Mytilus edulis*, a été étudiée par WINTER (1972). La filtration des flocculats d'hydrate de fer provoque une augmentation de la production des pseudofèces et, corrélativement, une perte de poids des individus due à une élévation de la sécrétion de mucus. En dehors de ces effets mécaniques, aucun effet toxique aigu du fer n'a été mis en évidence. L'hypersécrétion de mucus a été également notée chez des polychètes tubicoles (RACHOR, 1972).

Enfin AKESSON (1970), étudiant l'influence de l'acidité, sur le polychète *Ophryotrocha labronica*, trouve que les effets létaux, constatés aux pH inférieurs à 5, disparaissent au-delà de pH 6,5.

#### *Grande-Bretagne.*

Depuis 25 ans, deux usines produisent du dioxyde de titane et rejettent, par émissaires, leurs résidus dans l'estuaire du Humber. Le débit du rejet est de l'ordre de 22 700 m<sup>3</sup> d'effluent par jour.

Des études à court et long termes ont été entreprises (WILSON et WHITE, 1974) ; on peut les résumer ainsi.

A partir de prélèvements effectués pendant 15 années dans l'estuaire, il apparaît que s'il y a des fluctuations dans la composition spécifique du benthos, la biomasse varie peu. Néanmoins, il existe une zone abiotique à la sortie de l'émissaire et l'abondance des espèces ne croît que graduellement au-delà.

Des tests de toxicité aiguë ont été réalisés sur les genres *Pleuronectes*, *Pomatoschistus*, *Macoma* et *Nephtys*. La concentration létale moyenne serait comprise entre les dilutions 1/500 et 1/125 ; la croissance de *Artemia* et *Ophryotrocha* est affectée par une dilution au 1/500 de l'effluent.

Une comparaison entre toxicité de l'effluent et toxicité de solutions d'acides sulfurique et chlorhydrique fait apparaître le rôle primordial du pH dans la nocivité à court terme.

#### *Etats-Unis.*

En ce qui concerne l'effluent américain, une synthèse de travaux, portant sur 22 ans pour un déversement total de 50 millions de tonnes en baie de New York, par barges, aboutit aux résultats suivants :

influence mineure de l'effluent sur la production primaire de la baie ;

pas d'effets nocifs de concentrations quatre fois supérieures à celles trouvées dans la nature, sur des espèces phytoplanctoniques cultivées en laboratoire ;

gêne au niveau de la reproduction et retard dans le développement d'un copépode, *Pseudotiatomus coronatus* ;

adsorption de particules de fer sur l'exosquelette des nauplii et des adultes de cette espèce. Mais des essais ultérieurs, utilisant des dilutions filtrées du rejet, montrent une persistance des troubles qui ne peuvent être entièrement imputés au fer (VACCARO et GRICE, 1972).

Dans des essais en laboratoire, GRICE et coll. (1973) ont procédé à des tests de toxicité à court terme en simulant les valeurs de pH rencontrées dans le sillage du navire-citerne. En dépit d'un comportement perturbé au moment de l'exposition au rejet déversé, les copépodes testés (*Calanus finmarchicus*, *Temora longicornis* et *Pseudocalanus sp.*) ne présentent plus aucun trouble aussitôt après l'augmentation de la dilution initiale.

Dans une expérimentation de plus longue durée (48 h) utilisant des concentrations constantes d'effluent, seules celles de pH bas (de 2,8 à 6,8) provoquent une certaine mortalité ; les auteurs précisent toutefois que ces dilutions n'existent que pendant un temps très court dans le milieu naturel. L'utilisation, d'une part, de solutions acides de référence et, d'autre part, d'effluent préalablement neutralisé avec de la soude, a montré que seule l'acidité intervenait dans la mortalité observée.

D'après WIEBE et coll. (1973), les rejets en baie de New York ne semblent pas avoir un effet décelable sur la diversité spécifique ou la biomasse zooplanctonique.

Un rappel des travaux exécutés depuis 26 ans dans cette zone déjà soumise à de nombreux rejets industriels, permet à KETCHUM (1974) de réfuter les critiques opposées par les représentants de la pêche locale. En effet, depuis 1948, il n'a pas été constaté d'effets nuisibles mesurables sur l'écosystème marin : on ne trouve pas de pH bas du fait de la dilution rapide du résidu après évacuation par barges, le flocculat d'hydroxyde ferrique est dispersé assez rapidement pour éviter une précipitation sur le fond (le benthos ne souffre donc d'aucun dommage) et enfin les effets à long terme sont écartés en raison du renouvellement rapide des masses d'eau dans la baie.

#### *Italie.*

L'effluent de l'usine Montedison a fait l'objet d'observations hydrologiques, biologiques et chimiques, lors des rejets par navires-citernes.

Au cours de missions conjointes, entreprises par le Laboratoire central d'Hydrobiologie de Rome et l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes, il est apparu que des rejets entre la surface et — 15 m assuraient une dispersion amenant la dilution au voisinage de 1/50 000 (rapports internes de l'I.S.T.P.M., 1972). Rappelons que ces déversements se faisaient alors en surface avec brassage par les hélices du navire-citerne. Les modalités de rejet ont été modifiées par la suite afin d'obtenir un déversement en profondeur plus discret mais ne permettant pas cependant une aussi bonne dilution de l'effluent.

Des observations effectuées dans les zones de décharge, en 1973 (ARCHIMBAUD, 1974), confirment la neutralisation rapide de l'acidité après dilution dans le milieu marin ; parallèlement, le sulfate ferreux se transforme en hydroxyde ferrique et donne une coloration rougeâtre en milieu marin.

Les flocculats ferriques, qui n'ont rien de comparable avec des boues insolubles, ont tendance à sédimenter et à s'adsorber sur les coquilles et téguments d'organismes sessiles.

Par ailleurs, en laboratoire, des expériences à court et long termes, exécutées par le

C.E.R.B.O.M. (rapport n° 202, 1972-1973) révèlent une toxicité de l'effluent sur différents organismes du phytoplancton (*Diogenes sp.* et *Asterionella japonica*) et du zooplancton (*Artemia salina*), ainsi que sur des crustacés, des mollusques, des poissons et des invertébrés benthiques. Les auteurs trouvent une toxicité évidente pour des dilutions inférieures au 1/2 000 (phyto- et zooplancton) et 1/16 000 (poissons) après 9 jours d'expérimentation.

#### France.

Les effluents de Thann et Mulhouse ont fait l'objet d'une étude par le C.E.R.B.O.M. (rapport n° 221, 1974) ; les seuils toxiques sont de l'ordre (en dilution) de 1/640 pour *Artemia salina*, 1/400 pour *Nereis diversicolor* et 1/640 pour *Asterionella japonica*.

Ces rejets et ceux de Tioxyde ont été étudiés également à l'I.S.T.P.M.

Il ressort d'une étude sur les larves de *Palaemon serratus* (16 jours de développement) et de *Portunus puber* (24 jours de développement) que l'hydroxyde ferrique pourrait gêner physiquement les organismes testés (LASSUS, 1974), tandis que l'acidité des effluents est le facteur primordial de la toxicité aiguë à l'égard des organismes (LASSUS et MAGGI, 1974), tant que le pH demeure inférieur à 6,0.

En fait, l'acidité est très rapidement neutralisée grâce au pouvoir-tampon de l'eau de mer. On calcule qu'un litre d'acide sulfurique concentré ( $d = 1,83$ ) est neutralisé par 15 m<sup>3</sup> d'eau de mer (Livre blanc concernant les rejets).

Il ressort, de l'ensemble des travaux que nous venons d'examiner, que ces résidus acides peuvent présenter une certaine toxicité directe lorsqu'ils sont insuffisamment dilués. Lors d'expérimentations en laboratoire, les stades larvaires apparaissent très sensibles, ainsi que les organismes du plancton.

*In situ*, on constate que les rejets sont rapidement neutralisés du fait de la dilution, et on n'a pas mis en évidence d'effets biologiques appréciables. Nous avons essayé de déterminer si les effets observés sur les larves de crustacés étaient imputables au fer seul ou bien s'il y avait synergie de l'acidité et de la charge en fer.

## II. Méthodologie.

### 1° Choix des animaux d'expérience.

#### 1. Précambule.

Au cours de précédents travaux, il est apparu que le branchiopode *Artemia salina* ne pouvait être représentatif à lui seul de l'ensemble du plancton marin. En effet, c'est un animal eurytherme (4 à 37° C) et euryhalin (15 à 80‰) (DUTRIEU, 1960), qui, de plus, s'adapte parfaitement à un enrichissement du milieu en matière organique.

Vis-à-vis de l'acidité, *A. salina* résiste très bien dès que le pH est supérieur à 5,5 (MAGGI et LASSUS, 1974). Tout ceci nous a conduit à envisager d'autres crustacés comme matériel d'étude.

Nos premiers essais ont porté sur des larves de brachyourses : *Maia squinado*, *Carcinus maenas* et *Macropipus puber* ; les difficultés expérimentales nous ont conduit à rejeter l'utilisation de ces trois espèces.

Nous avons finalement arrêté notre choix sur des larves d'un macroure : la crevette rose, *Palaemon serratus*, dont l'élevage en laboratoire est très pratiqué (SOLLAUD, 1923 ; REEVE, 1969 a et b ; FIGUEIREDO, 1973 ; DEROUX, CAMPILLO et BRADBURY, 1975 ; CAMPILLO, 1975 a et b ; CAMPILLO et LUQUET, 1975) ; il est relativement aisé d'obtenir des femelles grainées et de les faire pondre en laboratoire.

#### 2. Ecologie de *P. serratus*.

Les larves se trouvent toute l'année dans le plancton en Manche (GURNEY, 1923 ; LEBOUR, 1947) et en Méditerranée pendant une très longue période de l'année (BOURDILLON-CASANOVA, 1960).

Leur développement a été étudié par SOLLAUD (1923) et REEVE (1969 a et b). Le nombre de stades avant la métamorphose va de 5 à 9 selon les conditions climatiques et les modalités d'élevage (fig. 2).

### 3. Influence de différents facteurs sur le développement.

a) *La température* : la durée du développement des larves est étroitement liée à la température : optimum 20° C, limite supérieure 25° C (REEVE, 1969 a).

Les larves testées dans ce travail ont été obtenues à partir de femelles grainées pêchées au large de Roscoff ou du Croisic. Les femelles ont été rapportées en eau de mer oxygénée au laboratoire de Nantes en moins de 6 heures et placées en aquariums dans une salle régulée à 16° C. Elles ont été ultérieurement placées à 20° C, dans de petits volumes (2 à 4 l) d'eau de mer filtrée, pour accélérer la maturation des œufs.

Les larves ont été maintenues pendant la durée du développement à 18° C, sauf pour l'expérience 4 qui a été conduite à 21° C.

b) *Salinité* : la salinité de l'eau de mer utilisée pour les élevages a été de 30 à 31 ‰ environ. On peut considérer qu'elle restait constante du fait des changements de milieux très fréquents.

## 2° Conditions d'élevage.

### 1. Matériel et méthodes.

a) *Matériel* : nous avons utilisé des cristallisoirs pyrex de 15 ml contenant 10 ml de milieu, aux différentes dilutions, et recevant une larve chacun. Il est en effet nécessaire de séparer les larves de *P. serratus*, même aux premiers stades, en raison du cannibalisme intra-spécifique.

En général, les expériences ont porté sur des lots de 30 individus par milieux différents. Chaque lot était disposé sur des portoirs munis d'alvéoles permettant un transport aisé des cristallisoirs.

b) *Changement de milieu* : dans les élevages en eau stagnante, ce qui est le cas lorsqu'il s'agit d'études sur des polluants, les risques de contamination bactérienne sont d'autant plus grands que le milieu est chargé en matières organiques (nourriture, cadavres en décomposition, boulettes fécales...). Aussi, les milieux ont-ils été changés toutes les 48 h, les animaux morts et les exuvies étant prélevés et dénombrés tous les jours.

L'eau de mer utilisée était filtrée sur membrane cellulosique 0,45 µ.

c) *Nutrition* : les larves de *P. serratus* ne peuvent être maintenues en conditions normales d'alimentation qu'avec une concentration-limite de 10 nauplii d'*Artemia salina* juste éclos/ml. De cette façon, la fréquence des mues était comparable et le plus souvent meilleure que celle observée par REEVE.

Néanmoins, après le 5<sup>e</sup> stade, il semble que les nauplii d'artémies ne suffisent plus ; certains auteurs ajoutent des œufs de Pénéidées. De toutes les façons, il semble qu'un léger apport organique rende la métamorphose plus précoce (WICKINS, 1970 ; FIGUEIREDO, 1973). C'est pourquoi nous avons ajouté 0,01 à 0,02 ml de cultures phytoplanctoniques (mélange de *Phaeodactylum tricornerum* et *Dunaliella tertiolecta*), à ce stade du développement, dans chaque cristallisoir contenant 10 ml de milieu et une larve.

### 2. Processus expérimentaux.

Nous avons effectué sept expérimentations de durées variant entre 32 et 60 jours.

Les milieux et la nourriture ont été renouvelés toutes les 48 heures pour chaque larve.

Les trois premières expérimentations ont porté sur l'effluent Montedison, la quatrième sur les effluents Montedison et Thann et Mulhouse, et enfin les trois dernières sur l'effluent Tioxide.

Dans les deux premières expériences, les changements bi-journaliers de milieux ont été effectués à partir de dilutions préparées au début de l'expérimentation pour toute la durée des essais.

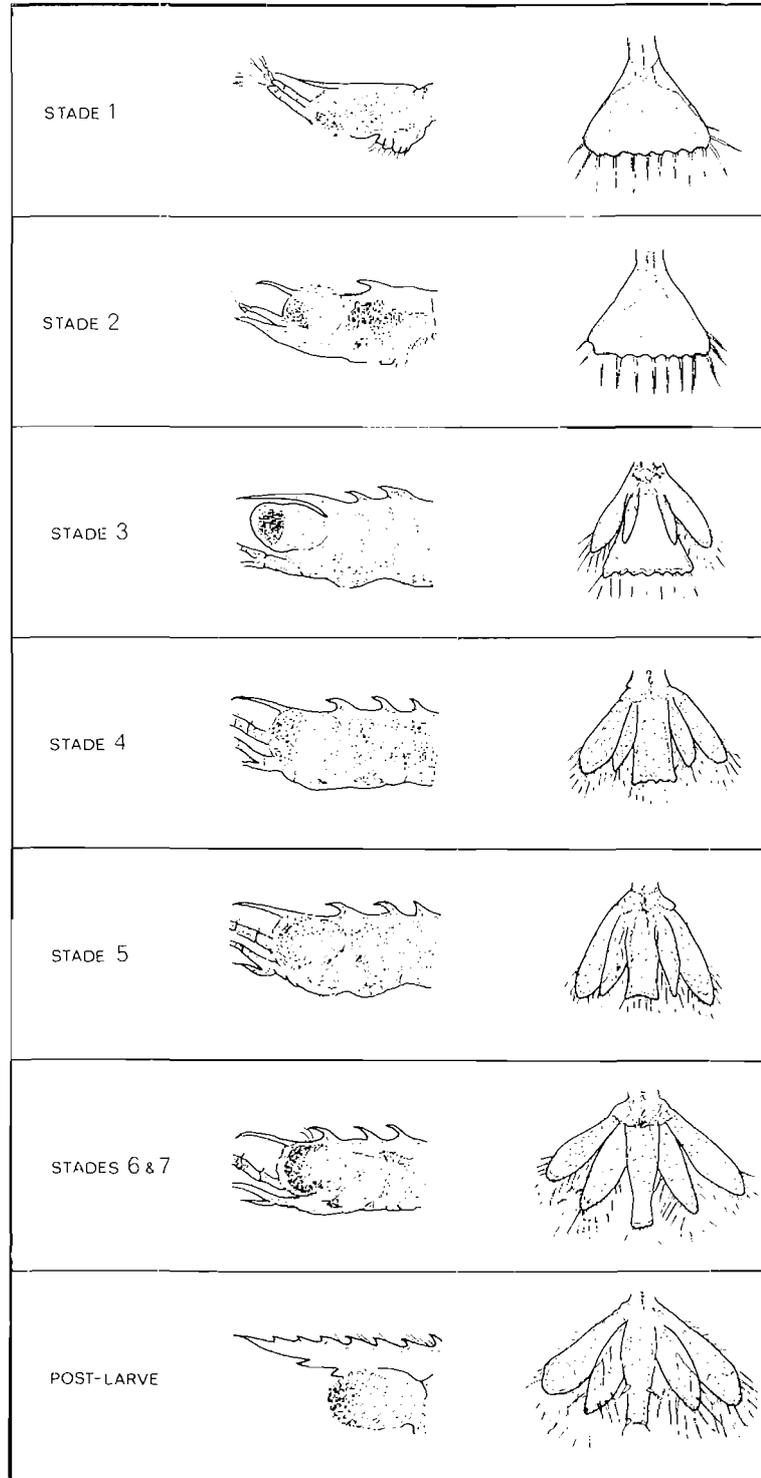


FIG. 2. — Evolution des régions thoracique et caudale au cours du développement larvaire de *Palaemon serratus* (d'après CAMPILLO, 1975 b).

Nous avons utilisé pour la dernière expérience des dilutions de l'effluent Tioxide préparées quelques jours auparavant et présentant alors une stabilité du pH. Notre but était de supprimer l'effet propre à l'acidité des dilutions.

Les autres expériences ont porté sur des dilutions fraîchement préparées, tous les deux jours, immédiatement avant les changements de milieux; nous avons voulu nous situer ainsi dans des conditions de rejets cycliques.

Des mesures de pH des différentes dilutions ont été effectuées journallement afin de suivre l'évolution de l'acidité des milieux.

La métamorphose des larves commence généralement à partir du 20<sup>e</sup> jour, c'est-à-dire après 8 à 9 mues successives. Nous avons exprimé, pour chaque expérience, les pourcentages de mues, de mortalités et les nombres cumulés de métamorphoses. En outre, nous avons estimé, pour chaque dilution, le nombre moyen de mues précédant la métamorphose.

Les pourcentages de mues et de mortalités ont été exploités et représentés en utilisant une table traçante couplée avec une calculatrice HEWLETT-PACKARD, modèle 9830 A <sup>(1)</sup>.

Antérieurement aux tests sur le développement larvaire, nous avons réalisé des essais de toxicité directe, sur des larves de *P. serratus* au stade 1, dans le but de préciser les concentrations létales limites.

### III. Résultats et discussions.

#### 1° Milieux neutralisés. Rejets de type ponctuel. Influence de l'effluent Montedison sur le développement larvaire.

##### 1. Première expérience: effluent Montedison.

Dans cette expérimentation, nous avons voulu reproduire un rejet sporadique du type de celui de la Société Montedison: l'effluent est rapidement dilué et le pH s'approche de celui de l'eau de mer. Ces conditions devraient permettre la mise en évidence de l'action de fortes concentrations en fer sur le développement des larves de *P. serratus*.

##### a) Protocole expérimental.

Nous avons testé les dilutions 1/3 000, 1/5 000 et 1/10 000 de l'effluent Montedison, qui contient 44 g/l de fer et 8,8 % d'acide sulfurique; la référence acide: 2 % d'acide sulfurique 34 N; la référence fer: 2 % d'acide sulfurique et 44 g/l de fer.

Dix litres de chacune des dilutions ont été préparés de manière à renouveler le milieu tous les deux jours dans les cristallisoirs contenant les crevettes. Le pH a été mesuré jusqu'à stabilisation (tabl. 4).

L'expérience a duré 32 jours.

##### b) Résultats.

##### Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues ont été représentés sous la forme d'histogrammes et les pourcentages de mortalité correspondants sous la forme de graphiques (fig. 3).

Afin de faciliter l'interprétation des histogrammes des pourcentages de mues, nous avons détaillé, dans la figure 4, la succession des stades larvaires en prenant comme exemple le témoin correspondant à la durée d'expérimentation la plus longue (60 jours).

La régularité des mues jusqu'au quatrième stade du développement est liée essentiellement à un déterminisme génétique, alors que par la suite les facteurs nutritionnels et ambiants prennent une importance accrue (FIGUEIREDO, 1973).

---

(i) Nous sommes reconnaissants à MM. CADIOU et DELAPORTE (Centre de Calcul de l'I.S.T.P.M.) pour leur collaboration.

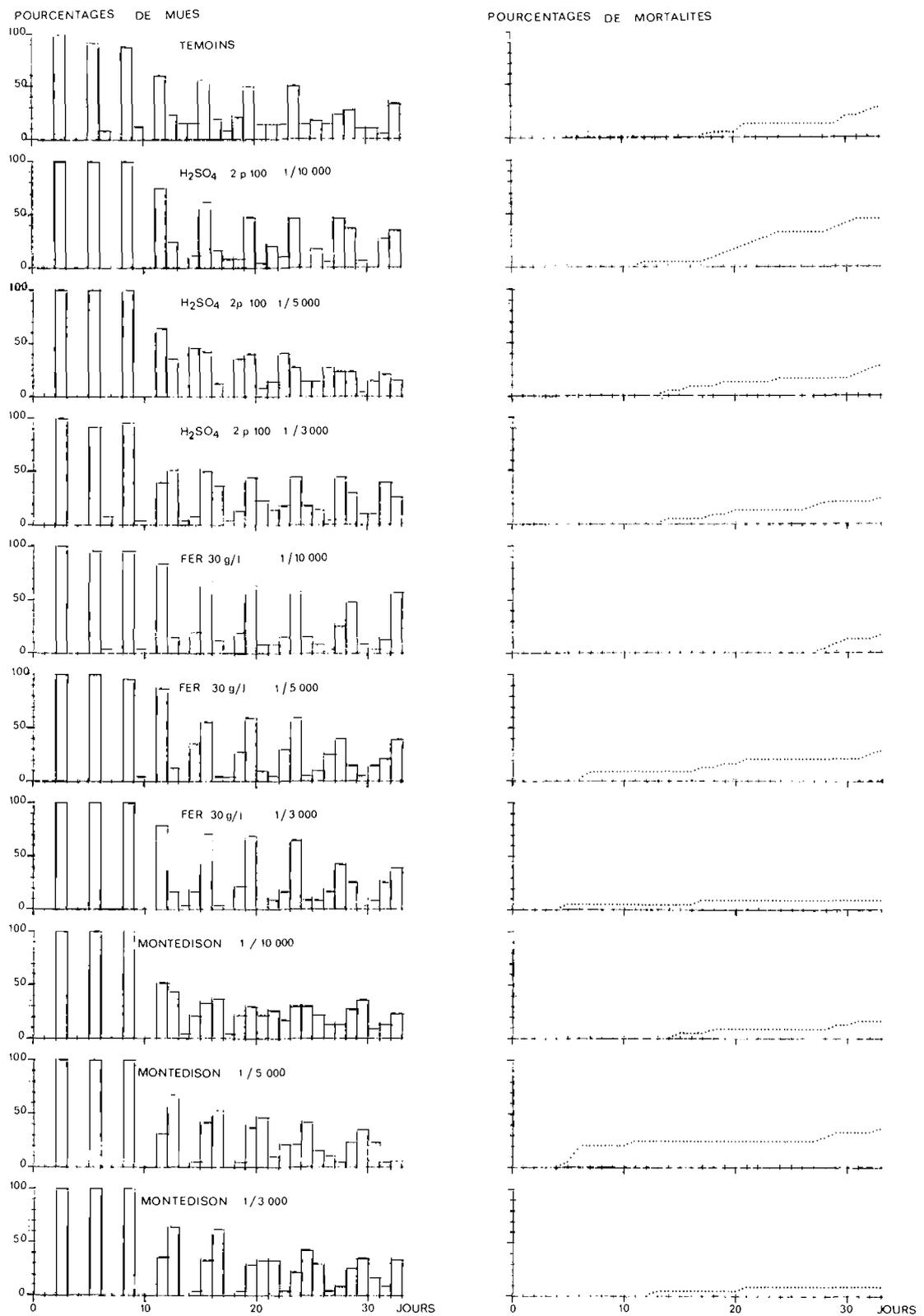


FIG. 3. — Expérience 1: diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent Montedison et de solutions de fer et d'acide sulfurique.

Chaque histogramme des dilutions de l'effluent de la référence en fer et de la référence acide est comparé à l'histogramme-témoin.

On observe, pour les dilutions de l'effluent Montedison, un léger décalage des maximums de mues à partir du stade 4 ; la mortalité a été très comparable dans tous les cas, excepté pour la dilution 1/5 000 où elle a été plus importante sans cependant dépasser 30 % pendant la majeure partie du développement.

	Evolution du pH en cinq jours					
	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Témoins	8,05	8,10	8,10	8,10	8,10	8,10
Montedison	1/10 000	7,10	7,80	7,95	8,00	8,05
	1/ 5 000	6,90	7,60	7,85	7,95	8,00
	1/ 3 000	6,50	7,10	7,65	7,75	7,80
Fer 44 g/l	1/10 000	7,70	7,90	8,00	8,00	8,10
	1/ 5 000	7,55	7,75	7,95	8,00	8,10
	1/ 3 000	7,35	7,65	7,90	8,00	8,05
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 %	1/10 000	7,90	8,05	8,05	8,05	8,10
	1/ 5 000	7,80	8,00	8,05	8,05	8,10
	1/ 3 000	7,60	7,80	8,05	8,05	8,05

TABLE. 4. — Evolution du pH en cinq jours pour des dilutions de l'effluent Montedison, d'une solution de fer et d'une solution d'acide sulfurique.

Les dilutions de la solution de référence fer ne montrent aucun décalage dans les maximums de mues par rapport au témoin ; la mortalité reste faible et ne dépasse jamais 20 %.

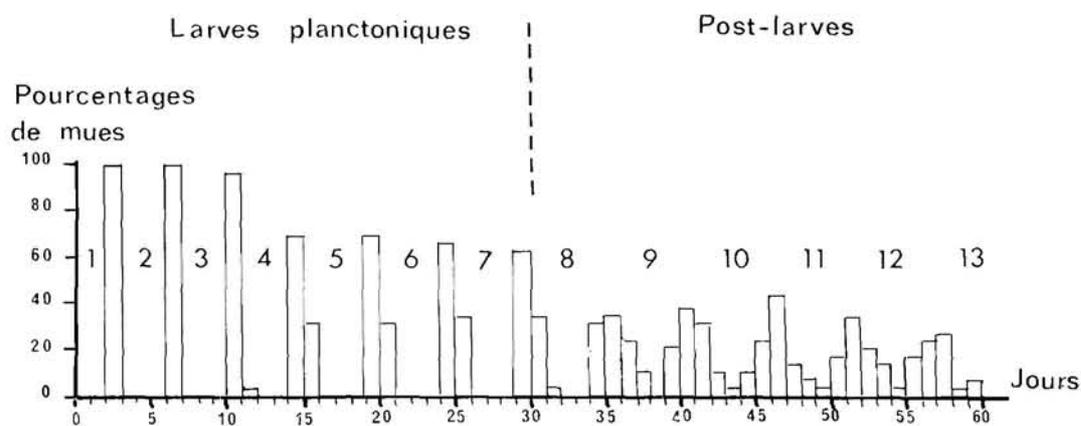


FIG. 4. — Les stades de développement de Palaemon serratus.

Enfin, pour les dilutions de la solution acide de référence, on ne note aucun décalage des maximums de mues par rapport au témoin ; les pourcentages de mortalités restent inférieurs à 20 %, exception faite pour la dilution 1/10 000 où une mortalité importante, probablement accidentelle, apparaît à partir du 20<sup>e</sup> jour et avoisine 50 % en fin d'expérience.

Nombres cumulés de métamorphoses.

L'ensemble de nos expériences montre l'apparition des premières métamorphoses à partir du 20<sup>e</sup> jour. La représentation graphique des nombres cumulés de métamorphoses (fig. 5) met en évidence le phénomène.

Le nombre de post-larves augmente de façon très comparable entre le 20<sup>e</sup> et le 32<sup>e</sup> jour du développement, excepté pour les dilutions 1/5 000 de l'effluent et 1/10 000 de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> où il est relativement faible; ce dernier point est probablement en rapport avec les mortalités plus importantes constatées avec ces deux dilutions.

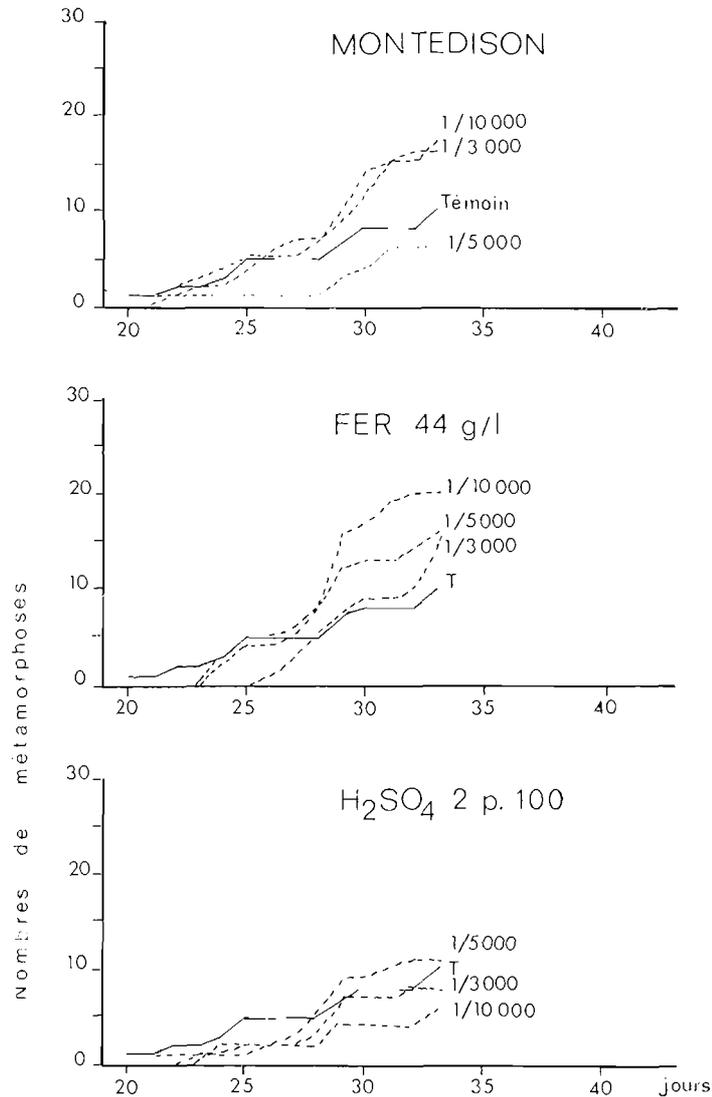


Fig. 5. — Expérience 1 : nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

Il nous a paru utile de calculer le nombre moyen de mues avant la métamorphose afin d'avoir une idée de l'état physiologique de la population, car une fréquence accrue des mues, avant métamorphose, résulte généralement d'un déséquilibre des différents facteurs ambiants (tabl. 5).

La comparaison des moyennes relatives aux différentes dilutions et la dispersion du nombre des mues observées dans chacune d'elles ne permettent pas de déceler des différences notables dans l'état physiologique des lots de larves par rapport au témoin.

	Moyennes	Ecart-types	Nombre de mesures
Témoins	7,4	1,25	22
Montedison 1/10 000	6,9	0,97	23
Montedison 1/ 5 000	7,5	0,96	19
Montedison 1/ 3 000	6,9	0,95	24
Fer 44 g/l 1/10 000	6,9	0,63	23
Fer 44 g/l 1/ 5 000	7,7	0,73	20
Fer 44 g/l 1/ 3 000	7,3	0,98	23
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 % 1/10 000	7,6	1,11	15
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 % 1/ 5 000	7,4	0,95	22
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 % 1/ 3 000	7,8	0,98	21

TABLE. 5. — Moyennes du nombre de mues, avant la métamorphose, relatives à chaque dilution testée.

c) Discussion.

Ces résultats ne montrent pas de différence significative entre le témoin et l'effluent Montedison aux trois dilutions testées en ce qui concerne la mortalité et la fréquence des mues ; il en est de même pour les solutions de référence en fer et en acide.

Il faut cependant remarquer que, dès la quatrième mue, les maximums de mues dans les dilutions de l'effluent Montedison sont en retard d'un jour par rapport à ceux du témoin.

En ce qui concerne le nombre de mues antérieures à l'apparition des post-larves, il n'y a aucune variation significative entre les différents lots de crevettes.

En revanche, les nombres cumulés de métamorphoses font apparaître une maturation plus rapide des individus soumis aux dilutions de l'effluent et de la solution de sulfate ferreux.

En conclusion, il est difficile, d'après ces résultats, d'apprécier la part relative du fer ou de l'acidité dans une éventuelle toxicité puisque, pour les valeurs maximales de 14,6 mg/l de fer et 0,0 029 % d'acide sulfurique (Montedison 1/2 000), on ne note aucun effet nocif.

De tels résultats ne permettant pas de définir un mode d'action, nous avons repris l'expérimentation en utilisant des concentrations un peu plus élevées.

2. Deuxième expérience : effluent Montedison.

a) Protocole expérimental.

Nous avons testé les dilutions 1/2 000, 1/3 000 et 1/5 000 de l'effluent Montedison : 44 g/l de fer et 8,8 % d'acide sulfurique ; la référence acide : 2 % d'acide sulfurique 34 N ; la référence fer : 2 % d'acide sulfurique et 44 g/l de fer.

L'expérimentation a duré 34 jours à la température de 18° C. Le pH, mesuré quotidiennement, évolue rapidement vers celui de l'eau de mer (tabl. 6).

b) Résultats.

Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues et de mortalités sont représentés dans la figure 6.

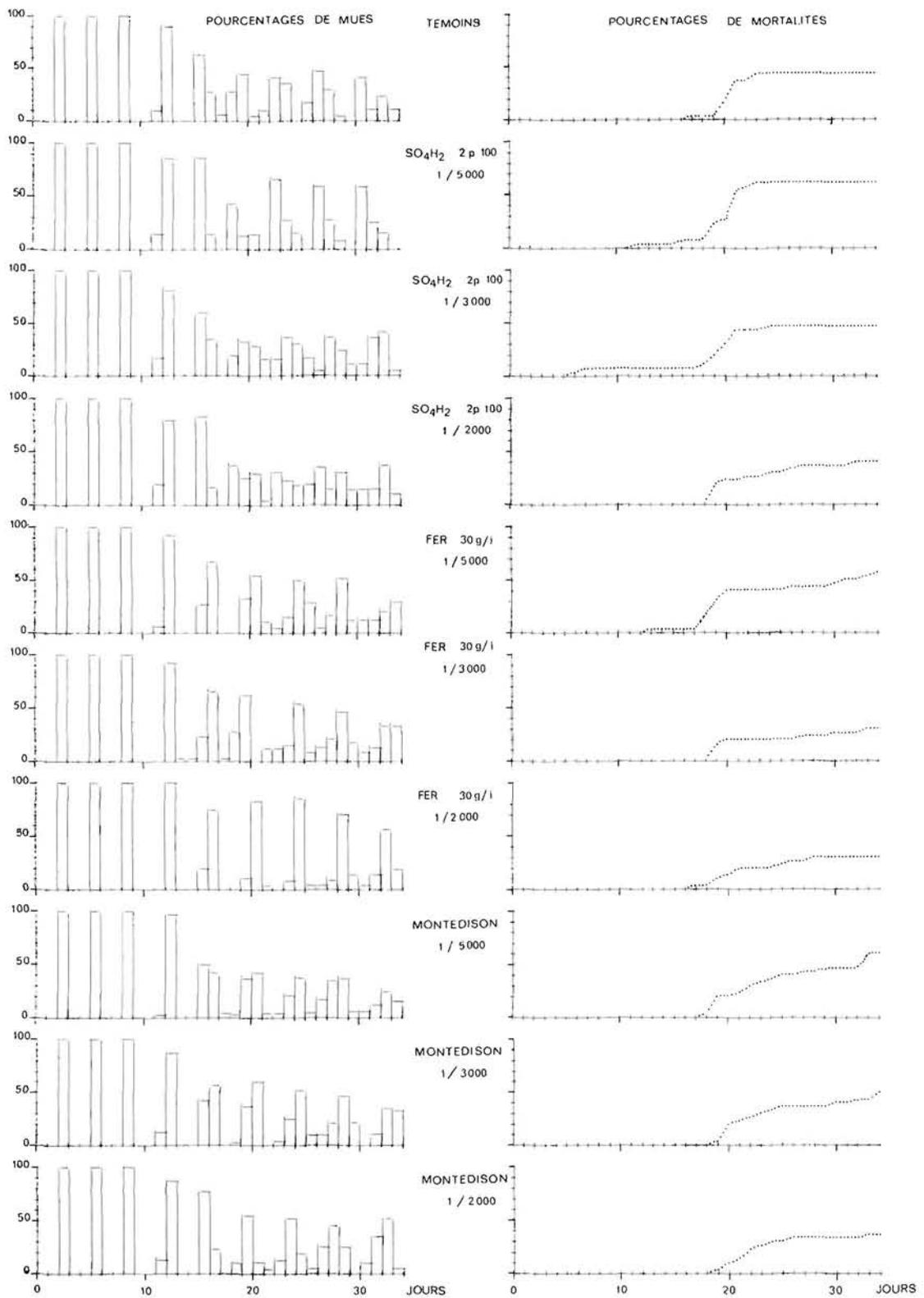


FIG. 6. — Expérience 2: diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent Montedison et de solutions de fer et d'acide sulfurique.

Les dilutions de l'effluent Montedison montrent des amplitudes maximales des pourcentages de mues comparables à celles des témoins. Jusqu'au sixième stade larvaire, on ne note pas de décalage entre les maximums de mues ; par contre, à partir du septième, un léger retard apparaît entre ces maximums par rapport aux témoins. Ceci a déjà été noté dans l'expérience précédente.

On retrouve, pour les dilutions de la solution de fer, le même décalage des maximums de mues, par rapport aux témoins, à partir du septième stade larvaire. De plus, pour chacune des périodes de mues (2 à 3 jours), le nombre d'individus muant en retard s'accroît parallèlement à l'augmentation de la teneur en fer. Progressivement, ce processus se traduit par des pics de plus en plus importants mais cependant décalés, dans le temps, de deux à trois jours par rapport aux témoins.

		Evolution du pH en cinq jours					
		T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Témoin		8,00	8,05	8,00	8,00	8,10	8,10
Montedison	1/5 000	6,65	7,30	7,80	7,90	8,00	8,00
	1/3 000	6,30	6,90	7,60	7,70	7,80	7,80
	1/2 000	6,10	6,70	7,30	7,50	7,60	7,60
Fer 44 g/l	1/5 000	7,35	7,65	7,95	8,00	8,05	8,10
	1/3 000	7,20	7,35	7,85	7,90	8,00	8,05
	1/2 000	7,05	7,25	7,80	7,90	7,95	8,00
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 %	1/5 000	7,55	7,85	8,00	8,00	8,10	8,10
	1/3 000	7,30	7,80	8,00	8,00	8,10	8,10
	1/2 000	7,15	7,75	8,00	8,00	8,10	8,10

TABL. 6. — Evolution du pH en cinq jours pour des dilutions de l'effluent Montedison, d'une solution de fer et d'une solution d'acide sulfurique.

Pour les dilutions de la solution acide de référence, on ne note pas de décalage des maximums de mues ; notons que la forte amplitude des pics, à la dilution 1/5 000, est liée à une mortalité très élevée (plus de 60 % dès le 23<sup>e</sup> jour).

En ce qui concerne la mortalité, pratiquement nulle en début d'expérimentation, elle devient importante à partir du 19<sup>e</sup> jour et ceci pendant trois à quatre jours essentiellement ; elle dépasse 50 % en fin d'expérience, pour plusieurs dilutions. Cette importante mortalité, étalée sur une courte période, se retrouve d'ailleurs pour tous les lots d'animaux de cette expérience. Elle est imputable à un déficit alimentaire accidentel dû à une mortalité subite des nauplii d'artémies ajoutés lors du changement de milieu, le 19<sup>e</sup> jour. Ces conditions sont revenues à un état normal dès le 21<sup>e</sup> jour, mais les larves de *P. serratus* ont plus ou moins bien résisté individuellement à ce traumatisme. De ce fait, la mortalité s'est accrue dans les jours suivants et s'est répercutée dans l'importance des amplitudes maximales des pourcentages de mue dans la suite de l'expérience.

#### Nombres cumulés de métamorphoses.

Quelles que soient les dilutions, l'évolution du nombre de métamorphoses est comparable à celle des témoins, mais lorsque la dilution diminue, les nombres de métamorphoses semblent légèrement supérieurs à ceux des témoins. Ce résultat est difficilement explicable (fig. 7).

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

On ne remarque pas de différence significative dans le nombre de mues avant métamorphose des divers lots d'individus (tabl. 7).

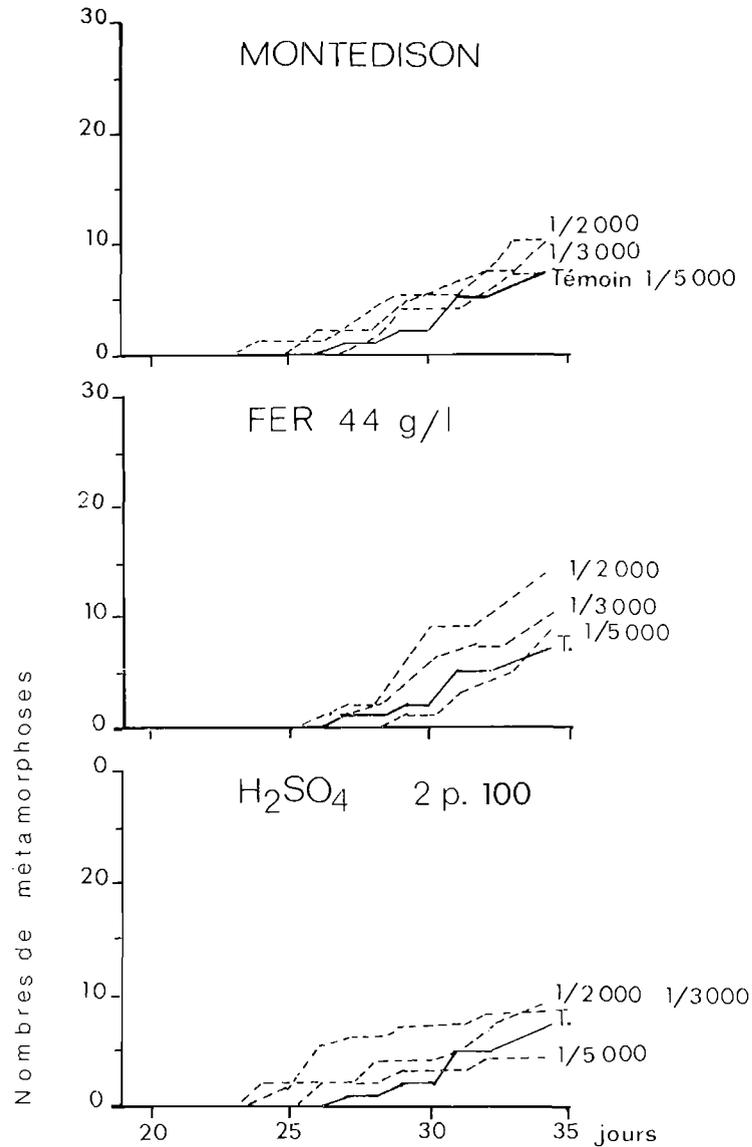


Fig. 7. --- Expérience 2: nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

c) Discussion.

Il ressort de l'ensemble de ces résultats que, hormis un décalage de un à deux jours observé dans l'apparition des maximums de mues pour l'effluent Montedison et la référence fer, il n'y a pas d'incidence nette des milieux sur le développement larvaire de *P. serratus*. Même la dilution 1/2 000 de l'effluent où le pH initial, égal à 6,1, évolue rapidement jusqu'à un pH très proche de celui de l'eau de mer.

Pour ce qui est de la part relative du fer ou de l'acidité dans l'action de ce type de polluant, on constate qu'une solution ferreuse faiblement acide (22 mg/l de fer et 0,0 044 %

d'acide sulfurique 34 N) est sans effet pendant la première moitié de l'expérimentation ; par la suite, les mortalités importantes, dues à un déficit alimentaire, ne permettent pas une interprétation valable.

		Moyennes	Ecart-types	Nombre de mesures
Témoin		8,1	1,01	17
Montedison	1/5 000	7,8	0,71	16
	1/3 000	7,8	1,02	16
	1/2 000	8,0	1,02	21
Fer 44 g/l	1/5 000	8,0	0,73	14
	1/3 000	8,1	1,03	22
	1/2 000	7,8	1,03	22
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 %	1/5 000	8,0	1,16	12
	1/3 000	8,0	0,99	16
	1/2 000	7,7	1,24	19

Tabl. 7. — Moyennes du nombre de mues, avant la métamorphose, relatives à chaque dilution testée.

Rappelons que dans les deux expériences envisagées nous étions dans le cas d'un rejet unique subissant une neutralisation rapide en eau de mer. Dans les expériences suivantes, nous avons cherché à reproduire un déversement cyclique. Nous avons donc réitéré l'expérience précédente en utilisant les mêmes milieux et les mêmes dilutions, mais en préparant les dilutions, à chaque changement de milieu, toutes les 48 heures.

## 2° Milieux renouvelés. Rejets de type chronique.

### 1. Troisième expérience : effluent Montedison.

#### a) Protocole expérimental.

Les conditions expérimentales restent les mêmes que celles de l'expérience précédente ; nous avons testé les dilutions 1/2 000, 1/3 000 et 1/5 000 de : l'effluent Montedison : 44 g/l de fer et 8,8 % d'acide sulfurique ; la référence acide : 2 % d'acide sulfurique 34 N ; la référence fer : 2 % d'acide sulfurique et 44 g/l de fer.

Comme dans les deux expériences précédentes, les milieux dans lesquels se trouvent les larves de *P. serratus* sont changés tous les deux jours. Toutefois, ce renouvellement est effectué avec des dilutions préparées tous les deux jours, lors des changements de milieu. Ainsi, les larves de *P. serratus* ont été soumises à des variations plus ou moins brusques de pH, suivant les dilutions considérées.

La durée d'expérience a été de 39 jours à la température de 18° C. Nous avons suivi, journellement, l'évolution du pH pendant toute la durée de l'expérimentation (fig. 8).

#### b) Résultats.

##### Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues ont été représentés sous forme d'histogrammes et les pourcentages de mortalités correspondants sous la forme de graphiques, dans la figure 9.

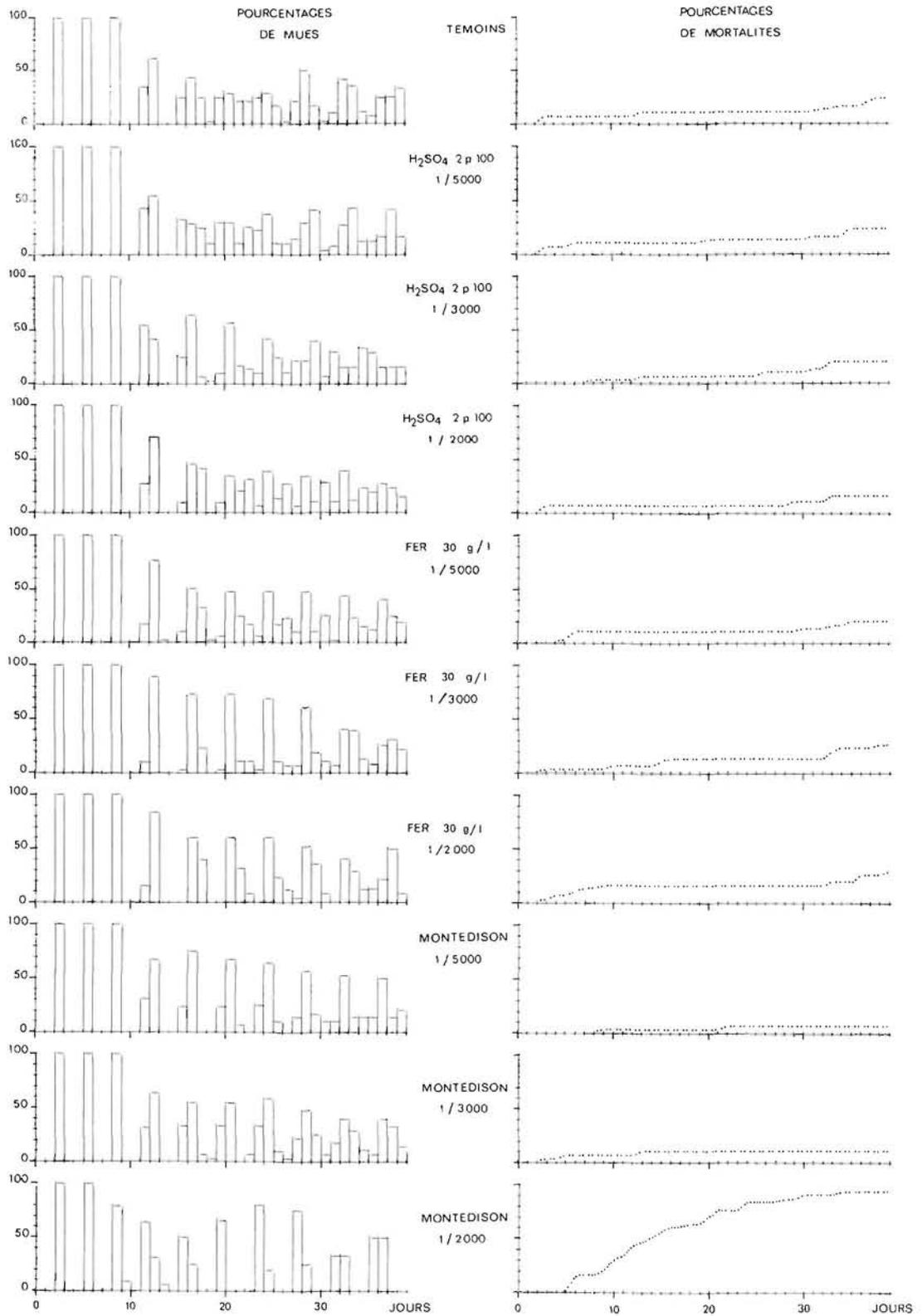


FIG. 9. — Expérience 3: diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent Montedison et de ses solutions de fer et d'acide sulfurique.

Pour les dilutions de l'effluent Montedison, les maximums de mues ne sont pas décalés par rapport à ceux des témoins dans les dilutions 1/5 000 et 1/3 000 ; on constate même une meilleure individualisation des périodes de mues.

En revanche, dans la dilution 1/2 000, les maximums de mues sont bien individualisés du fait de la mortalité très élevée : 50 % dès le 14<sup>e</sup> jour, 80 % au 23<sup>e</sup> jour, 90 % au 34<sup>e</sup> jour.

Ceci implique donc une exagération de l'amplitude des pics de mues par rapport à ceux de la population-témoin.

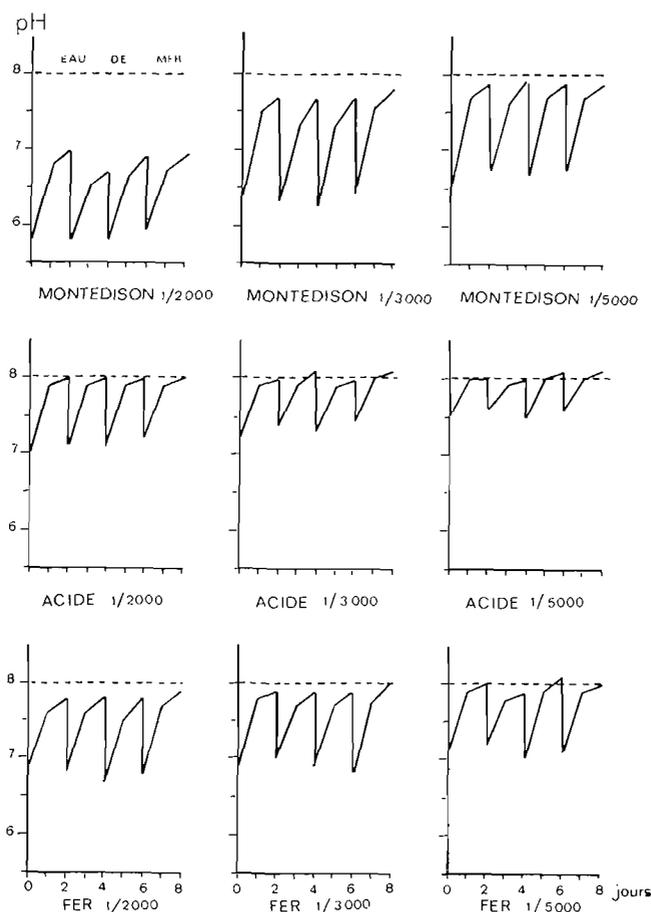


FIG. 8. — Expérience 3 : variations du pH pour les différentes dilutions de l'effluent Montedison et de ses solutions de référence en fer et acide sulfurique.

Les dilutions de la solution de référence fer montrent des maximums de mues bien individualisés, sans aucun décalage et très comparables à ceux enregistrés chez les témoins.

Il est très difficile d'analyser la fréquence des mues, pour les dilutions de la solution d'acide, car les maximums sont peu marqués.

En ce qui concerne les mortalités, exception faite pour la dilution Montedison 1/2 000, elles restent faibles et comparables à celles des témoins.

Nombres cumulés de métamorphoses.

Il y a peu de différence entre le témoin et les dilutions de la solution acide (fig. 10).

En ce qui concerne l'effluent Montedison, on remarque une absence totale d'individus

métamorphosés après 39 jours d'expérience dans la dilution 1/2 000, tandis que les courbes relatives aux deux autres dilutions se rapprochent de la courbe-témoin.

Enfin, dans les trois dilutions de la référence fer, le nombre des métamorphoses est nettement inférieur à celui observé chez les témoins.

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

On ne note aucune différence significative dans le nombre moyen de mues entre les différents lots d'animaux (tabl. 8).

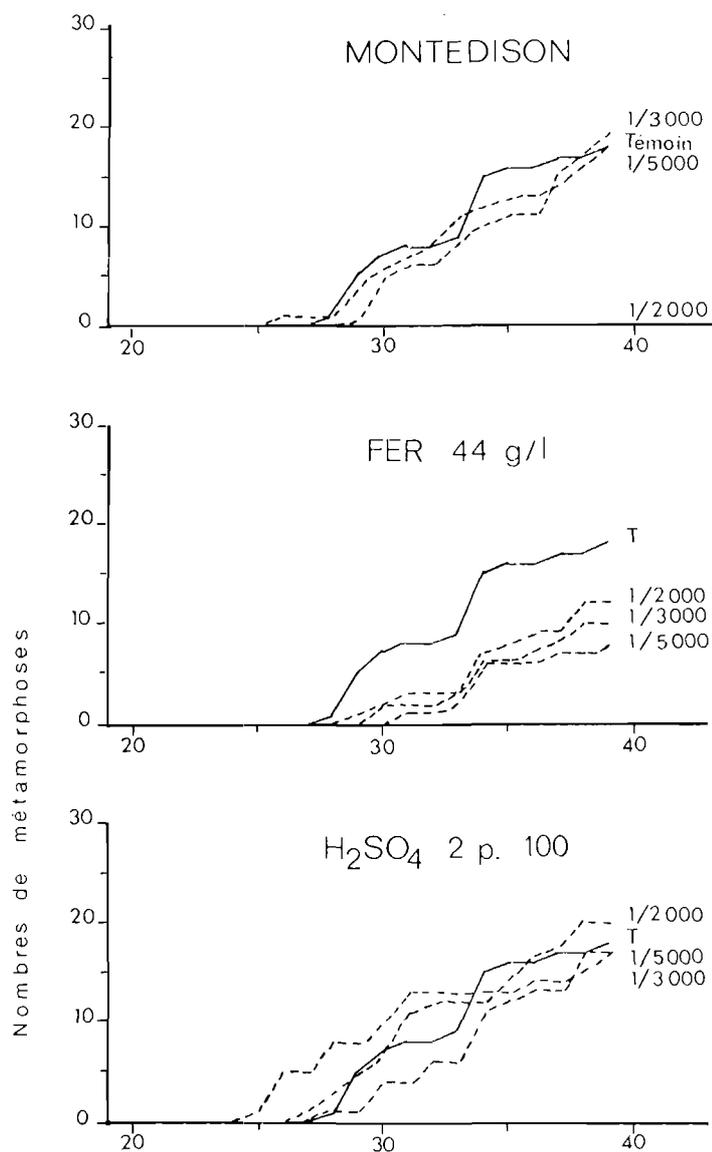


FIG. 10. — Expérience 3: nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

c) Discussion.

La mortalité observée avec la dilution 1/2 000 de l'effluent Montedison semble due à l'acidité seule, car il n'y a pas de mortalité dans la solution correspondante contenant autant de fer, mais peu d'acide (fer 1/2 000) (tabl. 9 et fig. 9).

Si l'on se rapporte aux variations du pH au cours du temps (cf. fig. 8), on note que, pour Montedison 1/2 000 où le pH oscille entre: 5,8 et 7, la mortalité est très élevée, alors que pour une dilution très voisine (1/3 000), dont les variations de pH sont légèrement supérieures, la mortalité est comparable à celle du témoin.

	Moyennes	Ecart-types	Nombre de mesures
Témoin	8,0	1,17	24
Montedison	1/5 000	8,6	1,28
	1/3 000	8,6	1,11
	1/2 000	—	—
Fer 44 g/l	1/5 000	9,2	0,94
	1/3 000	9,0	1,10
	1/2 000	8,7	1,02
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 %	1/5 000	8,2	1,13
	1/3 000	7,9	1,69
	1/2 000	7,9	1,34

TABL. 8. — Moyennes du nombre de mues, avant la métamorphose, pour chaque milieu testé.

	Pourcentages en volumes de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 34 N ajouté à l'eau de mer	Fer (mg/l)
Montedison	1/2 000	0,0044
	1/3 000	0,0029
	1/5 000	0,0017
Fer 44 g/l	1/2 000	0,0010
	1/3 000	0,0006
	1/5 000	0,0004
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2 %	1/2 000	0,0010
	1/3 000	0,0006
	1/5 000	0,0004

TABL. 9. — Pourcentages d'acide sulfurique et teneurs en fer pour les différentes dilutions étudiées.

Il semble donc que le seuil létal d'acidité se situerait très près de pH 6 comme nous l'avons déjà observé lors d'expériences préliminaires de toxicité aiguë.

Notons enfin que les dilutions 1/2 000 des solutions de référence, dont l'acidité théorique est semblable, ont des cinétiques de neutralisation légèrement différentes: la présence de fer produit un abaissement relatif du pH.

**2. Quatrième expérience : effluents Montedison et Thann et Mulhouse.**

L'expérience d'exposition à des rejets cycliques a été reprise avec deux effluents dont la composition a été donnée précédemment (cf. tabl. 1 et 2).

a) Protocole expérimental.

Nous avons conservé les conditions expérimentales de la troisième expérience, avec les dilutions suivantes :

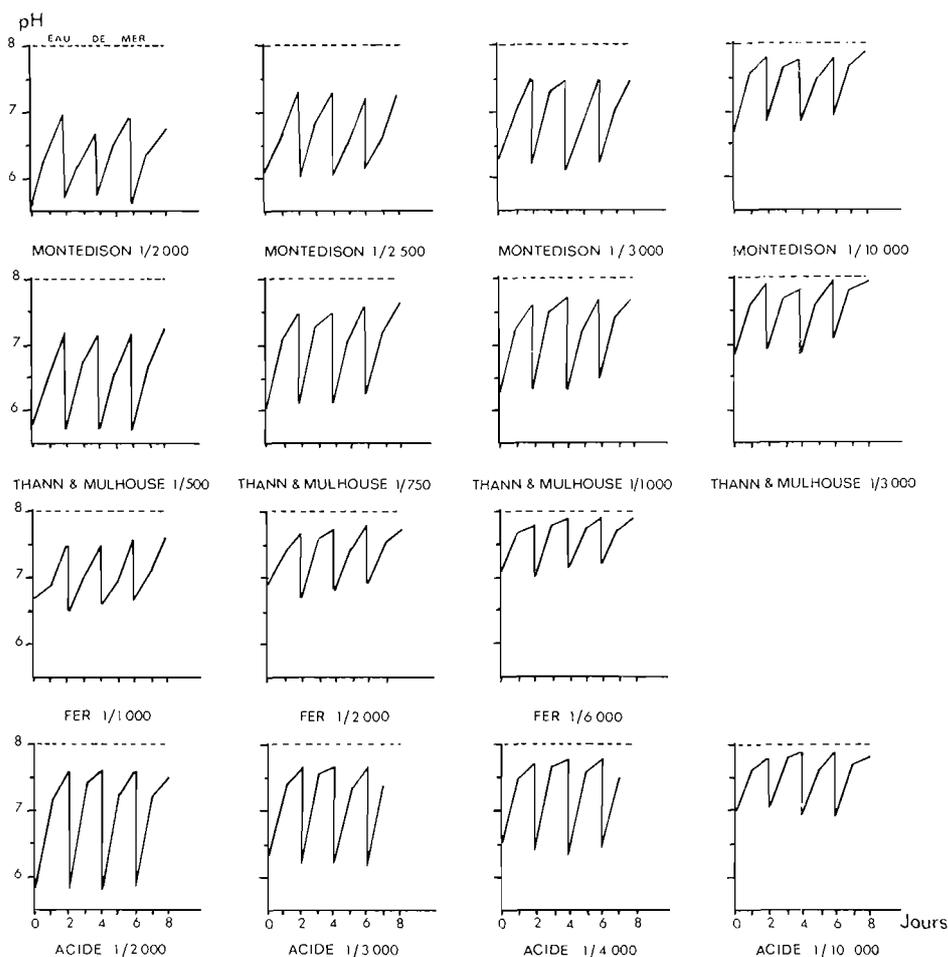


FIG. 11. — Expérience 4 : variations du pH pour les dilutions des effluents Montedison et Thann et Mulhouse et de leurs solutions de référence en fer et acide sulfurique.

Montedison : 1/2 000, 1/2 500, 1/3 000, 1/10 000 ;

Thann et Mulhouse : 1/500, 1/750, 1/1 000, 1/3 000.

Par contre, nous avons modifié la température d'expérimentation (21° C) ainsi que la composition de nos solutions de référence :

8 % d'acide sulfurique 34 N pour la solution acide employée au 1/10 000, 1/4 000, 1/3 000 et 1/2 000 ;

30 g/l de fer dans une solution d'acide sulfurique à 1 % employée au 1/6 000, 1/2 000 et 1/1 000.

Par ailleurs, nous avons doublé le nombre des animaux-témoins. Le pH a été mesuré journalièrement pendant les 42 jours d'expérimentation (fig. 11).

b) Résultats.

Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues et de mortalités sont représentés sous forme d'histogrammes et de graphiques dans la figure 12.

*Les témoins.*

Une mortalité importante s'est manifestée, dans les deux lots d'animaux-témoins, à partir du 10<sup>e</sup> jour d'expérience. Elle a été plus conséquente, et plus étalée dans le temps pour le témoin 1. Ceci illustre la variabilité qui peut exister entre deux lots d'individus d'une même génération élevés dans des conditions identiques.

Quant aux maximums de mues, ils sont moins accentués, en fin d'expérience, dans le lot-témoin 2.

*L'effluent Montedison.*

Dès le 10<sup>e</sup> jour, il y a 100 % de mortalité dans la dilution 1/2 000 ; avec les trois autres dilutions, les mortalités sont importantes et presque comparables à celles des témoins. D'ores et déjà nous remarquons que la mortalité enregistrée dans cette expérience est nettement supérieure à celle rencontrée avec des dilutions identiques, lors d'expérimentation précédente. Des différences d'état physiologique d'une éclosion à une autre d'une part, la température d'expérimentation plus élevée d'autre part, pourraient en être la cause.

*L'effluent Thann et Mulhouse.*

On ne remarque pas de différence dans la fréquence des mues par rapport aux témoins.

Les mortalités enregistrées sont inférieures à celles des témoins dans les dilutions 1/750 et 1/1 000 ; elles sont supérieures au 1/500 et au 1/3 000.

*La solution d'acide sulfurique à 8 %.*

Les mortalités enregistrées restent faibles avec les dilutions 1/3 000 et 1/4 000 et sont un peu plus importantes avec les deux autres ; dans tous les cas elles demeurent inférieures à celles constatées pour les larves-témoins. La fréquence des mues reste très voisine de celle des témoins.

*La solution à 30 g/l de fer.*

Les mortalités sont beaucoup plus faibles que celles des témoins dans les dilutions 1/1 000 et 1/2 000 ; dans la dilution 1/6 000 elles sont plus élevées mais restent toutefois inférieures à celles des témoins. Les fréquences des mues restent comparables à celles des témoins, cependant, avec la dilution 1/1 000, on assiste à un nivellement des maximums de mues, dès le passage au 6<sup>e</sup> stade.

Nombres cumulés de métamorphoses.

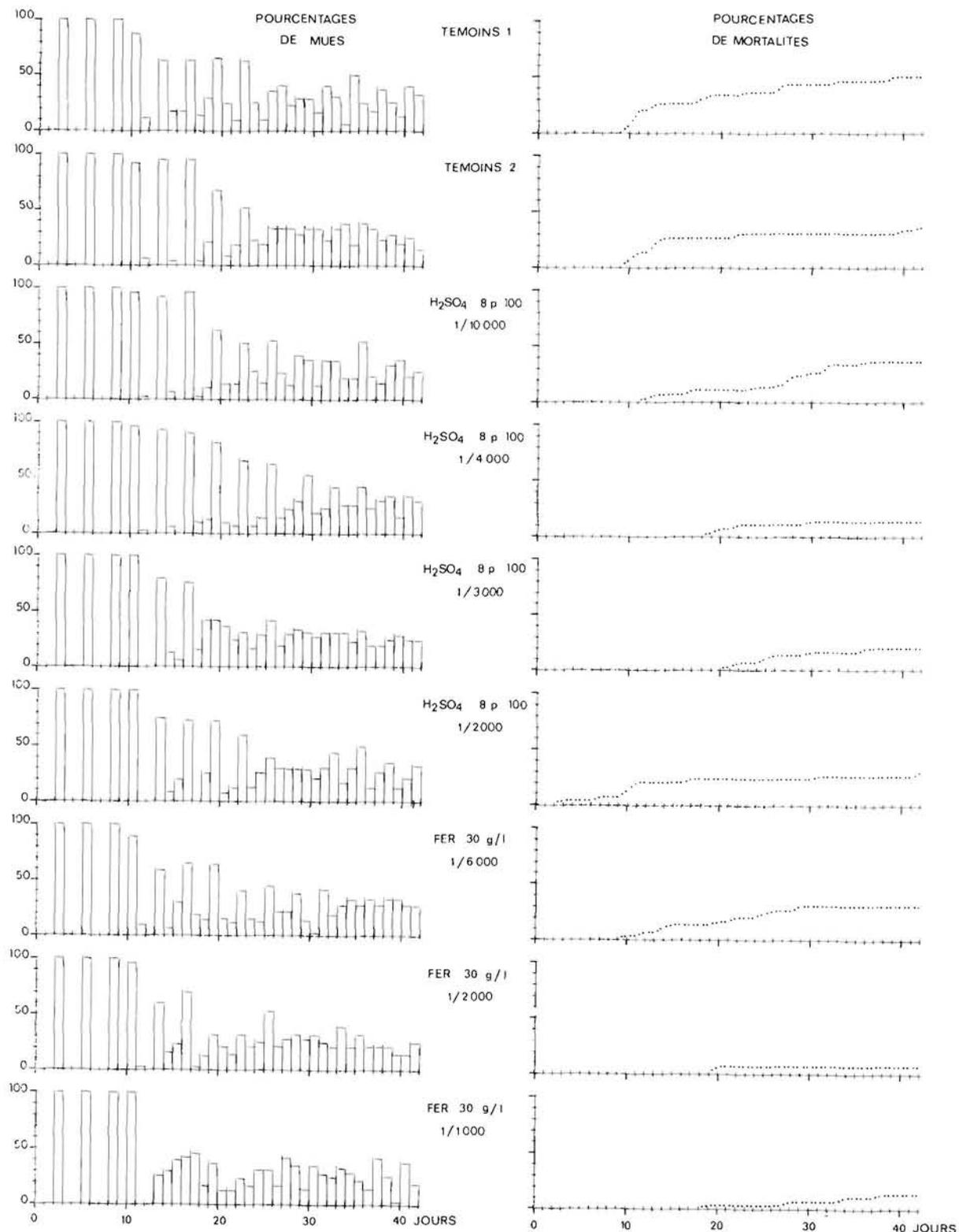
Nous retrouvons ici, comme précédemment, des résultats supérieurs à ceux des témoins (fig. 13). Ainsi, toutes les dilutions des solutions d'acide et de fer montrent plus de métamorphoses que les témoins : il en est de même avec les dilutions 1/2 500 et 1/10 000 de Montedison et 1/750 et 1/1 000 de Thann et Mulhouse.

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

On ne note pas de très grandes différences dans les nombres moyens de mues avant métamorphose, exception faite pour la dilution fer 1/2 000 (tabl. 10). Toutefois, la dispersion des valeurs, reflétée par l'importance des écarts-types, ôte toute signification au résultat.

Néanmoins, on peut remarquer que le nombre des mues a été ici systématiquement plus élevé que dans les précédentes expériences.

Les observations effectuées en cours d'expérimentation révélaient d'ailleurs des stades intermédiaires avant la métamorphose complète : transformation progressive de la morphologie thoracique, des antennes et des périopodes avec persistance des appendices natatoires caractéristiques des stades planctoniques.



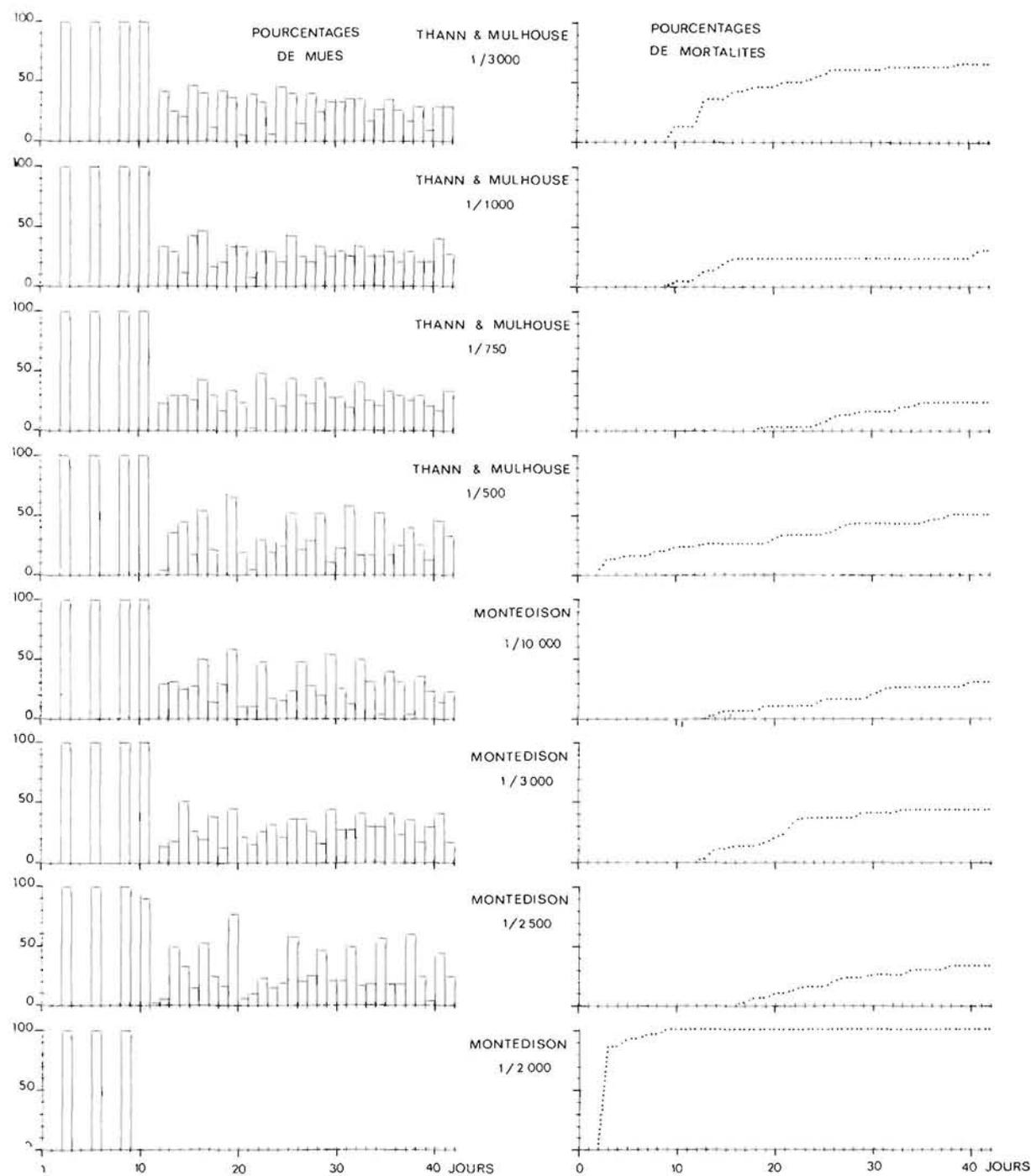


FIG. 12. — Expérience 4: diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions des effluents Montedison et Thann et Mulhouse et de ses solutions de fer et d'acide sulfurique.

		Moyennes	Ecart-types	Nombre de mesures
Témoin 1		10,6	2,24	16
Témoin 2		10,5	2,54	21
Montedison	1/10 000	8,5	1,90	24
	1/ 3 000	10,3	2,97	17
	1/ 2 500	9,8	2,64	22
	1/ 2 000	—	—	—
Thann et Mulhouse	1/ 3 000	10,2	2,20	10
	1/ 1 000	9,3	1,79	23
	1/ 750	9,5	2,41	24
	1/ 500	10,4	2,09	16
Fer 30 g/l	1/ 6 000	10,3	2,01	21
	1/ 2 000	7,6	1,56	28
	1/ 1 000	9,3	2,36	28
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 %	1/10 000	9,8	2,05	23
	1/ 4 000	9,9	1,95	27
	1/ 3 000	8,5	1,82	25
	1/ 2 000	9,5	2,31	23

TABLE. 10. — Moyennes du nombre de mues avant la métamorphose, pour chaque milieu testé.

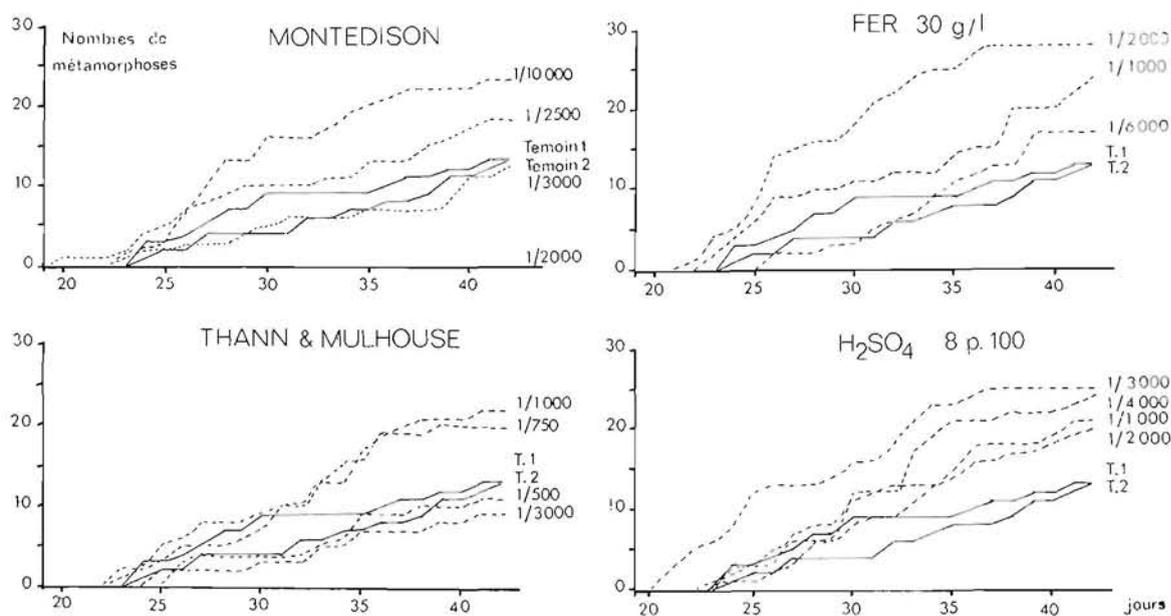


FIG. 13. — Expérience 4 : nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

c) Discussion.

Il apparaît nettement que les mortalités enregistrées chez les animaux sont importantes et masquent les effets dus aux différentes dilutions étudiées. De même, les mortalités constatées dans la dilution 1/3 000 de Thann et Mulhouse peuvent difficilement être expliquées.

Le rôle prépondérant de l'acidité, mis en relief dans l'expérience 3, apparaît également ici. En effet, dans les essais relatifs aux solutions Fer 1/1 000 et Montedison 1/2 000, la mortalité est infime dans la première qui est riche en fer, mais peu acide, beaucoup plus forte dans la deuxième presque aussi riche en fer, mais plus acide (tabl. 11).

		Pourcentages en volume de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 34 N ajouté à l'eau de mer	Fer (mg/l)
Montedison	1/ 2 000	0,0 044	22,0
	1/ 2 500	0,0 035	17,6
	1/ 3 000	0,0 029	14,6
	1/10 000	0,0 008	4,4
Thann et Mulhouse	1/ 500	0,0 042	25,0
	1/ 750	0,0 028	16,6
	1/ 1 000	0,0 021	12,5
	1/ 3 000	0,0 007	4,1
Fer 30 g/l	1/ 1 000	0,0 010	30,0
	1/ 2 000	0,0 005	15,0
	1/ 6 000	0,0 001	5,0
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 %	1/ 2 000	0,0 040	0
	1/ 3 000	0,0 026	0
	1/ 4 000	0,0 020	0
	1/10 000	0,0 008	0

TABLE. 11. — Pourcentages d'acide sulfurique et teneurs en fer pour les différentes dilutions étudiées.

La comparaison des mortalités constatées pour une même acidité fait apparaître une mortalité importante dans Montedison 1/2 000 par rapport à H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1/2 000, ce qui laisserait supposer un effet néfaste du fer, mais en fait elle peut s'expliquer par une différence dans la vitesse de neutralisation (cf. fig. 11). Dans le cas de la dilution de l'effluent Montedison, la présence de fer contribue à abaisser davantage le pH du milieu. De même, la mortalité moyenne notée pour Thann et Mulhouse 1/500, dont la teneur en fer et l'acidité sont très proches de celles de Montedison 1/2 000, peut s'expliquer par une plus rapide neutralisation de l'acidité du milieu.

Enfin un dernier argument est fourni par la comparaison des deux dilutions Thann et Mulhouse 1/750 et H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1/3 000 qui présentent des acidités et des vitesses de neutralisation analogues, mais des teneurs en fer très différentes (0 et 16,6 mg/l) ; malgré cela les pourcentages de mortalités restent faibles et identiques.

Ainsi apparaît-il que le rôle prépondérant, dans les effets nocifs constatés, est joué par l'acidité du milieu et la vitesse de neutralisation de ce dernier. Quoi qu'il en soit, il ne faut pas perdre de vue que, dans certaines conditions de pH, le fer présent peut agir en retardant cette neutralisation et, par conséquent, accroître la nocivité du milieu.

### 3. Cinquième expérience : effluent Tioxide.

Nous avons retenu les conditions d'exposition à des rejets cycliques de dilutions de l'effluent dont la composition a été donnée précédemment (tabl. 1 et 2).

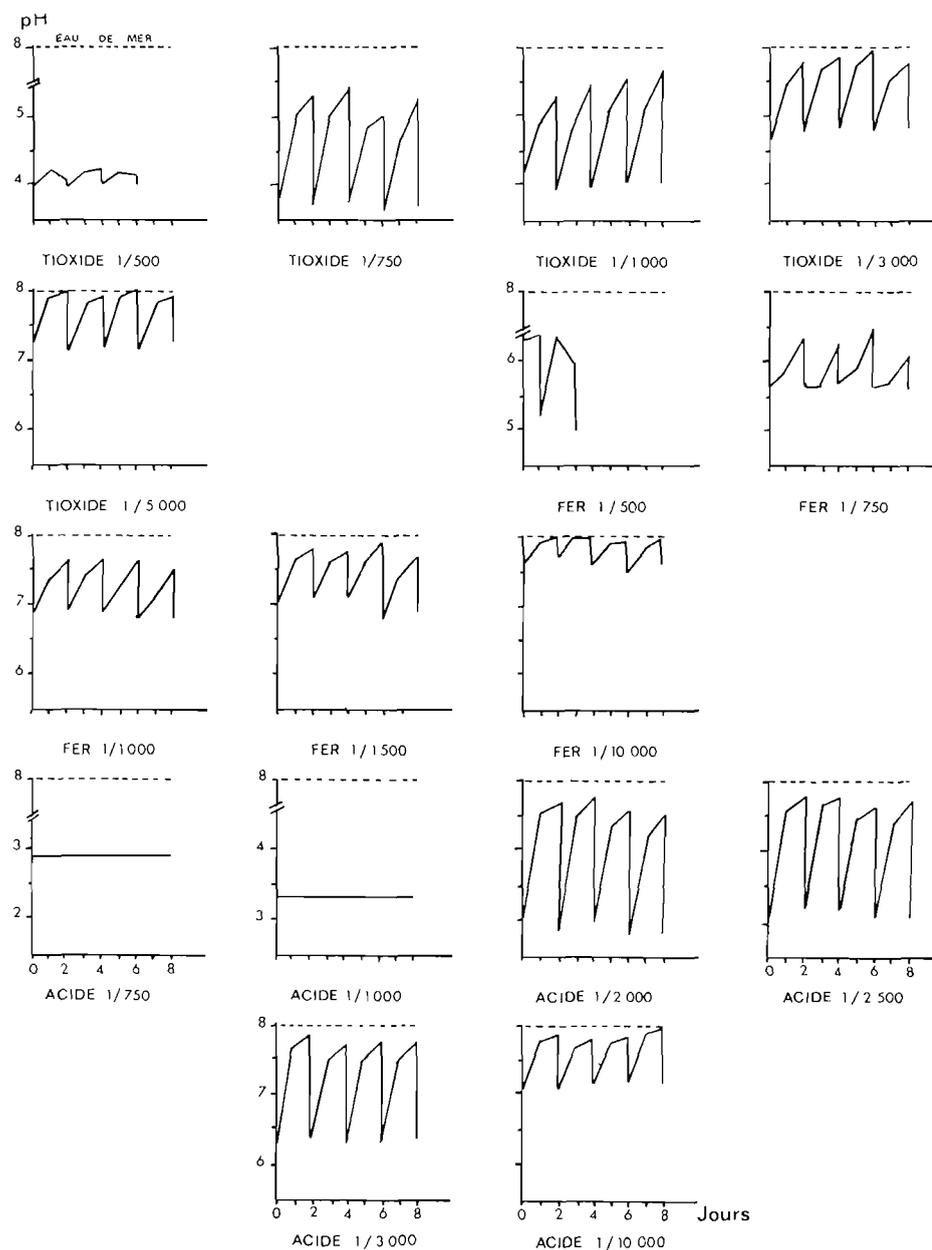


FIG. 14. — Expérience 5: variations du pH pour les dilutions de l'effluent Tioxide et de ses solutions de référence en fer et acide sulfurique.

#### a) Protocole expérimental.

Nous avons conservé les mêmes conditions que dans l'expérience précédente, c'est-à-dire celles d'un changement cyclique, mais la température a été fixée à 18° C.

Nous avons testé les dilutions :

1/500, 1/750, 1/1 000, 1/3 000, 1/5 000 de Tioxyde ;

1/750, 1/1 000, 1/2 000, 1/2 500, 1/3 000 et 1/10 000 d'une solution à 8 % d'acide sulfurique 34 N ;

1/500, 1/750, 1/1 000, 1/1 500, 1/10 000 d'une solution de sulfate ferreux à 30 grammes par litre faiblement acide (1 % de  $H_2SO_4$ ).

L'évolution des valeurs du pH a été enregistrée pendant les 60 jours d'expérimentation (fig. 14).

#### b) Résultats.

Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues et de mortalités sont représentés respectivement sous la forme d'histogrammes et de graphiques dans la fig. 15.

*Les témoins.*

Les mortalités sont comparables et restent faibles dans les deux séries : 10 à 20 % au 45<sup>e</sup> jour où un accident de manipulation a mis un terme à leur existence.

*L'effluent Tioxyde.*

La dilution 1/500 provoque la mortalité de tous les individus en 48 heures sans qu'il y ait mue en stade 2. Au 1/750, la mortalité est totale au 11<sup>e</sup> jour, après obtention du stade 3.

Les maximums de mues sont concomitants dans les témoins et dans les dilutions 1/5 000, 1/3 000 et 1/1 000 jusqu'au stade 5. Par la suite, l'individualisation des pics est de plus en plus mauvaise lorsque la concentration augmente. La mortalité est comparable à celle des témoins, excepté pour les dilutions 1/1 000 et, nous l'avons vu, 1/750 et 1/500.

*La solution de fer à 30 g/l.*

La mortalité augmente régulièrement avec la concentration, mais il semble que les variations d'acidité dues à la précipitation de l'hydroxyde ferrique interfèrent notablement. Un suivi, heure par heure, de l'acidité relative des différentes dilutions, a été réalisé ; nous constatons une diminution brève de pH dont la durée s'accroît lorsque le pourcentage d'acide initial augmente (fig. 16). En effet les enregistrements de pH, dans la solution au 1/500, varient entre 5 et 6,3, et la mortalité est totale dès le 4<sup>e</sup> jour. De plus, aucune larve n'a mué en stade 2. En revanche, les variations dans la solution au 1/750 ne font pas apparaître de valeurs réellement basses de pH et la neutralisation (7 - 7,5) par l'eau de mer a lieu rapidement. Ce phénomène peut expliquer, en partie, les taux de mortalité très élevés au 1/750 et notables au 1/1 000 et 1/1 500.

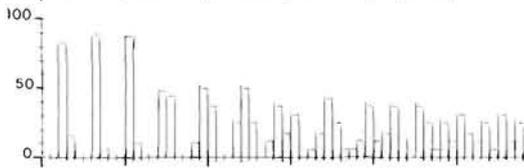
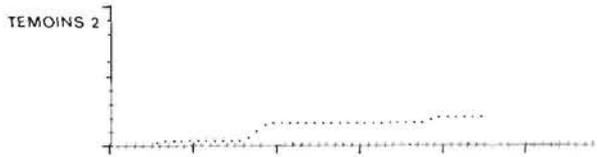
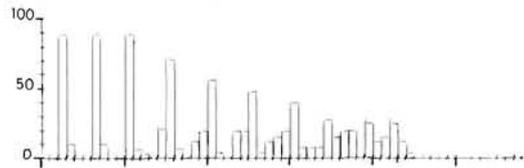
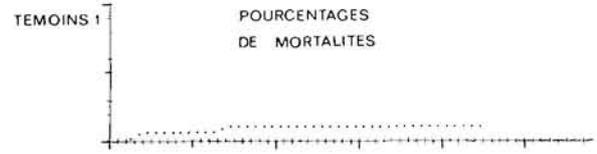
Les maximums de fréquence de mues sont bien individualisés ; pour la dilution 1/750, la mortalité importante rend peu interprétable les fréquences de mues observées.

*La solution d'acide sulfurique à 8 %.*

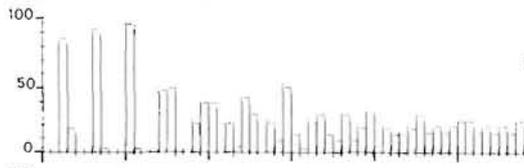
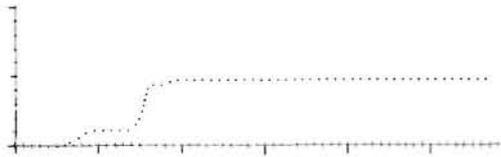
En dehors de la mortalité accidentelle survenue le 16<sup>e</sup> jour au 1/10 000, les taux observés sont croissants avec l'augmentation d'acidité : dans la dilution 1/3 000, la mortalité ne dépasse pas 30 %, mais aux 1/2 500 et 1/2 000, elle atteint 50 % entre le 30<sup>e</sup> et le 40<sup>e</sup> jour de développement, les variations de pH étant respectivement de 6,2 à 7,8 et de 5,8 à 7,5. Dans les dilutions 1/1 000 et 1/750 (pH 3,3 et 2,9), la mortalité est totale en deux jours, sans qu'il y ait mue en stade 2.

Nombres cumulés de métamorphoses.

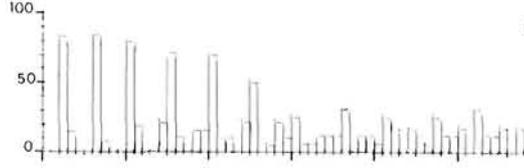
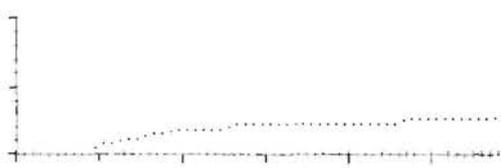
Ces résultats sont représentés dans la figure 17. Le nombre de métamorphoses diminue dans le cas de l'effluent Tioxyde lorsque la concentration augmente ; il devient nul dans la dilution 1/750. Il en est de même avec le Fer à 30 g/l ; il y a également absence de métamorphose dans la dilution 1/750.



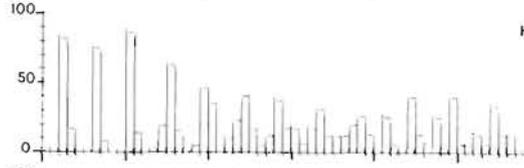
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 p 100  
1/10000



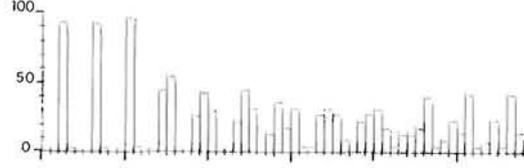
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 p 100  
1/3000



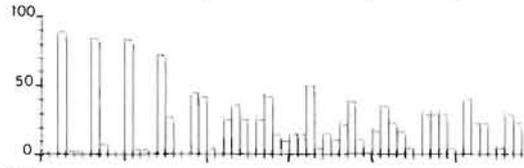
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 p 100  
1/2500



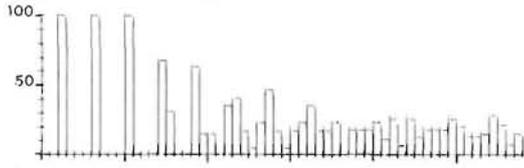
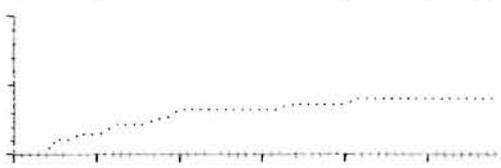
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 p 100  
1/2000



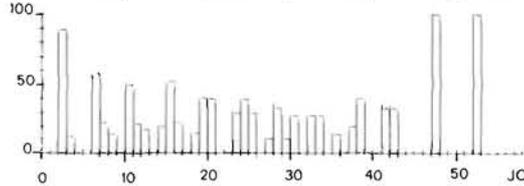
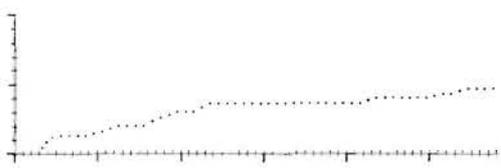
FER 30 g/l  
1/10000



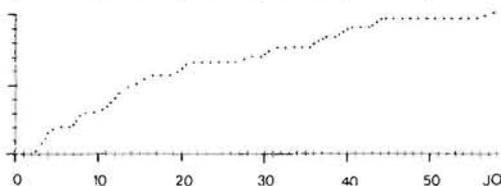
FER 30 g/l  
1/1500



FER 30 g/l  
1/1000



FER 30 g/l  
1/750



0 10 20 30 40 50 JOURS

0 10 20 30 40 50 JOURS

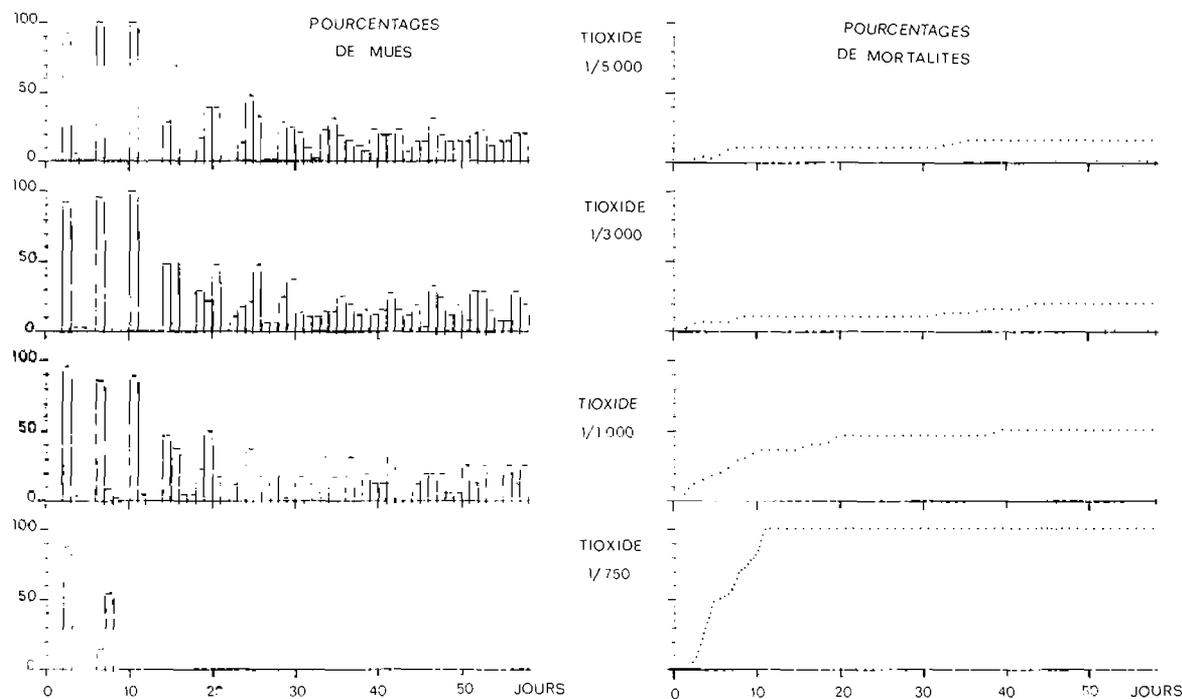


FIG. 15. — Expérience 5 : diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent Tioxide et de solutions de fer et d'acide sulfurique.

Enfin, avec la solution d'acide aux 1/2 500 et 1/2 000 (pH de départ : 6,2 et 5,9), le nombre de métamorphoses diminue très nettement.

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

Les résultats sont exprimés dans le tableau 12.

Quelle que soit la solution testée, le nombre moyen de mues augmente avec la concentration. Ce résultat est particulièrement net dans le cas de la solution de sulfate ferreux à 30 g/l. De même l'écart-type est généralement croissant en fonction de la concentration.

Cette augmentation du nombre de mues larvaires confirme une désorganisation physiologique des populations en fonction des concentrations.

### c) Discussion.

Ces résultats sont tout à fait semblables à ceux obtenus avec les effluents de Thann et Mulhouse ou de Montedison. Les taux de mortalité sont presque superposables dans les dilutions 1/1 000 de Tioxide et 1/2 000 de la solution acide dont les variations de pH en trois jours sont très voisines. Dans ces solutions, la teneur en sulfate ferreux est très faible (tabl. 13) et le pH évolue rapidement vers des valeurs proches de celui de l'eau de mer.

En revanche, la mortalité totale obtenue dans la dilution au 1/750 de Tioxide en onze jours ne peut être due qu'à l'acidité (pH 5,5 au temps 0), la concentration en fer étant faible : 5,8 ppm, en regard de 40 ppm dans la dilution au 1/750 de la solution de sel de fer.

Notons que le fer n'est pas toxique en tant qu'élément. Il n'est pas certain non plus que le bref abaissement de pH noté dans la figure 16 soit le seul élément sur lequel on puisse tabler. Cependant, on peut remarquer que, à long terme, des concentrations un peu élevées en

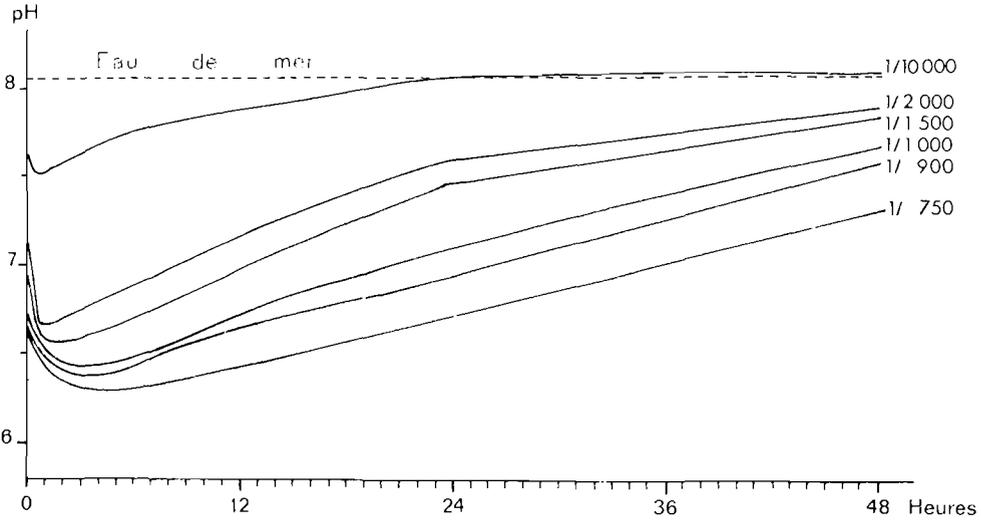


FIG. 16. — Evolution du pH des différentes dilutions de la solution de sulfate ferreux.

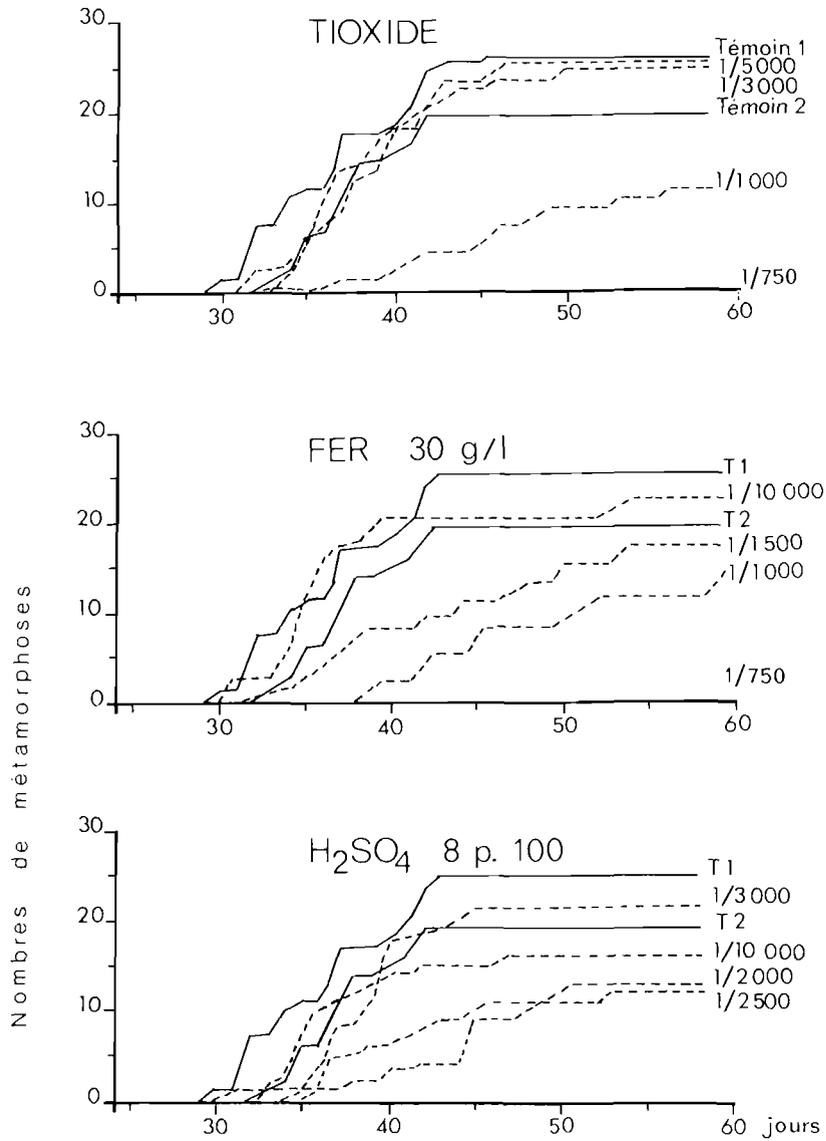


FIG. 17. — Expérience 5: nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

fer influent sur le nombre de métamorphoses ainsi que sur le nombre de mues préalables à la métamorphose (cf. fig. 17 et tabl. 12).

	Moyennes	Ecart-types	Nombre de mesures
Témoin 1	7,2	1,03	27
Témoin 2	7,4	0,93	22
Tioxide	1/ 1 000	9,0	1,18
	1/ 3 000	7,4	0,86
	1/ 5 000	7,5	0,75
Fer 30 g/l	1/ 1 000	9,6	1,54
	1/ 1 500	3,5	1,33
	1/10 000	7,4	1,11
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 %	1/ 2 000	8,7	0,95
	1/ 2 500	7,8	0,98
	1/ 3 000	7,6	0,72
	1/10 000	7,3	0,68

TABLE. 12. — Moyennes du nombre de mues avant la métamorphose, pour Tioxide et les solutions d'acide et de sulfate ferreux.

#### 4. Sixième expérience : effluent Tioxide.

##### a) Protocole expérimental.

Les conditions adoptées sont les mêmes que précédemment, les dilutions testées étant cette fois plus nombreuses et resserrées de façon à mieux cerner les limites des effets enregistrés.

Nous avons expérimenté sur les dilutions :

1/800, 1/900, 1/1 000, 1/1 200, 1/1 500, 1/3 000, 1/5 000 de l'effluent Tioxide ;

1/1 600, 1/1 800, 1/2 500, 1/3 000, 1/10 000 de la solution acide à 8 % ;

1/900, 1/1 000, 1/1 500, 1/2 000, 1/10 000 de la solution de fer à 30 g/l (1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Les concentrations en fer et en acide ont été données dans le tableau 13 et l'évolution des valeurs du pH a été enregistrée pendant les 60 jours d'expérimentation (fig. 18).

##### b) Résultats.

Mues et mortalités.

Les pourcentages de mues et de mortalités sont représentés respectivement sous la forme d'histogrammes et de graphiques dans la figure 19.

*Les témoins.*

Les mortalités restent faibles et comparables dans les deux lots.

*L'effluent Tioxide.*

Les mues successives et la mortalité sont comparables aux témoins pour toutes les dilutions supérieures à 1/900. La mortalité est plus forte dans les dilutions 1/900 (50 % le 23<sup>e</sup> jour) et 1/800 (50 % le 11<sup>e</sup> jour, 100 % en 41 jours) en raison de l'acidité (pH respectivement de 5,8 à 7,5 et de 5,7 à 7,4).

De même que dans les expériences précédentes, les maximums de mues élevés observés au 1/800 ne sont dus qu'à la mortalité importante obtenue.

*La solution de fer à 30 g/l.*

Les stades larvaires restent individualisés dans l'ensemble jusqu'au stade 9 et les maximums à chaque stade coïncident avec ceux des témoins.

La mortalité croît avec la concentration des solutions : elle est pratiquement nulle dans la dilution 1/10 000 et elle atteint 50 % en 25 jours dans celle au 1/900. Remarquons, pour cette

	Pourcentages en volume de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 34 N ajouté à l'eau de mer	Fer (mg/l)	
Tioxide	1/ 500	0,0 114	9,40
	1/ 750	0,0 076	6,26
	1/ 800	0,0 071	5,87
	1/ 900	0,0 063	5,22
	1/ 1 000	0,0 057	4,70
	1/ 1 200	0,0 047	3,91
	1/ 1 500	0,0 038	3,13
	1/ 3 000	0,0 019	1,56
	1/ 5 000	0,0 011	0,94
Fer 30 g/l	1/ 500	0,0 020	60
	1/ 750	0,0 013	40
	1/ 900	0,0 011	33,3
	1/ 1 000	0,0 010	30
	1/ 1 500	0,0 006	20
	1/ 2 000	0,0 005	15
	1/10 000	0,0 001	3
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 %	1/ 1 600	0,0 050	0
	1/ 1 800	0,0 044	0
	1/ 2 000	0,0 040	0
	1/ 2 500	0,0 032	0
	1/ 3 000	0,0 026	0
	1/10 000	0,0 008	0

TABLE. 13. — Pourcentages d'acide sulfurique et teneurs en fer pour les dilutions étudiées dans la 5<sup>e</sup> et la 6<sup>e</sup> expériences.

dernière, que le pH est resté entre 6,6 et 7,7, mais que la concentration en fer est élevée (33,3 mg/l) et intervient vraisemblablement.

*La solution d'acide à 8 %.*

Les maximums de mues sont synchrones avec ceux des témoins. La mortalité augmente graduellement avec la concentration de la solution ; du 1/1 600 au 1/2 500, elle dépasse celle des témoins.

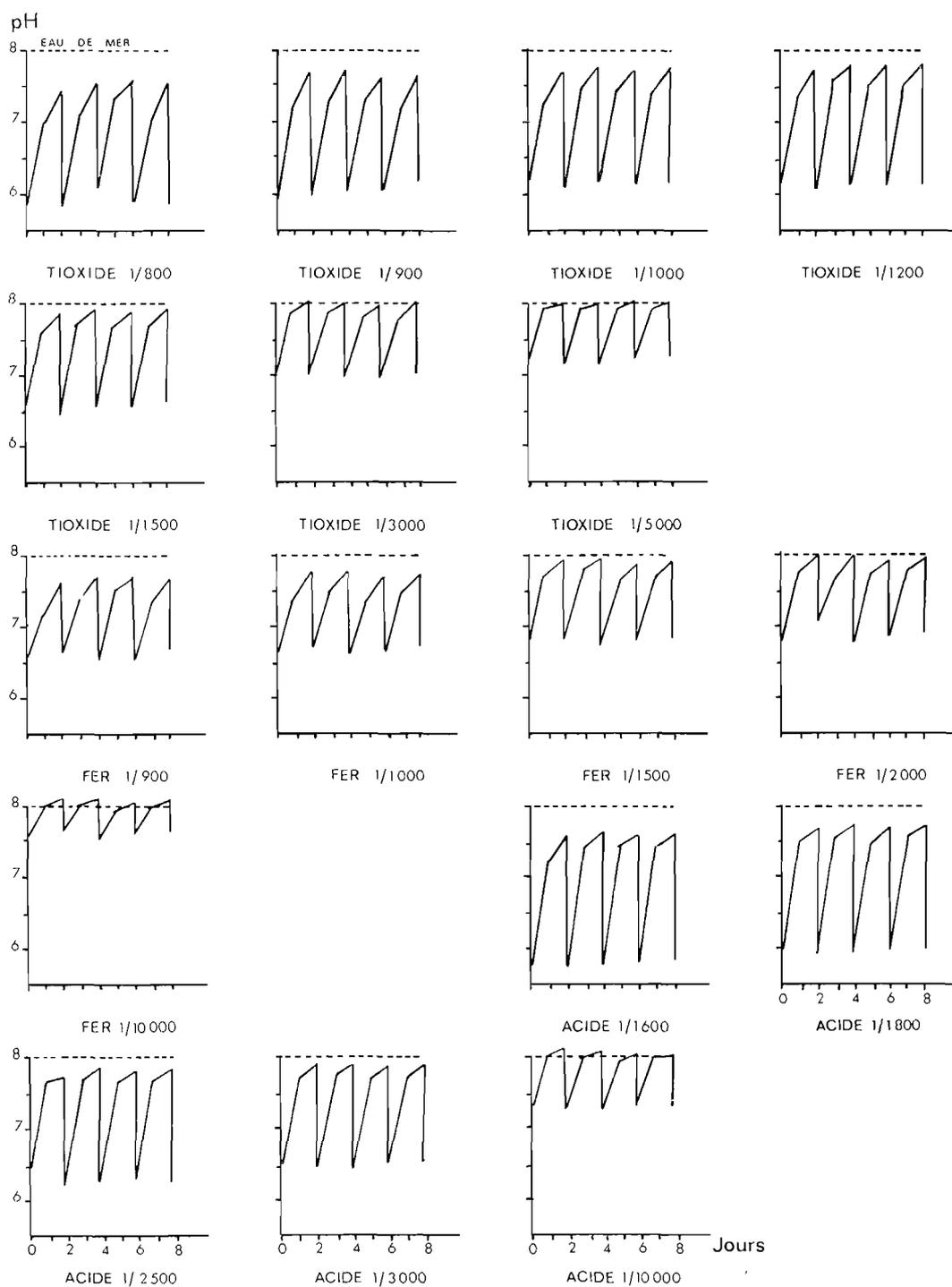
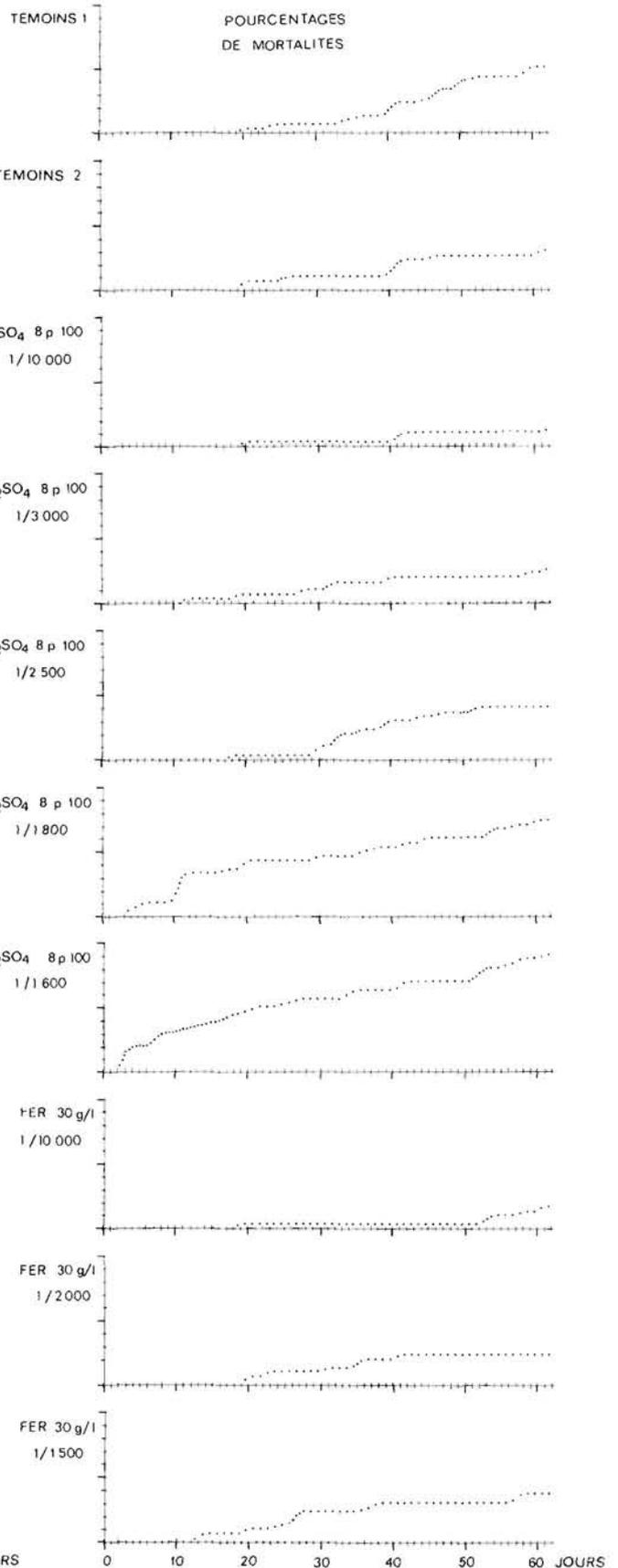
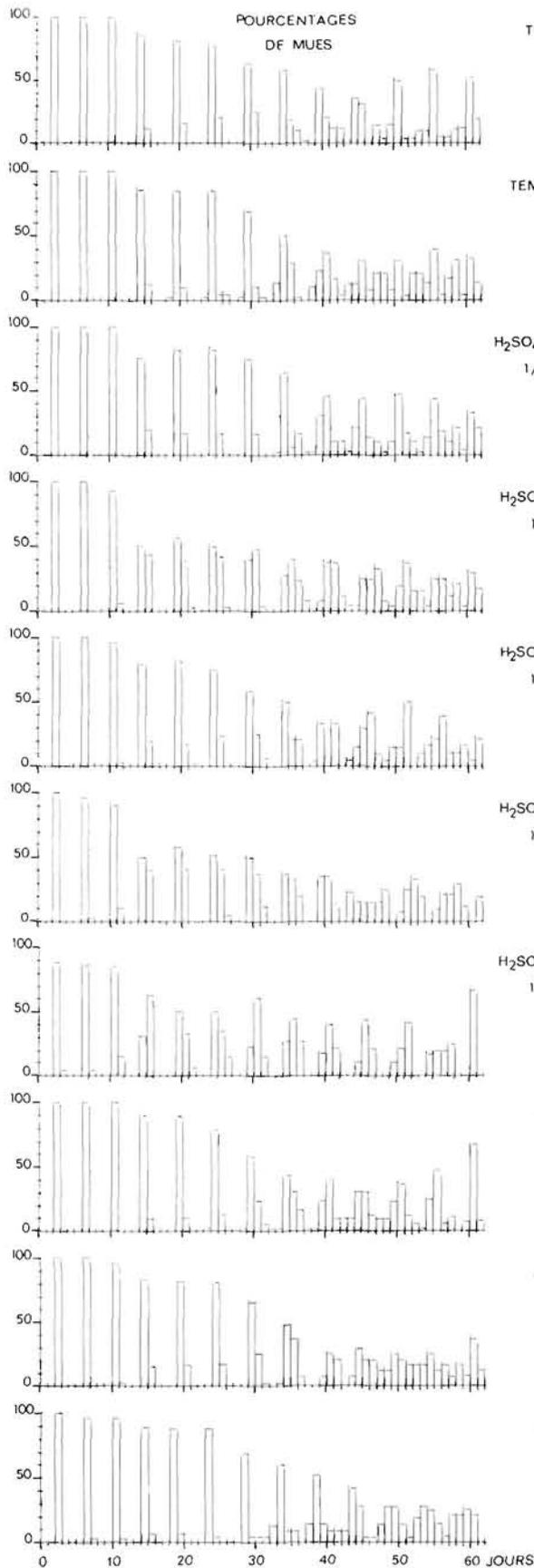


FIG. 18. — Expérience 6: variations du pH pour les dilutions de l'effluent Tioxide et de ses solutions de référence en fer et acide sulfurique.



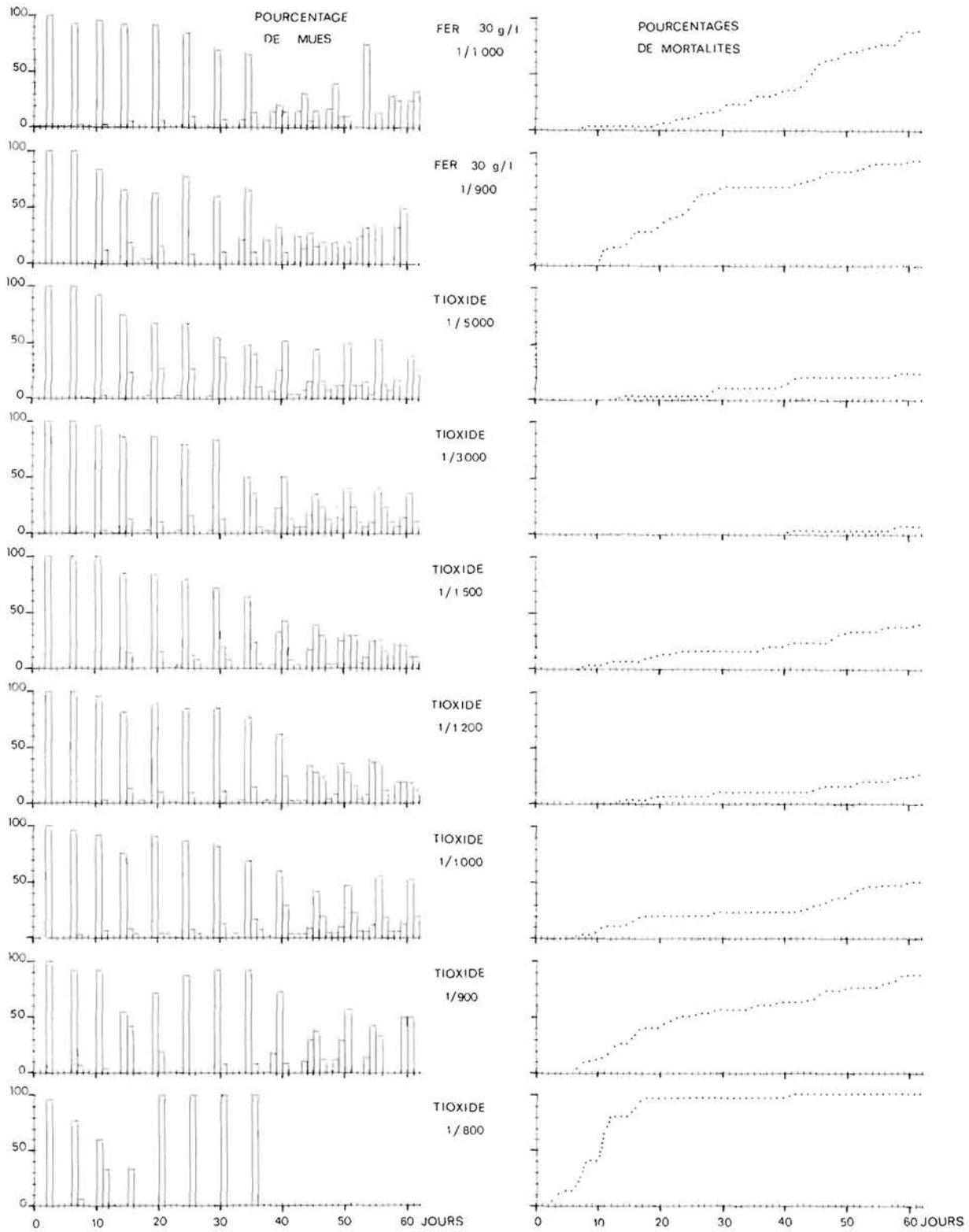


FIG. 19. — Expérience 6 : diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent TioXide et de solutions de fer et d'acide sulfurique.

La mortalité atteint 50 % au 36<sup>e</sup> jour avec la dilution 1/1 800 et au 21<sup>e</sup> jour avec le 1/1 600, soit pour des variations cycliques de pH respectivement de 5,8 à 7,7 et de 5,5 à 7,5.

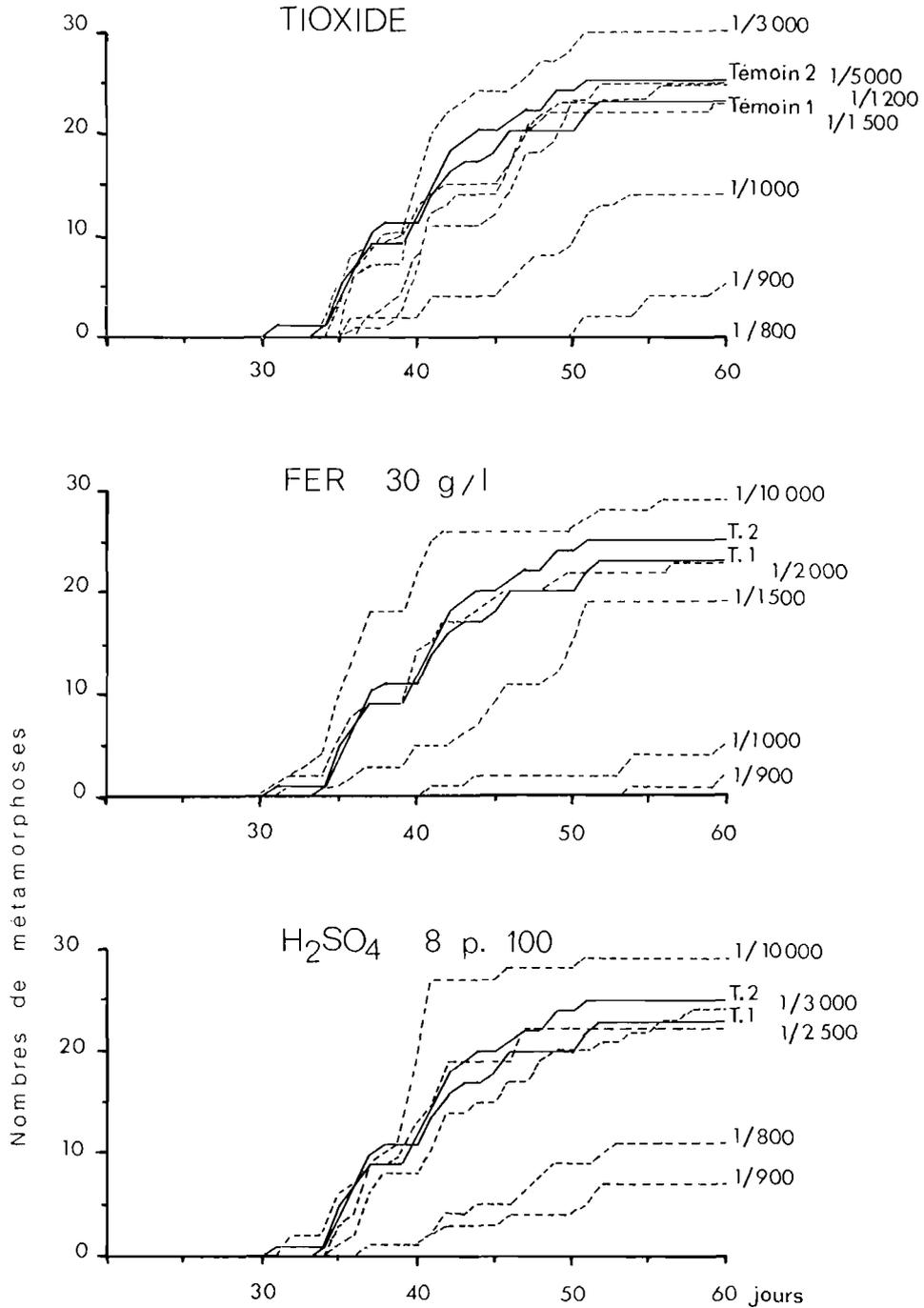


FIG. 20. — Expérience 6 : nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

Nombres cumulés de métamorphoses.

Comme dans l'expérience 5, le nombre de métamorphoses diminue graduellement lorsque la

concentration de l'effluent Tioxide augmente (fig. 20). Dans les dilutions échelonnées de 1/1 200 à 1/900, les métamorphoses ont lieu de plus en plus tard, tandis qu'au 1/800 on ne constate aucune métamorphose.

De la même façon, le retard dans l'apparition des métamorphoses est de plus en plus marqué dans les dilutions 1/1 500 à 1/900 de la solution de sulfate ferreux.

Dans la solution acide, le nombre des métamorphoses diminue notablement en fonction de la concentration, mais l'apparition des premières métamorphoses est à peu près synchrones.

	Nombres moyens de mues	Ecart-type	Nombre de mesures
Témoin 1	7,81	1,19	22
Témoin 2	7,84	0,86	26
Tioxide	1/ 900	10,85	1,55
	1/ 1 000	9,46	1,54
	1/ 1 200	8,62	1,03
	1/ 1 500	8,45	0,98
	1/ 3 000	7,96	0,91
	1/ 5 000	8,16	1,00
Fer 30 g/l	1/ 900	11,00	0,81
	1/ 1 000	11,00	2,87
	1/ 1 500	9,35	2,35
	1/ 2 000	7,78	1,14
	1/10 000	7,44	1,06
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 %	1/ 1 600	9,00	1,41
	1/ 1 800	8,72	0,96
	1/ 2 500	7,59	0,83
	1/ 3 000	8,25	1,19
	1/10 000	7,62	0,80

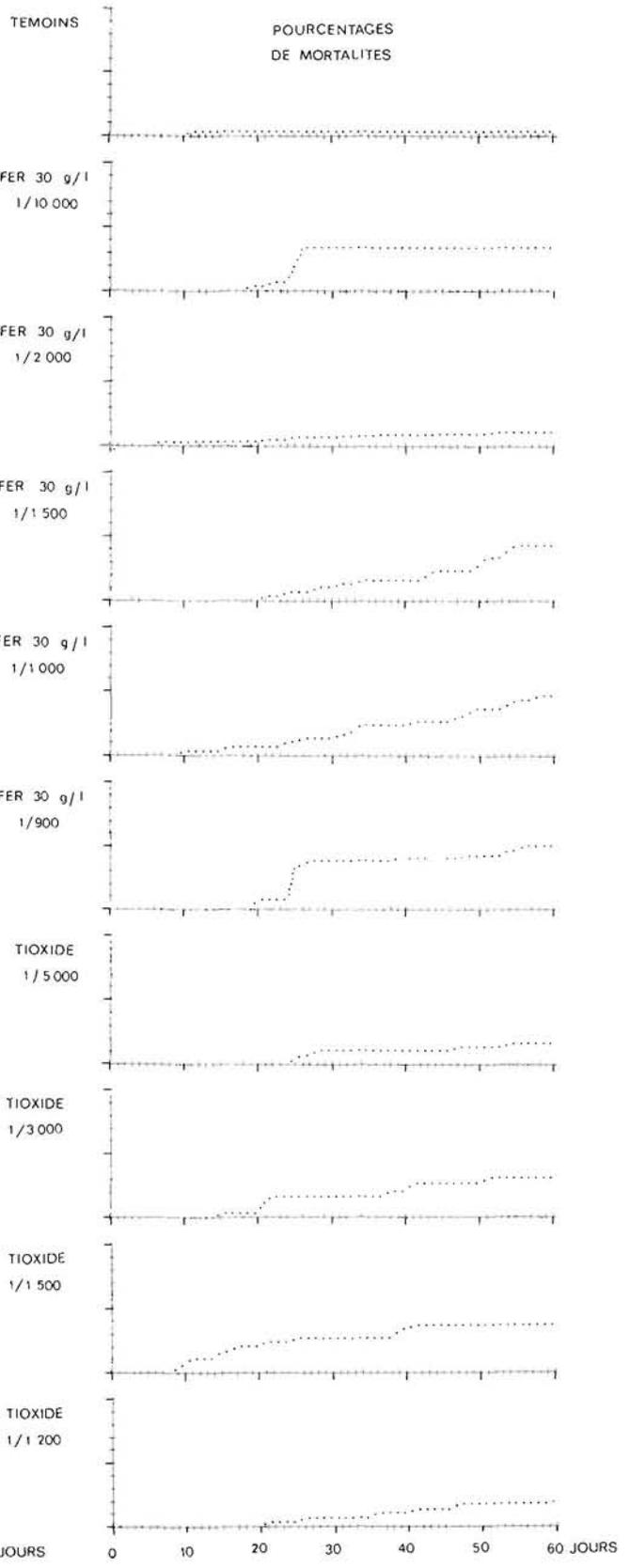
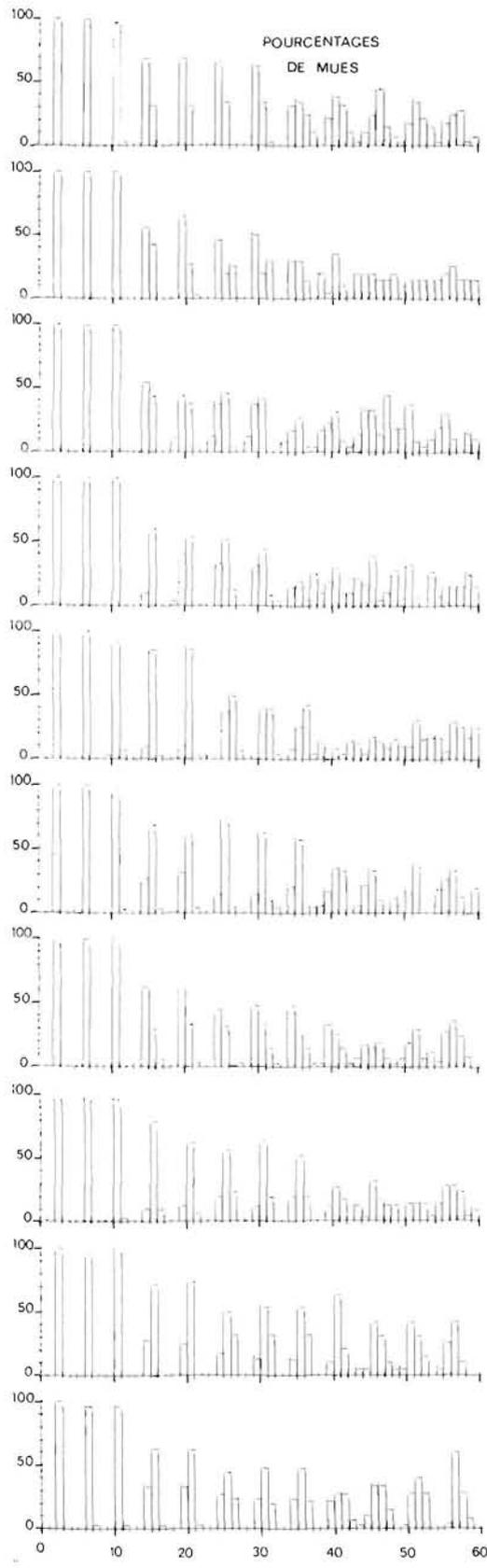
TABLE. 14. — Moyennes du nombre de mues avant la métamorphose dans des dilutions de Tioxide, et des solutions d'acide et de sulfate ferreux.

#### Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

Dans cette expérience, nous avons suivi le développement des individus pendant 60 jours, puis nous avons conservé en essais seulement ceux qui n'avaient pas métamorphosé.

Ainsi, avec la dilution 1/1 000 de l'effluent Tioxide, la seule larve restante est morte au 72<sup>e</sup> jour sans avoir métamorphosé. Au 1/900, une autre larve n'a métamorphosé que le 69<sup>e</sup> jour.

En ce qui concerne la solution ferrique, diluée au 1/1 500, deux larves ont métamorphosé aux 81<sup>e</sup> et 88<sup>e</sup> jours. A la dilution 1/1 000, une larve a métamorphosé au 72<sup>e</sup> jour et une autre est morte le 100<sup>e</sup> sans passage au stade de postlarve. Enfin, une dernière larve, venant de dilution 1/900, est morte sans métamorphoser le 73<sup>e</sup> jour.



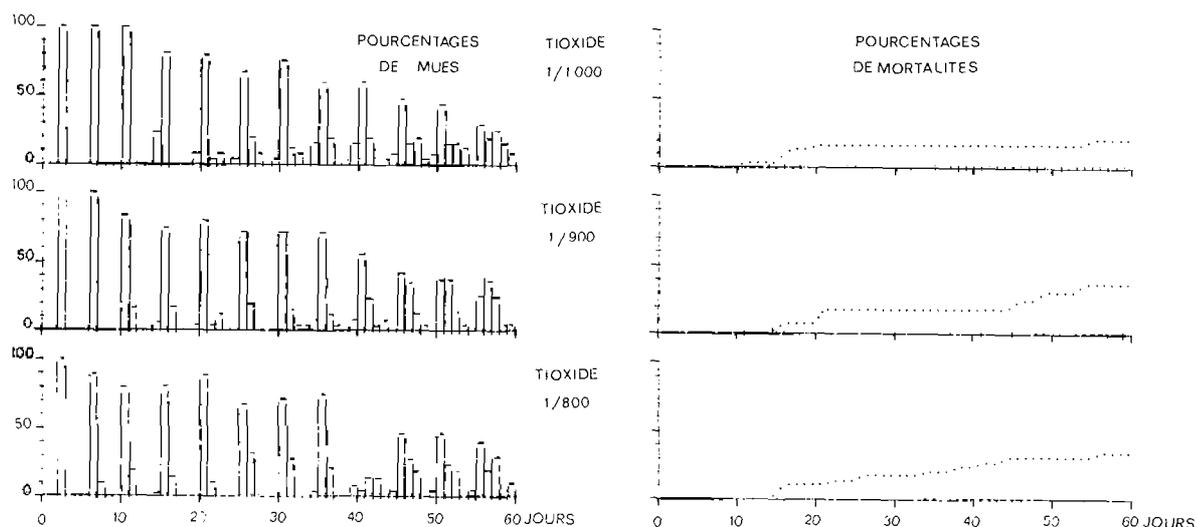


FIG. 21. — Expérience 7 : diagrammes des pourcentages de mues et courbes des pourcentages de mortalités de *Palaemon serratus* exposés à différentes dilutions de l'effluent Tioxide et d'une solution de fer neutralisées.

Dans la plupart des cas précités, les animaux étaient à l'état de « prémétamorphose », les caractères principaux de la postlarve étant réunis, mais avec persistance des périopodes nataires des premiers stades.

Le nombre moyen de mues, avant métamorphose (tabl. 14) augmente avec l'élévation de la concentration ; mais la différenciation est moins marquée dans le cas de la solution sulfurique à 8 %.

Les écarts-types relatifs à l'effluent Tioxide diminuent avec la dilution, la valeur plus élevée qui correspond à la dilution 1/5 000 est modifiée par la mortalité, de même que celle correspondant à la solution de fer au 1/900.

D'une façon générale, l'augmentation du nombre de mues avant la métamorphose est liée à l'augmentation de la concentration en acide, mais également à l'augmentation de la concentration en fer.

### c) Discussion.

Nous retrouvons ici les résultats de la 5<sup>e</sup> expérience, mais avec une gamme de concentrations plus étalée. La présence de quantités importantes d'hydroxyde ferrique semble intervenir pour une bonne part dans les retards observés dans les métamorphoses en postlarves.

Nous pouvons ainsi discerner les dilutions en dessous desquelles le développement est sérieusement compromis, soit :

1/1 200 de l'effluent Tioxide correspondant à une acidité de 0,0 047 % et une teneur en fer de 3,91 ppm ;

1/1 500 de la solution de fer à 30 g/l correspondant à une acidité de 0,0 006 % et une teneur en fer de 20 ppm ;

1/2 500 de la solution acide à 8 % correspondant à une acidité de 0,0 032 %.

En fait, les critères à retenir pour déterminer des teneurs toxiques limites sont : la mortalité dans un délai donné, le nombre de mues avant la métamorphose, le nombre de métamorphoses pour chaque lot d'individus.

### 3° Influence de l'effluent Tioxide neutralisé sur le développement larvaire (7<sup>e</sup> expérience).

Nous avons recréé, dans cette expérimentation, des conditions qui ne se rencontrent pas

lors de rejets dans le milieu naturel : effluent peu dilué mais pratiquement neutralisé. Le but recherché était de dissocier l'effet intrinsèque des composants métalliques de celui de l'acidité.

a) Protocole expérimental.

Les dilutions étudiées étaient préparées en quantités importantes une semaine à l'avance et abondamment aérées afin d'accélérer le processus de neutralisation. Elles étaient ensuite utilisées suivant le même protocole expérimental que celui décrit précédemment.

De cette façon, nous avons pu rechercher l'influence de l'effluent et de la solution de sulfate ferreux sur le développement de *P. serratus* lorsque l'acidité n'est plus en cause. Les larves ont été suivies comme dans les expériences antérieures.

Nous avons testé les dilutions dont les teneurs en fer ont été données dans le tableau 13 : 1/800, 1/900, 1/1 000, 1/1 200, 1/1 500, 1/3 000, 1/5 000 de l'effluent Tioxide ; 1/900, 1/1 000, 1/1 500, 1/2 000 et 1/10 000 de la solution de fer à 30 g/l (1 % de  $H_2SO_4$ ).

Pendant les 60 jours d'expérimentation, le pH des dilutions a été suivi. Les valeurs échelonnées de 7,42 à 8,12 sont restées pratiquement constantes pendant toute la durée de l'expérience.

b) Résultats.

Pourcentages de mues et de mortalités.

Les résultats sont représentés dans la figure 21.

Les témoins.

Les maximums de mues sont bien individualisés et les pourcentages de mortalité extrêmement faibles.

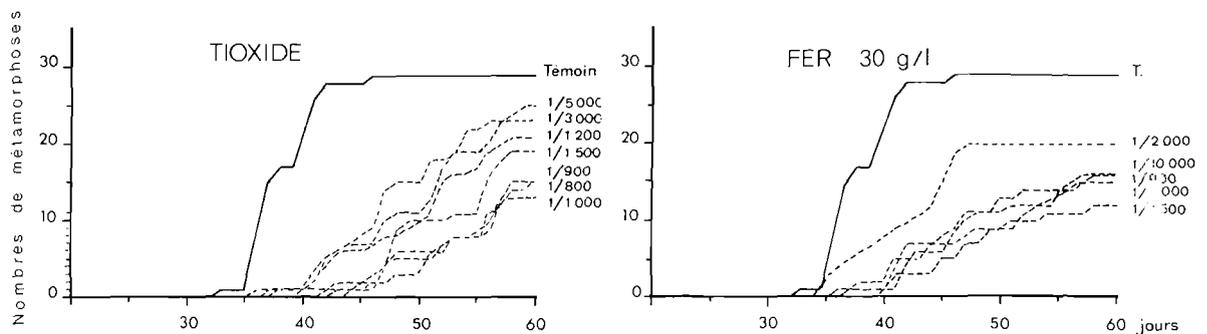


FIG. 22. — Expérience 7 : nombres cumulés de métamorphoses en post-larves.

L'effluent Tioxide neutralisé.

La mortalité n'atteint jamais 40 % pendant toute la durée de l'expérience et reste partout légèrement supérieure à celle des témoins. Les maximums de mues sont nettement individualisés et ne présentent pas de décalage par rapport au témoin.

La solution de fer neutralisée.

La mortalité croît régulièrement du 1/2 000 au 1/900 avec l'augmentation de la teneur en sulfate ferreux. Les pourcentages de mues sont peu individualisés dès le 9<sup>e</sup> stade. Notons qu'au 1/10 000 les résultats sont marqués par une mortalité accidentelle survenue le 26<sup>e</sup> jour.

Nombres cumulés de métamorphoses.

Les résultats sont donnés dans la figure 22. En ce qui concerne l'effluent Tioxide, le nombre des métamorphoses diminue graduellement par rapport au témoin, avec l'augmentation de la concentration, et ceci dès la dilution 1/5 000. Le même phénomène apparaît, bien que moins marqué, avec la solution de fer.

Nombres moyens de mues avant la métamorphose.

De même que dans l'expérience précédente, l'apparition des métamorphoses de quelques individus est fortement retardée. Ce retard croît avec la concentration. Par exemple, dans la dilution 1/5 000, trois larves n'ont métamorphosé qu'aux 63° et 64° jour, et au 1/800, quatre autres n'ont métamorphosé qu'aux 66° et 68° jour.

Les nombres moyens de mues avant métamorphose ne diffèrent pratiquement pas, au sein de chaque série de dilutions, contrairement à l'expérience précédente (tabl. 15).

	Nombres moyens de mues	Ecart-type	Nombre de mesures
Témoin	7,41	0,61	29
Tioxide	1/ 800	1,42	20
	1/ 900	1,32	18
	1/ 1 000	1,35	24
	1/ 1 200	1,20	25
	1/ 1 500	1,34	18
	1/ 3 000	1,24	21
	1/ 5 000	1,21	26
Fer 30 g/l	1/ 900	1,04	16
	1/ 1 000	1,59	18
	1/ 1 500	1,06	13
	1/ 2 000	1,29	19
	1/10 000	1,39	18

TABL. 15. — Moyennes du nombre de mues avant la métamorphose, pour Tioxide et la solution de sulfate ferreux.

Les nombres moyens de mues avant métamorphose dans les dilutions de l'effluent Tioxide sont échelonnés de 9,33 à 10,85 et, dans les dilutions de la solution de fer, de 7,89 à 9,27.

Les écarts-types obtenus avec les dilutions de Tioxide sont plus importants dans l'ensemble que ceux relatifs à la solution de fer.

Il y a donc un retard plus prononcé dans le cas de l'effluent malgré des teneurs en fer bien plus faibles, ce qui tendrait à faire intervenir dans la toxicité un facteur autre que le fer ou l'acidité; ce résultat est cependant difficilement explicable, car il n'a pas été observé, de manière aussi accentuée, dans l'expérience précédente où l'on utilisait des solutions à pH non stabilisé.

c) Discussion.

En tenant compte de la neutralisation des solutions testées par l'eau de mer, on peut retenir dans cette expérience :

une délimitation plus nette des pourcentages de mues dans l'effluent Tioxide, se traduisant par une individualisation des pics que l'on ne retrouve pas dans la solution de fer ;

une diminution du nombre des métamorphoses avec l'augmentation de la concentration de l'effluent Tioxide. Le nombre d'individus métamorphosés est plus faible que chez les témoins dans la dilution 1/5 000 malgré un pH proche de 8 ;

des nombres moyens de mues avant la métamorphose et des écarts-types plus élevés dans l'ensemble pour les dilutions de l'effluent.

Notons, dans cette dernière expérience, que les concentrations élevées en fer de la solution de référence (20, 30 et 33,3 mg/l) interviennent, en l'absence d'acidité notable, dans l'importance des mortalités observées.

On peut donc, dans cette expérience, évoquer un autre facteur que l'acidité intervenant à long terme dans l'apparition des métamorphoses : la charge en fer du milieu.

#### 4° *Discussion générale.*

La toxicité à long terme a été suivie au cours de sept expériences durant de un à deux mois en fonction de la période d'apparition des métamorphoses pour les trois effluents : Montedison, Tioxide et Thann et Mulhouse.

##### 1. L'effluent Montedison.

Dans les deux premières expérimentations, les larves n'ont subi un choc acide qu'en début d'expérience, puisque les solutions initiales étaient conservées pendant toute la durée des essais.

Dans ces conditions expérimentales, nous n'avons pas décelé de différences significatives entre les témoins et les solutions testées. Ainsi, une concentration en fer aussi élevée que 22 mg/l semble dépourvue d'effets (dilution 1/2 000 de l'effluent).

Dans les deux expériences suivantes, les animaux ont été soumis à d'importantes variations cycliques de pH. Des mortalités importantes (50 % et 90 % les 14<sup>e</sup> et 34<sup>e</sup> jours) sont observées dans la dilution 1/2 000 de l'effluent (0,0 044 % d'acidité et 22 mg/l de fer) ; les mortalités sont bien plus faibles (10 et 20 % aux mêmes temps) dans la dilution 1/2 000 de la solution de sulfate ferreux qui présente la même teneur en fer pour une acidité moindre (0,0 010 %). L'acidité joue un rôle primordial dans ces mortalités ; le pH initial et sa cinétique de neutralisation semblent importants : un pH initial de 5,8 tendant vers 7 en 48 heures (Montedison 1/2 000) est très toxique, à long terme, alors que des évolutions de 6 à 7,3 (Montedison 1/2 500) et de 5,9 à 7,6 (solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 % 1/2 000) ne le sont pas. Ainsi le pH initial mais aussi la pente de la courbe de neutralisation, c'est-à-dire sa vitesse, joueraient un rôle essentiel dans la toxicité constatée.

##### 2. L'effluent Thann et Mulhouse.

Une seule expérimentation a pu être conduite à 21° C, d'où les mortalités plus importantes constatées. La dilution 1/500 de l'effluent (0,0 042 % d'acidité et 25 mg/l de fer) a une composition très proche de la dilution 1/2 000 de Montedison (0,0 044 % et 22 mg/l), mais témoigne cependant une plus faible mortalité ; l'explication doit probablement être recherchée au niveau d'une vitesse de neutralisation plus grande à partir d'un même pH initial de 5,8, mais atteignant une valeur plus élevée en 48 heures.

L'expérimentation sur cet effluent, avec variations cycliques de pH, semble donc confirmer le rôle de l'acidité sous le double aspect d'une limite inférieure létale de pH voisine de 6 d'une part, et de l'importance de la cinétique de neutralisation d'autre part.

##### 3. L'effluent Tioxide.

Les essais faisant intervenir des variations cycliques de pH font apparaître des mortalités importantes lorsque les différentes concentrations sont supérieures ou égales à 0,0 057 % d'acide. En effet, si la mortalité est moyenne au 1/1 000 (0,0 057 % d'acide et 4,7 mg/l de fer), elle croît avec l'élévation d'acidité dans les dilutions plus faibles. A l'opposé, la dilution 1/2 000 (0,047 % d'acide ; 3,9 mg/l de fer) montre une mortalité comparable à celle des témoins.

Dans tous les cas, les faibles teneurs en fer ne semblent pas provoquer ces mortalités ; le pH initial et sa cinétique de neutralisation semblent être le facteur essentiel de la toxicité observée. Nous retrouvons également ici la limite létale inférieure pour un pH initial voisin de 6. La limite critique du pH est très aiguë puisque la mortalité est importante pour Tioxide 1/900

(pH variant de 6 à 7,6 en 48 h) alors qu'elle est comparable à celle des témoins pour le 1/1 200 (pH variant de 6,3 à 7,8 dans le même temps).

Les résultats, obtenus avec les dilutions de la solution de référence acide, mettent en relief l'effet du pH dès la concentration de 0,0 040 % (pH évoluant de 5,9 à 7,8 en 48 h) ; à 0,0 032 % d'acide (pH variant de 6,2 à 7,8 en 48 h), les effets constatés varient légèrement d'une expérience à l'autre, montrant bien les limites de cette zone sensible du pH.

Mais le fer, à fortes concentrations, a également une action importante sur la mortalité des larves ; en effet, la mortalité moyenne constatée pour la dilution 1/1 000 de la solution de fer (30 mg/l) augmente parallèlement à l'accroissement de cette teneur. Dans ce cas, l'acidité, très faible, et les valeurs initiales des pH (6,5 à 6,8) ne peuvent être mis en cause.

En ce qui concerne les nombres de métamorphoses cumulées, les résultats obtenus montrent, d'une façon générale, l'influence de l'augmentation des concentrations pour l'effluent et les solutions de référence. De plus, les effets observés sont concomitants avec ceux enregistrés dans le cas des mortalités ; on peut ainsi souligner certaines concentrations sensibles à partir desquelles les nombres de métamorphoses sont nettement inférieurs à ceux des témoins : 0,0 057 % d'acide pour Tioxyde, entre 20 et 30 mg/l de fer pour la solution de sulfate ferreux, 0,0 040 % d'acide pour la solution sulfurique.

Le retard dans l'apparition des postlarves, caractérisé par le nombre de mues qui précèdent la métamorphose, est peu marqué dans le cas des différentes solutions d'acide ; en revanche, avec les dilutions 1/900 et 1/1 000 de Tioxyde et de la solution de sulfate ferreux, on constate un accroissement important du nombre moyen de mues.

Les essais réalisés avec les solutions d'effluent et de fer à pH stable ne montrent pas d'effet significatif pour toutes les concentrations testées, c'est-à-dire jusqu'à un maximum de 5,87 mg/l de fer. La mortalité est légèrement supérieure à celle du témoin, mais elle est pratiquement identique dans les sept dilutions expérimentées. Ceci semblerait exclure un effet notable du cortège de métaux contenus à l'état de traces — dont des métaux lourds — dans l'effluent Tioxyde.

La solution de fer neutralisée montre une certaine mortalité dès la concentration de 20 mg/l de fer ; cette mortalité devient importante à 33,3 mg/l.

Les nombres de métamorphoses cumulés sont très nettement inférieurs à ceux des témoins pour toutes les dilutions testées.

Le retard dans l'apparition de la métamorphose est peu marqué en ce qui concerne la solution de sulfate de fer, alors qu'il est important pour la plupart des dilutions de Tioxyde. Ces résultats ne peuvent pas être interprétés dans l'état actuel de nos travaux.

### **Conclusions générales.**

Le travail relaté ci-après a débuté en 1973. La partie expérimentale a duré 327 jours et a dû être intercalée entre les autres travaux en cours dans le laboratoire. De plus, elle nécessita pour chaque expérimentation l'obtention de femelles de crevettes grainées. D'où les délais qui nous ont été nécessaires pour publier ces résultats.

Nous nous étions proposé de rechercher les éventuelles actions, de l'acidité et de la charge en fer de trois effluents, sur le développement larvaire d'un crustacé. Nous avons expérimenté sur chacun des effluents en utilisant celui dont nous disposions au moment de l'expérimentation sans chercher à refaire des essais rigoureusement identiques sur les trois ; leur similitude de composition permet néanmoins certaines extrapolations.

Nous avons expérimenté à des concentrations qui n'existent que pendant de très brèves durées, lors des divers rejets dans le milieu marin ; la probabilité, pour une même larve, de retrouver, toutes les 48 heures pendant 60 jours, des conditions aussi sévères d'acidité et de teneurs en fer, est donc infime. Mais nous devons retenir des conditions expérimentales très dures afin de bien mettre en évidence tout risque sérieux pour les larves de crustacés qui ont une importance économique notable dans certaines régions de déversements.

Avant d'essayer de dégager quelques conclusions de ces séries d'expériences, il convient de remarquer que les effets notés, lors des trois dernières expérimentations, étaient le plus souvent

accentués en fin d'étude. Les quatre premières expériences n'ayant pu, pour des raisons pratiques, être prolongées au-delà de 35 à 40 jours, certains résultats peuvent avoir été masqués.

Retenons toutefois que pour toutes les séries mettant en jeu des variations cycliques de pH, l'acidité était le facteur essentiel des mortalités observées. Le pH initial et la cinétique de neutralisation sont importants et complémentaires. Au voisinage de pH 6,0 qui peut être considéré comme le seuil létal d'acidité, la mortalité est plus ou moins importante selon que la neutralisation en 48 heures est lente ou rapide.

La cinétique de neutralisation est fonction d'un certain nombre de facteurs :

la concentration en sulfate ferreux ; quand elle augmente, elle tend à abaisser le pH et, par conséquent, à ralentir la neutralisation ;

l'oxygénation du milieu ; le comportement chimique de ce type d'effluent, en milieu marin, induit une consommation gazeuse qui diminue la charge en oxygène dissous. Pour des milieux fermés ou des eaux profondes, mal oxygénés, ce facteur intervient notablement et retarde la neutralisation de la charge acide.

D'autre part, le fer seul, à fortes concentrations (30 mg/l), entraîne des mortalités importantes de larves. Ce phénomène est plus particulièrement mis en évidence pour les expériences de longue durée.

D'une façon générale, les études, portant sur l'effet de solutions d'effluents ou de références en fer et en acide, n'ont pas mis en évidence d'autres facteurs que le pH initial, la cinétique de neutralisation et les fortes teneurs en fer. Les métaux à l'état de traces ne semblent pas intervenir au niveau de la toxicité à long terme qui a été abordée dans ce travail.

Des effets à long terme pour des concentrations-seuils, légèrement inférieures à celles précitées, sont mis en évidence après 40 jours de développement, sur le nombre et l'apparition des métamorphoses.

Ces résultats sont corroborés par les expériences faisant appel à des solutions neutralisées, soit avant que les larves y soient placées, soit à partir de la première exposition des larves au choc acide. En effet, la mortalité est en général comparable à celle des témoins tant que la teneur en fer ne dépasse pas 30 mg/l. Enfin, les effets à long terme sur les nombres de métamorphoses sont trop fragmentaires pour faire intervenir d'autres facteurs que le fer.

On peut dire que dès qu'une dilution convenable de l'effluent (1/5 000 à 1/10 000) est obtenue, dans le milieu marin, tout risque est supprimé pour les larves de crustacés et probablement pour le plancton animal en général. Cependant, les organismes planctoniques, contenus dans la masse d'eau de mer directement affectée avant la neutralisation de l'effluent, sont en majeure partie voués à une mort certaine. Le problème principal posé par ces effluents est donc celui de leur neutralisation jusqu'à au moins pH 6.

Manuscrit déposé le 20 décembre 1977.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AKESSON (B.), 1970. — *Ophryotrocha labronica* as test animal for the study of marine pollution. — *Helgoland. Wiss. Meeres.*, **20** (1-4) : 293-303.
- ARCHIMBAUD (M.), 1974. — Analyse chimique des rejets de la Société Montedison en Méditerranée. — *J. franç. Hydrol.*, **13** : 23-30.
- BOURDILLON-CASANOVA (L.), 1960. — Le méroplancton du golfe de Marseille. Les larves de crustacés décapodes. — *Rec. Trav. Sta. mar. Endoume*, **30** (18), 286 p.
- CAMPILLO (A.), 1975 a. — Contribution à l'étude de l'élevage de la crevette rose *Palaemon serratus* (PENNANT) en captivité. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **39** (4) : 381-394.
- 1975 b. — Données pratiques sur l'élevage au laboratoire des larves de *Palaemon serratus* (PENNANT). — *Ibid.*, **39** (4) : 395-406.
- CAMPILLO (A.) et LUQUET (P.), 1975. — Influence du taux de protéines sur la croissance de *Palaemon serratus* (PENNANT) élevée au laboratoire. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **39** (4) : 407-414.

- C.E.R.B.O.M., 1972-1973. — Rapport n° 202 : Toxicité et comportement en milieu marin d'effluents provenant de la fabrication d'oxyde de titane. — Rapport général Montedison. Scarlino (Italie).
- 1974. — Rapport n° 221 : Etude du rejet en baie de Seine des eaux résiduaires de l'usine du Havre de la Société Thann et Mulhouse. — Rapport général Thann et Mulhouse, usine du Havre (Seine-Maritime).
- DE CLERCK (R.) et VAN DE VELD (J.), 1974. — Description biologique d'une zone de rejet d'un effluent industriel résultant de la fabrication du dioxyde de titane. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1974/E : 29.
- DEROUX (G.), CAMPILLO (A.) et BRADBURY (Ph. C.), 1975. — *Ascophrys rodor* (CAMPILLO et DEROUX) parasite de la crevette rose *P. serratus* en élevage. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **39** (4) : 359-379.
- DETHLEFSEN (V.), 1973. — Zur frage des Fischvorkommens im Dünnsäureverklappungsgebiet nordwestlich Helgolands. — *Arch. Fish. Wiss.*, **24** (1-3) : 65-75.
- DUTRIEU (J.), 1960. — Observations biochimiques et physiologiques sur le développement d'*Artemia salina* LEACH. — *Arch. Zool. exp. gén.*, **99** (1) : 1-134.
- DIJRSMA (E.K.) et SEVENHLYSEN (W.), 1966. — Note on chelation and solubility of certain metals in sea water at different pH values Netherland. — *J. Sea Res.*, **3**, (1) : 95-106.
- FIGUEIREDO (M.J.), 1973. — Some food studies in the larval rearing of *Palaemon serratus* (PENNANT). — Cons. int. Explor. Mer, CM 1973/K : 5.
- GRICE (G.O.), WIEBE (P.H.) et HOAGLAND (E.), 1973. — Acid iron waste as a factor affecting the distribution and abundance of zooplankton in the New York Bight. I. Laboratory studies on the effects of acid-waste on copepods. — *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, **1** : 45-50.
- GURNEY (R.), 1923. — Some notes on *Leander longirostris* MILNE EDWARDS and other british prawns. — *Proc. zool. Soc. London* : 97-123.
- I.S.T.P.M., 1972. — Rapports de missions sur les rejets en Méditerranée de résidus de fabrication d'oxyde de titane par R. ABBES, C. LEROY et P. MICHEL.
- KAYSER (H.), 1969. — Züchtungsexperimente au zwei marinen flagellaten (Dinophyta) und ihre anwendung im toxikologischen abwassertest. — *Helgoländ. Wiss. Meeres.*, **19** : 21-44.
- 1970. — Experimental-ecological investigations on *Phaeocystis pouchetii* (Haptophyceae) : cultivation and waste water test. — *Ibid.*, **20** : 195-212.
- KETCHUM (B.H.), 1974. — Sea disposal of Acid - Iron Wastes resulting from the production of Titanium - Dioxide. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1974/E : 52.
- KINNE (O.) et ROSENTHAL (H.), 1967. — Effects of sulfuric water pollutants on fertilization, embryonic development and larvae of herring, *Clupea harengus*. — *Mar. Biol.*, **1** : 65-83.
- KINNE (O.) et SCHUMANN (K.H.), 1968. — Biologische Konsequenzen schwefelsäure - und eisen sulfathaltiger Industrie abwässer. Mortalität junger *Gobius pictus* und *Solea solea* (Pisies). — *Helgoländ. Wiss. Meeres.*, **17** : 141-155.
- LASSUS (P.), 1974. — Etude de la toxicité de solutions acides de sels de fer sur le plancton marin. — Thèse 3° cycle Biologie appliquée. Université d'Aix-Marseille I.
- LASSUS (P.) et MAGGI (P.), 1974. — Les effets biologiques des rejets en milieu marin d'effluents de fabrication d'oxyde de titane. — *J. franç. Hydrol.*, **13** : 31-35.
- LEBOUR (M.V.), 1947. — Notes on the inshore plankton of Plymouth. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **26** (4) : 527-547.
- LEHTONEN (H.), 1975. — The biological effects of the Titanium dioxide industry in Finland. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1975/E : 26.
- LEHTONEN (H.) et TUUNAINEN (P.), 1974. — On the effects of effluents from the titanium dioxide industry on the biota and fishery on the coastal area of the Gulf of Bothnia, near Pori, Finland. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1974/E : 45.
- Livre blanc concernant les rejets industriels de la Société Montecatini-Edison en Méditerranée. — Secrétariat permanent pour l'Etude des Problèmes de l'Eau, 1973.
- MAGGI (P.) et LASSUS (P.), 1974. — Incidences biologiques des déversements d'effluents du type dioxyde de titane. — *Comm. int. Explor. Mer Médit.*, II° Journ. Et. Pollutions, Monaco : 181-182.
- RACHOR (E.), 1972. — On the influence of industrial waste containing H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and FeSO<sub>4</sub> on the Bottom Fauna of Heligoland (German Bight). — F.A.O. Conference of Marine Pollution FIR : MP/70/E-101 : 1-4.
- RACHOR (E.) et DETHLEFSEN (V.), 1974. — Effets of acid-iron waste disposal in the marine environment. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1974/E : 27.
- REEVE (M.R.), 1969 a. — Growth, metamorphosis and energy conversion in the larvae of the prawn *Palaemon serratus*. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **49** : 77-96.
- 1969 b. — The laboratory culture of the prawn *Palaemon serratus*. — *Fish. Invest. London*, Ser. II, **26** (1), 37 p.
- SOLLAUD (E.), 1923. — Le développement larvaire des *Palaemonidae*. — *Bull. biol. France-Belgique*, **57** : 509-603.
- STRIPP (K.) et GERLACH (S.A.), 1969. — Die Bondenfauna im verklappungsgebiet von Industrieabwässern nord-westliche von Helgoland. — *Veröff. Inst. Meeresforsch.*, Bremerhaven, **12** : 149-156.
- VACCARO (R.F.) et GRICE (G.D.), 1972. — Acid-Iron waste disposal and the summer distribution of standing crops in the New York Bight. — *Water Res.*, **6** : 231-256.

- WEICHART (G.), 1972. — Chemical and Physical Investigations in the German Bight on marine pollution caused by wastes of Ti O<sub>2</sub> - Factory. — F.A.O. Conf. marine Poll., FIR : MP/70/E-44 : 1-2.
- 1975 a. — Untersuchungen über den pH - Wert im Wasser der Deutschen Bucht im Zusammenhang mit dem Einbringen von Abwässern aus der Titandioxid Produktion. — *Deut Hydrogr. Zeitschrift*, **28** (6) : 243-256.
- 1975 b. — Untersuchungen über die Fe-Konzentration im Wasser der Deutschen Bucht im Zusammenhang mit dem Einbringen von Abwässern aus der Titandioxid - Produktion. — *Ibid.*, **28** (2) : 49-61.
- WICKINS (J.F.), 1970. — The food value of the brine shrimp (*Artemia salina* LEACH) to larvae of the prawn (*Palaemon serratus* PENNANT). — Cons. int. Explor. Mer, CM 1970/E : 6.
- WIEBE (P.H.), GRICE (G.D.) et HOAGLAND (E.), 1973. — Acid-iron waste as a factor affecting the distribution and abundance of zooplankton in the New York bight. II - Spatial variations in the field and implications for monitoring studies. — *Estuar. Coast. mar. sci.*, **1** : 51-64.
- WILSON (K.W.) et WHITE (I.C.), 1974. — A review of the biological effects of acid-iron wastes from titanium dioxide production in the United Kingdom. — Cons. int. Explor. Mer, CM 1974/E : 40.
- WINTER (J.), 1972. — Long term Laboratory Experiments on the influence of Ferric Hydroxide Flakes on the filter-feeding behaviour, growth, Iron content and mortality on *Mytilus edulis* L. — F.A.O. Conf. marine Poll., FIR : MP/70/E **112** : 1-11.
-