Record Number:
Author, Monographic: Parent, L.//Couture, P.//Campbell, P. G. C.//Dubreuil, B.
Author Role:
Title, Monographic: Sensibilité des alevins vésiculés du saumon atlantique à l'acidité en présence et en absence d'aluminium
Translated Title:
Reprint Status:
Edition:
Author, Subsidiary:
Author Role:
Place of Publication: Québec
Publisher Name: INRS-Eau
Date of Publication: 1987
Original Publication Date: 6 août 1987
Volume Identification:
Extent of Work: viii, .79
Packaging Method: pages
Series Editor:
Series Editor Role:
Series Title: INRS-Eau, Rapport de recherche
Series Volume ID: 225
Location/URL:
ISBN: 2-89146-219-x
Notes: Rapport annuel 1987-1988
Abstract: ISBN double avec R000221. ok avec JD Bourgault
Rapport rédigé pour le ministère des Pêches et Océans Canada
15.00$
Call Number: R000225
Keywords: rapport/ ok/ dl

SENSIBILITÉ DES ALEVINS VÉSICULÉS DU SAUMON ATLANTIQUE À L'ACIDITÉ EN PRÉSENCE ET EN ABSENCE D'ALUMINIUM

INRS-Eau
Rapport scientifique no 225
le 6 août 1987

Lise Parent
Pierre Couture
Peter G.C. Campbell
Bertrand Dubreuil

INRS-Eau (Université du Québec), C.P. 7500
Sainte-Foy, QC G1V 4C7

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux iii

Liste des figures iv

Liste des annexes vi

Résumé vii

Préface viii

1. Introduction 1

2. Matériel et Méthode
   - 2.1 Provenance et caractéristiques des alevins 7
   - 2.2 Système expérimental 9
     - 2.2.1 Boites de Whitlock-Vibert 9
     - 2.2.2 Auges d'incubation 9
   - 2.3 Protocole expérimental 13
     - 2.3.1 Bioaccumulation de l'aluminium 18
     - 2.3.2 Analyse de l'eau 20

3. Résultats
   - 3.1 Paramètres physico-chimiques 23
     - 3.1.1 Spéciation de l'aluminium 30
   - 3.2 Survie et croissance 35
     - 3.2.1 Survie 35
     - 3.2.2 Croissance 38
   - 3.3 Bioaccumulation de l'aluminium 41
     - 3.3.1 Aluminium non-extractible à l'EDTA 47

4. Discussion
   - 4.1 Physico-chimie du milieu 49
   - 4.2 Survie 51
   - 4.3 Bioaccumulation de l'aluminium 56

5. Conclusion 61

6. Références bibliographiques 62

7. Annexe 69

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: Caractéristiques du système expérimental

TABLEAU 2: Résumé du protocole expérimental

TABLEAU 3: Nombre d'alevins prélevés pour chacun des échantillonnages

TABLEAU 4: Type d'instrumentation utilisé et limites de détection pour chaque analyse

TABLEAU 5: Valeurs nominales et observées du pH et de l'Al, pour chacune des auges et pour les périodes de traitement et de dépuration

TABLEAU 6: Spéciation de l'aluminium calculée avec le programme MINEQL, pour chacune des auges et pour les périodes de traitement et de dépuration

TABLEAU 7: Mortalité des alevins vésiculés de saumon de l'Atlantique au cours des phases de traitement et de dépuration dans les différentes auges et pour les deux souches: Rivière Aux Rochers et Rivière De la Trinité

TABLEAU 8: Concentration de l'aluminium dans les alevins de saumon avant et après le traitement à l'EDTA

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 Dispositif utilisé lors des expériences de bio-accumulation en laboratoire (figure tirée de Brouard et al., 1985)

FIGURE 2 Boite de Whitlock-Vibert modofiée pour les fins de l'étude (figure tirée de Brouard et al., 1985)

FIGURE 3: pH et concentrations en aluminium de l'auge 1 (Témoin) avec moyenne et écart type pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration (Al)

FIGURE 4: pH et concentrations en aluminium de l auge 2 (pH 5), avec moyenne et écart type pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration (Al)

FIGURE 5: pH et concentrations en aluminium de l'auge 3 (pH5 + Al), avec moyenne et écart type pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration (Al)

FIGURE 6: Spéciation de l'aluminium vs pH , calculée avec le programme MINEQL pour le milieu d'incubation utilisé

FIGURE 7: Variation temporelle des mortalités cumulatives pour les alevins dans chacune des auges, et pour les 2 souches

FIGURE 8: Poids sec moyen par alevin de saumon de la souche Aux Rochers

FIGURE 9: Poids sec moyen par alevin de saumon de la souche De la Trinité

FIGURE 10: Contenu en aluminium (ug/g) dosé chez les alevins de saumons de la rivière Aux Rochers

FIGURE 11: Contenu en aluminium (ug/g) dosé chez les alevins de saumons de la rivière De la Trinité

FIGURE 12: Comparaisons entre la bioaccumulation de l'aluminium (ug/g de poids sec) des alevins de la riviere Aux Rochers versus ceux de la rivière De la Trinité, selon les trois auges expérimentales -- incluant les facteurs de concentration--

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1: Dosage de l'aluminium dans les alevins

RESUME:

L'effet du pH sur la toxicité et sur la bioaccumulation de l'aluminium par des alevins vésiculés de saumon atlantique (Salmo salar) a été étudié sous conditions physico-chimiques contrôlées. Les expériences ont été réalisées sous des conditions de pH et de température voisines de celles rencontrées lors du choc acide au printemps (pH 5). On a utilisé un système expérimental constitué de trois auges dans lesquels le pH et les concentrations d'aluminium étaient contrôlées quotidiennement. Durant une période de traitement (pH 5 avec ou sans Al) de 17 jours et une période de dépuration subséquente de 18 jours, on a suivie l'accumulation de l'aluminium et la survie chez les alevins de saumon. De plus une expérience d'extraction d'aluminium à l'EDTA a été réalisée afin de discriminer entre les quantités d'aluminium adsorbé et absorbé.

Les résultats démontrent une mortalité plus élevée quoique faible (6 %) dans le milieu acide (pH 5) contenant de l'aluminium (135 ug/L). Cette mortalité peut être reliée à la forte prise en charge de l'aluminium par les alevins présents dans cette auge d'autant plus que 60 % de l'aluminium pris en charge est extractible à l'EDTA, lequel est considéré ici comme étant adsorbé. De plus on note des concentrations plus élevées chez les alevins de petites tailles comparativement aux alevins de taille supérieure. Nos résultats démontrent également qu'il y a désorption de l'aluminium très tôt au cours de la période de dépuration. Les facteurs de concentration calculés par le rapport des concentrations moyennes en aluminium total pris en charge par les alevins et les concentrations en aluminium inorganique monomère labile mesurées dans le milieu sont plus faibles à pH 5. Ces résultats suggèrent qu'il y a compétition cationique entre les ions Al^{+3} et H^{+} pour leur adsorption sur les sites de liaison présents sur les alevins.

PREFACE:

Ce projet a pour objectif de vérifier la sensibilité du saumon atlantique (stade de développement: alevins vésiculés) aux conditions physico-chimiques acides susceptibles de se produire au printemps dans les rivières de la Côte Nord (Québec) lors de la fonte des neiges. Le protocole de recherche est envisagé de façon à apporter des améliorations à celui qui avait été élaboré par Brouard et collaborateur (1985). Quatre aspects généraux caractérisent ce nouveau protocole:

- Conditions d'incubation plus acides (pH 5)
- Spéciation de l'aluminium contrôlée au cours de l'incubation; conditions de sursaturation en aluminium évitées.
- Dispositif d'incubation sans gravier (permettra de suivre la mortalité chez les alevins).
- Distinction entre l'adsorption de l'aluminium et son accumulation intracellulaire.

1. INTRODUCTION

Il a été reporté en Europe et dans le Nord-Est des Etats-Unis que les populations de poissons en milieu d'eau douce avaient diminué sous l'impact des précipitations acides (Sevaldrud et Muniz, 1980; Harvey et al., 1981; Haines, 1981). On a aussi démontré dans plusieurs études, notamment en Ontario (Harvey et al., 1981) et dans le nord de l'Etat de New-York (Schofield, 1981), que cette diminution des populations ichtyennes était due à un arrêt ou à un ralentissement de la reproduction, plutôt qu'à une mortalité de masse (Jensen et Snekvik, 1972). Les répercussions des pluies acides sur la physiologie du poisson ont été revues par Fromm (1980) et par Booth et al. (1982). Globalement l'augmentation de la concentration des ions hydrogène agit négativement sur le métabolisme en perturbant les mécanismes de régulation ionique (McWilliams, 1980; McDonald et Wood, 1981; McDonald, 1983; Hobe et al. 1984) et de transport d'oxygène dans le sang (Vaalo et Michel, 1970; Dively et al., 1977).

Peterson et al. (1980) ont trouvé que pour la majorité des espèces de poissons, c'était la période du cycle vital située entre l'éclosion et le début de l'alimentation exogène qui correspondait à la période la plus sensible aux bas pH. Schofield (1976) , Haines (1981), ainsi que Rosseland et Skogheim (1984) ont fait des observations similaires sur les jeunes salmonidés et plus particulièrement pour le saumon atlantique (Salmo salar) (voir aussi: Jensen et Snekvik, 1972; Daye et Garside, 1977; Daye 1980; Muniz et Leivestad, 1980; Lacroix, 1985: Lacroix et al., 1985; et Hesthagen, 1986).

Le stade de développement des alevins vésiculés correspond à un stade très sensible aux conditions du milieu (Daye et Garside, 1977; McKim, 1977) qui coincide avec la période de crue des eaux, au cours de laquelle se produirait entre 33 et 77% de l'apport d'ions hydrogène dans le milieu aqueux (Jeffries et al., 1979; Gunn et Keller, 1986). Les résultats portant sur les effets du faible pH sur les poissons sont très variables en conditions naturelles (Fromm, 1980). L'expression de la toxicité de l'ion H^+ peut être modifiée par divers facteurs comme la température de l'eau, la concentration en bioxide de carbone (Lloyd et Jordan, 1964)

et la présence de métaux tels l'aluminium, le manganèse et le zinc, qui sont libérés du sol lors d'un événement pluvieux acide (Driscoll et al., 1980; Baker, 1982).

La diminution du pH favorise la dissociation des complexes labiles, impliquant les métaux et les ligands organiques ou inorganiques, et augmente ainsi les teneurs en ions libres (aquo-ions: $M^{z+}(H_2O)_n$). A l'aide d'un modèle mathématique permettant le calcul d'équilibres chimiques, Campbell et Stokes (1985) ont déterminé que les concentrations de l'aquo ion aluminium augmentent beaucoup lorsque les valeurs de pH passent de 5 à 4.

Driscoll et al. (1980), ainsi que Van Coillie et al. (1993), ont soutenu que l'action toxique de l'aluminium était dépendante de sa spéciation: on observe une toxicité maximale autour du pH 5, où l'ion hydrogène lui-même représente qu'un faible stress physiologique (Baker et Schofield, 1980). Selon ces auteurs, les mortalités abondantes de poissons observées au cours de périodes d'acidification intermittentes, au printemps, pourraient être liées à l'augmentation des concentrations d'aluminium inorganique mobilisé des sols par l'eau de fonte.

En se basant sur plusieurs expériences en milieu naturel et en laboratoire, et sur plusieurs types d'organismes (Morel et Morel-Laurens, 1983; Sunda et Huntsman, 1983), on peut considérer que la concentration de l'ion libre Al^{+3} serait un bon indicateur de la toxicité de l'aluminium (Neville et Campbell, 1987) plutôt que la concentration totale du metal en question. Il ne faut pas non plus perdre de vue que la complexation à un ligand organique (comme les acides humiques, selon Van Coillie et al., 1983) diminue la toxicité de l'aluminium; il a d'ailleurs été suggéré que seules les espèces d'aluminium inorganique labiles doivent être considérées comme toxiques (Driscoll et al., 1980; Baker et Schofield, 1980).

Les ions aluminium et H^+ influencent négativement le métabolisme en augmentant la perméabilité des branchies. Des perturbations au niveau de la prise en charge de l'oxygene et de la régulation ionique furent observées en présence de faibles concentrations d'aluminium (75ug/L) à des pH entre 4 et 5 chez des jeunes truites Arc-en-ciel (Salmo gairdneri): il en est résulté un état acidohémique[1] allant de modéré à

[1]: terme utilisé pour signifier l'acidification du sang

grave (Neville, 1985). Dans une autre étude, une exposition à 350 ug/l d'aluminium à pH 4.1 a mis en évidence des perturbations dans le processus de régulation ionique: la perte corporelle en sodium et en chlorures est doublée en présence d'aluminium par rapport à celle déterminée en conditions acides uniquement (Witters, 1986). Il semblerait que des enzymes comme Na-K-ATPase et l'anhydrase carbonique, lesquelles jouent un rôle déterminant dans les processus de régulation osmotique au niveau des branchies, ne peuvent maintenir la balance ionique.

Cependant, selon Neville et Campbell (1987), les réponses toxicologiques et physiologiques des jeunes poissons ainsi que des adultes à l'acidification et à l'aluminium sont très complexes et leur variabilité porte souvent à confusion. Selon ces auteurs, elles dépendent du pH, de l'aluminium, du calcium, du bioxide de carbone mais aussi de la température et de la période d'exposition.

Nous avons élaboré une approche qui nous permet de vérifier chez des alevins vésiculés de Salmo salar l'hypothèse d'une augmentation de la biodisponibilité de l'aluminium en présence de conditions physico-chimiques (pH, T, [Al])

simulant celles qui sont présentes lors des périodes d'acidification intermittentes au printemps. Les expériences ont été réalisées en:

i) travaillant sous des conditions de pH et de température voisines de celles rencontrées lors du choc acide au printemps (pH 5) où la solubilité de l'aluminium est à son maximum;

ii) travaillant également sous des conditions d'incubation suffisamment contrôlées afin de préciser la spéciation de l'aluminium et d'éviter ainsi des conditions favorisant l apparition de formes moins disponibles;

iii) utilisant un dispositif d'incubation sans gravier afin de permettre un suivi constant de la mortalité chez les alevins;

iv) procédant à des mesures d'adsorption et d'accumulation de l'aluminium intracellulaire afin de discriminer les quantités d'aluminium prises en charge par la cellule à partir de ces deux mécanismes;

v) mesurant les concentrations d'aluminium dans les alevins durant une période de dépuration ultérieure à une période de traitement, afin de vérifier s'il existe un/ou des mécanismes de dépuration .

2. MATERIEL ET METHODES

Les expériences ont été réalisées dans les laboratoires du Complexe Scientifique, à Québec, dans une chambre froide (T= 1 ± 1°C.

2.1 PROVENANCE ET CARACTERISTIQUES DES ALEVINS

Les alevins ont été reçus le 20 mai 1986, de l'Aquarium de Québec. Ce sont des alevins vésiculés, qui n'ont pas été nourris. De cette façon l'aluminium total ajouté dans le milieu était essentiellement égal à l'aluminium inorganique: la formation de complexes organiques d'aluminium, pouvant être produits par la liaison des ions d'aluminium aux produits d'excrétion, a ainsi été minimisée.

Les alevins ont été progressivement acclimatés durant une période de 10 jours dans une eau synthétique très douce qui était utilisée par la suite au cours de

l'expérience en tant que telle. Le milieu synthétique est constitué de sels ajoutés à une eau desionisée (Peltier,1978; Brouard et al., 1985):

12.0 mg/L $NaHCO_3$
7.5 mg/L $CaSO_4.2H_2O$
7.5 mg/L $MgSO_4$
0.5 mg/L KCl

Les alevins vésiculés provenaient des oeufs de deux souches: l'une associée à la rivière Aux Rochers et l'autre à la rivière De la Trinité, deux rivières de la Côte-Nord. Après leur éclosion, les oeufs furent transportés de l'Aquarium de Québec au Complexe Scientifique du gouvernement du Québec. On a reçu environ 700 alevins de la rivière Aux Rochers et environ 1100 de la rivière De la Trinité. Ces derniers pesaient en moyenne 0.04 g alors que ceux de la rivière Aux Rochers étaient plus petits (.02 g).

Les alevins ont été distribués approximativement également dans trois auges du système expérimental. Ils étaient répartis dans des boîtes de Whitlock-Vibert pour en faciliter les prélèvements ultérieurs en évitant les pertes dans le courant d'eau du système expérimental.

2.2 SYSTEME EXPERIMENTAL

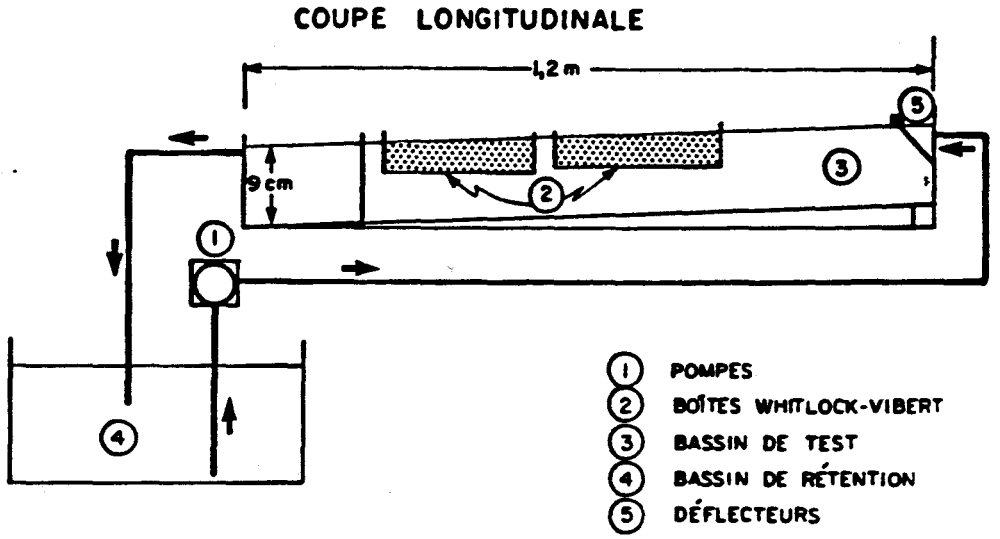
Le système expérimental utilisé est le même que celui decrit dans le rapport de Brouard et al. (1985), (figure 1). Mentionnons qu'il fut mis à notre disposition par la compagnie Eco-Recherches Canada Inc.

2.2.1 Boites de Whitlock-Vibert

Les boites d'incubation et d'alevinage de type Whitlock-Vibert sont décrites dans le rapport de Brouard et al.(1985), (figure 2).

2.2.2 Auges d'incubation

Les auges utilisées sont fabriquées de contreplaqué de sapin. Elles sont protégées à l'intérieur par un enduit d'émail neutre "époxy" (National 561-320) à base de dioxyde de titane, approuvé pour l'industrie alimentaire. La surface externe est préservée pour sa part, par de la peinture à plancher (National 163-358).



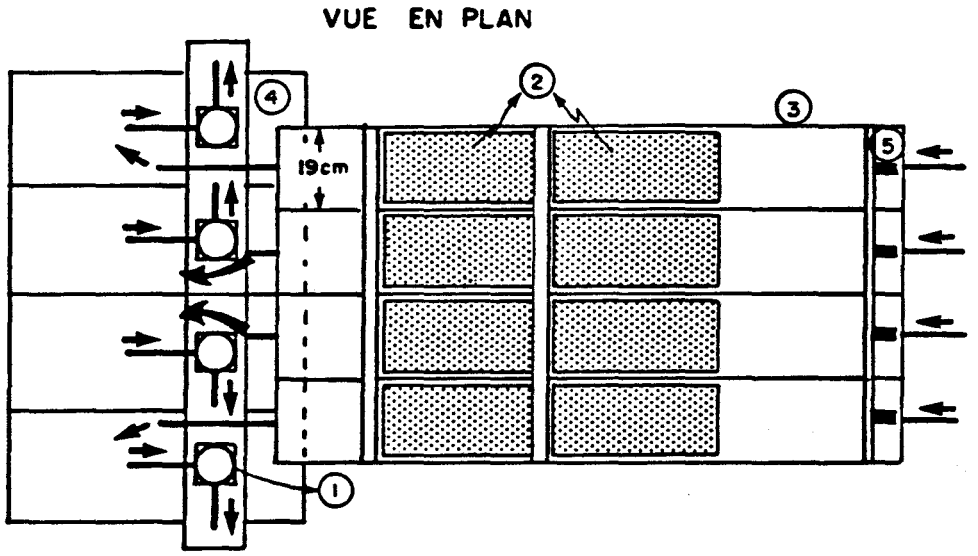
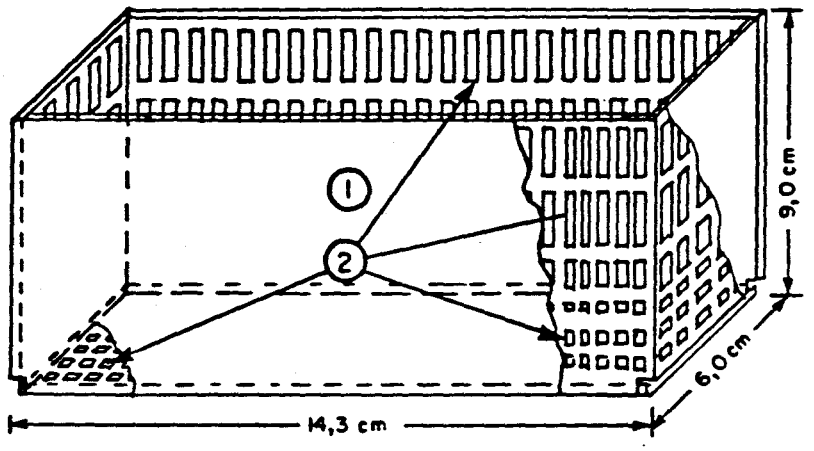


Figure 1: Dispositif utilisé lors des expériences de bioaccumulation en laboratoire (figure tirée de Brouard et al., 1985)



① BOÎTE

② LES OUVERTURES DE RETENUE

MATÉRIEL : POLYPROPYLÈNE DE 2mm D'ÉPAISSEUR

Figure 2: Boîte de Whitlock-Vibert modifiée pour les fins de l'étude
(figure tirée de Brouard et al., 1985)

Les principales conditions qui prévalaient dans les auges sont les suivantes:

- incubation à quasi-obscurité dans la chambre froide à température constante de 1 -± 1°C
- débit: 2.0 à 2.5 L/s
- renouvellement de l'eau dans les auges: 25 à 30 minutes
- circulation de l'eau assurée par des pompes (March, 2cp-MD)
- l'oxygène dissous maintenue à concentration de saturation par diffusion et par barbottage.

Le temps zéro pour les décomptes de mortalité a été fixé au 30 mai soit 10 jours après la réception. Tous les alevins morts au cours de la période d'acclimatation furent enlevés.

Le tableau 1 résume les différents traitements appliqués dans les trois auges. L'eau synthétique utilisée était préparée dans des bassins de maturation. La solution mère d'aluminium (1000mg/L) a été préparée à partir de standard d'aluminium (BDH Chemicals).

TABLEAU 1:CARACTERISTIQUES DU SYSTEME EXPERIMENTAL

Numero de l'auge	Identification	Caracteristiques
1	temoin pH = 6.7 $[Al]_T$ = 0 ug/l	pas de traitement particulier
2	témoin pH = 5.0 $[Al]_T$ = 0 ug/l	témoin acide
3	auge expérimentale pH = 5.0 $[Al]_T$ = 100 ug/l	milieu expérimental avec ajout d'Al inorganique du 30-05 au 16-06-1986.

Avant l'ajout quotidien d'aluminium dans le bassin de maturation de l'auge 3, des solutions de concentration intermédiaire de 25 mg/L étaient préparées avec de l'eau de dilution ajustée à un pH de 5.0 (HCl, 6N). On ajoutait ensuite la quantité requise (100 ug/L) dans le bassin de maturation que l'on agitait environ 18 heures pour favoriser l'équilibre chimique de la solution. Le pH était vérifié et ajusté deux fois par jour avec une période de stabilisation de l'eau d au moins 6 heures avant son utilisation. Tous les jours on retirait 50% (80 L) du volume d'eau dans les auges que l'on remplaçait par de la nouvelle provenant des bassins de maturation.

2.3 PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le résumé de la démarche expérimentale est présenté au tableau 2. Afin de distinguer entre l'action du pH et celle de l'aluminium, les alevins ont été soumis au traitement de 18 jours, dans trois auges distinctes selon les conditions précédemment mentionnées. Les trois auges étaient alimentées par de l'eau synthétique très douce simulant un milieu oligotrophe. Ce type de

TABLEAU 2: CHRONOLOGIE DE LA PROCEDURE EXPERIMENTALE

DATE	JOUR	ETAPES
19-05	-11	mise en marche du système avec eau de l'Aquarium de Québec à pH 6.7
20-05	-10	transfert des alevins acclimatation progressive dans l'eau synthetique (pH 6.7)
29-05	-01	acidification partielle (1/2: pH 5.3) des auges # 2 et # 3
30-05	0	acidification complète (pH 5.0) des auges # 2 et # 3; introduction de Al dans l'auge # 3.
31-05	1 à 18 1,3,5,7, 9,11,13, 15,17,20, 21,24,26, 28,31,33, et 36.	prélèvements d'eau prélèvements d'alevins
16-06	+18	fin du traitement début de la dépuration
04-07	+36	fin de la dépuration

et conductivité. La période de traitement a eu lieu du 30-05-86 au 16-06-86 inclusivement. La période de dépuration suivit jusqu'au 04-07-86. La dépuration est envisagée comme l'ensemble des processus qui concourent, au niveau de l'organisme, à éliminer l'aluminium bio-accumulé, après la période de traitement. Pour les métaux lourds, les processus mis en jeu correspondent essentiellement aux fonctions d'excrétion (Boudou, 1982).

La dynamique de la bioaccumulation de l'aluminium est suivie grâce à des prélèvements successifs dans les lots de poissons. On a procédé à l'échantillonnage des alevins pour y déterminer les teneurs en aluminium selon l'horaire présenté au tableau 2. Le 16 juin, soit à la fin de la période de traitement, on a procédé à un double prélèvement biologique en vue de différencier entre l'aluminium adsorbé à l'extérieur des alevins (Al extractible à l'EDTA[e]) et l'aluminium intra-cellulaire (Al non-extractible à l'EDTA), selon la méthode élaborée par Bates et al. (1982) pour des algues (Chlamydomonas variabilis).

---

[e] EDTA= "Acide éthylènediaminetétra-acétique"

2.3.1 Bioaccumulation de l'aluminium

L'analyse de la bioaccumulation de l'aluminium est réalisée au niveau de l'organisme entier (concentrations globales).

Pour chacune des analyses de bioaccumulation d'aluminium, on prélevait environ 10 alevins pour obtenir un poids sec total d'environ 0.2 grammes pour les poissons de la rivière Aux Rochers et de 0.4 grammes pour les poissons de la rivière De la Trinité (tableau 3). En fonction des résultats obtenus par Brouard et al. (1982), les quantités de poissons prélevés devaient être suffisantes pour espérer détecter des teneurs en aluminium supérieures à la limite de détection de la méthode analytique (2 ug/g). Un seul échantillon composé d'environ 10 alevins était obtenu lors de chaque prélèvement, sauf pour ceux des 16 juin, 27 juin et 4 juillet où on avait trois réplicats. Le nombre limité d'alevins par auge nous empêchait de prélever plusieurs réplicats à chaque date de prélèvement.

Chacun des échantillons a subi une digestion à l'acide nitrique et à l'acide sulfurique selon la méthode décrite par Environnement Canada (1980). Comme les

TABLEAU 3 NOMBRE DE POISSONS PRELEVES

Date	Auge 1		Auge 2		Auge 3	
	aux Rochers	Trinité	aux Rochers	Trinité	aux Rochers	Trinité
30-05		10	09			
31-05	12	12	12	12	12	11
02-06	10	09	10	11	12	10
04-06	10	09	13	14	13	09
06-06	08	10	10	10	09	08
08-06	12	12	12	12	12	14
10-06	13	09	11	11	14	10
12-06	07	11	14	12	13	13
14-06	08	07	09	11	07	10
16-06	60	60	60	60	60	60
19-06	05	08	05	07		10
20-06		10		08		06
23-06		10		10		09
25-06		10	10	10		09
27-06		29		30		30
30-06		09		10		09
02-07	06	09	10	10		10
04-07		30	10	30		30
total	151	264	195	268	152	258

résultats ne semblaient pas satisfaisants (la précision et l'exactitude laissant à désirer: annexe 1), on a procédé sur les mêmes échantillons à une nouvelle digestion par ajout d'acide nitrique et d'acide fluorhydrique, en utilisant la méthode de Kratochvil et Motkosky (1986). Les teneurs en aluminium furent déterminées par spectrophotométrie d'absorption atomique. Le type d'instrumentation utilisé de même que les limites de détection obtenues sont indiqués au tableau 4.

2.3.2. Analyse de l'eau

Les échantillons d'eau étaient préservés par acidification (pH < 2,0) à l'acide nitrique (HNO_3 conc., Aristar). Ils étaient prélevés dans des bouteilles en polyéthylène lavées à l'acide nitrique dilué et rincées plusieurs fois à l'eau Millipore. Les échantillons d'eau étaient filtrés sur membrane en polycarbonate (0,4um; Nuclépore) pour en déterminer leur spéciation physique. On procédait ensuite à la détermination de la spéciation chimique en utilisant la méthode proposée par Rogeberg et Henriksen (1985). Le dosage de l'aluminium se faisait par spectrophotométrie d'absorption

TABLEAU 4: METHODES UTILISEES POUR L'ANALYSE DE L'ALUMINIUM DANS LES ALEVINS ET DANS L'EAU SYNTHETIQUE

ANALYSE	APPAREIL	LONGUEUR D'ONDE (nm)	LIMITE DE DETECTION
Al dans les organismes	Spectrophotomètre absorption atomique Varian Spectro 30 avec four graphite GTA-96	309,3	2 ug/g
Al dans l'eau d'incubation et d'avelinage	Spectrophotomètre à absorption atomique Varian Spectro 30 avec four graphite GTA-96.	309,3	3 ug/l

atomique sans flamme (Al total; Al filtrable) ainsi que par colorimétrie (réaction de l'aluminium monomère avec le catéchol violet). Cette méthode nous permet de discriminer les différentes formes d'aluminium suivantes:

Aluminium total (Al_T)

Aluminium dissous ou filtrable (Al_F)

Aluminium particulaire (Al_T-Al_F)

Aluminium monomère (inorganique et organique) (Al_{mv})

Aluminium monomère organique (Al_{mvR})

Aluminium monomère inorganique (Al_{mv}-Al_{mvR})

La distribution de l'aluminium selon ses différentes formes inorganiques monomères est calculée à partir de cette dernière concentration, à l'aide d'un modèle mathématique (MINEQL) rendant compte des équilibres chimiques impliqués.

3. RESULTATS

3.1 PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DES EAUX

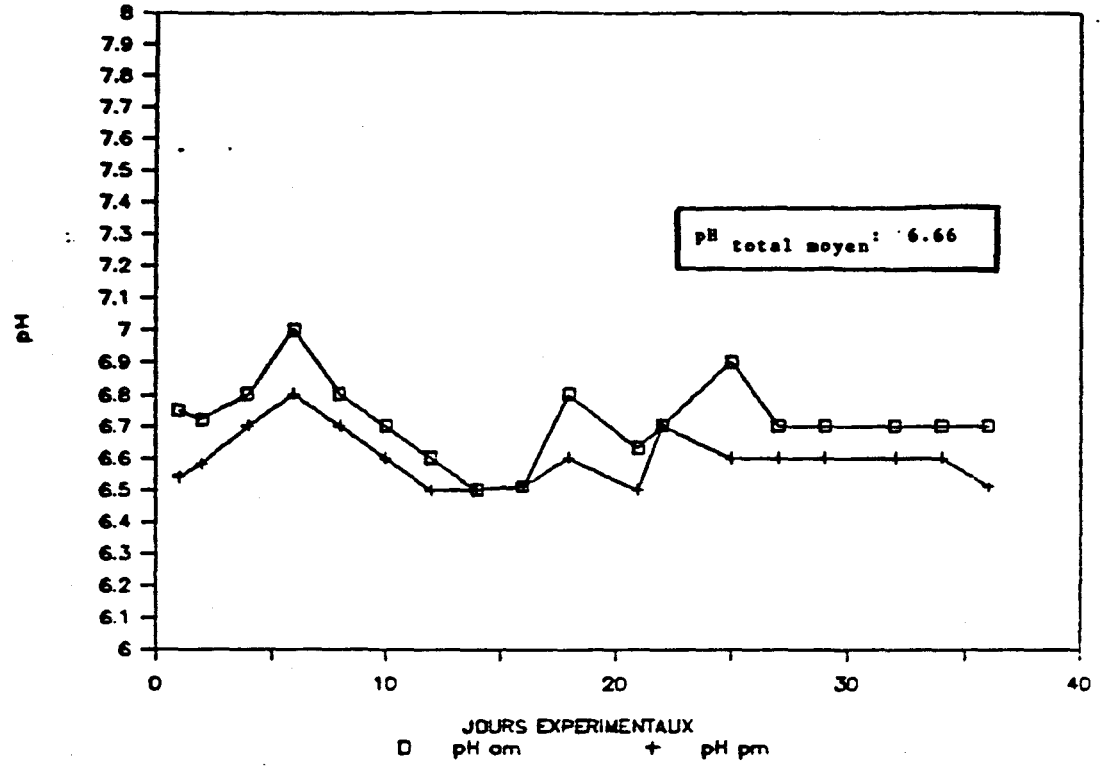
Les valeurs nominales et observées du pH et de l'Al_t sont présentees aux tableau 5, pour chacune des auges et pour les périodes de traitement et de dépuration. Les figures 3,4 et 5 donnent un apercu global de l'évolution du pH et de la spéciation de l'aluminium mesurés dans les auges 1,2 et 3.

Les teneurs en aluminium total dans les auges 1 et 2 sont plus variables durant la période de traitement que durant la période de dépuration. Les écarts types présentés aux figures 3 et 4 mettent bien en évidence cette situation. Les variations des teneurs en aluminium seraient induites par une contamination provenant de l'auge 3.

Cette contamination pourrait se faire par infiltration d'eau, par captage des goutelettes sur la toile de couverture recouvrant les auges et par leur tombée subséquente dans les auges 1 et 2, ou bien par les aérosols formés dans

TABLEAU 5: Valeurs nominales et observées du pH et de l'Al_T pour chacune des auges et pour les périodes de traitement et de dépuration

PARAMETRES	VALEURS NOMINALES	VALEURS OBSERVEES
	AUGE 1: TRAITEMENT	
pH	6.7	6.66 ± 0.14
Al_T (ug/L)	0.0	17.60 ± 8.00
	DEPURATION	
pH	6.7	6.66 ± 0.09
Al_T	0.0	5.90 ± 1.10
	AUGE 2: TRAITEMENT	
pH	5.0	5.08 ± 0.23
Al_T	0.0	38.10 ± 5.50
	DEPURATION	
pH	5.0	4.98 ± 0.11
Al_T	0.0	16.70 ± 5.50
	AUGE 3: TRAITEMENT	
pH	5.0	4.97 ± 0.19
Al_T	100.0	136.90 ± 39.60
	DEPURATION	
pH	5.0	4.97 ± 0.09
Al_T	0.0	29.2 ± 7.80



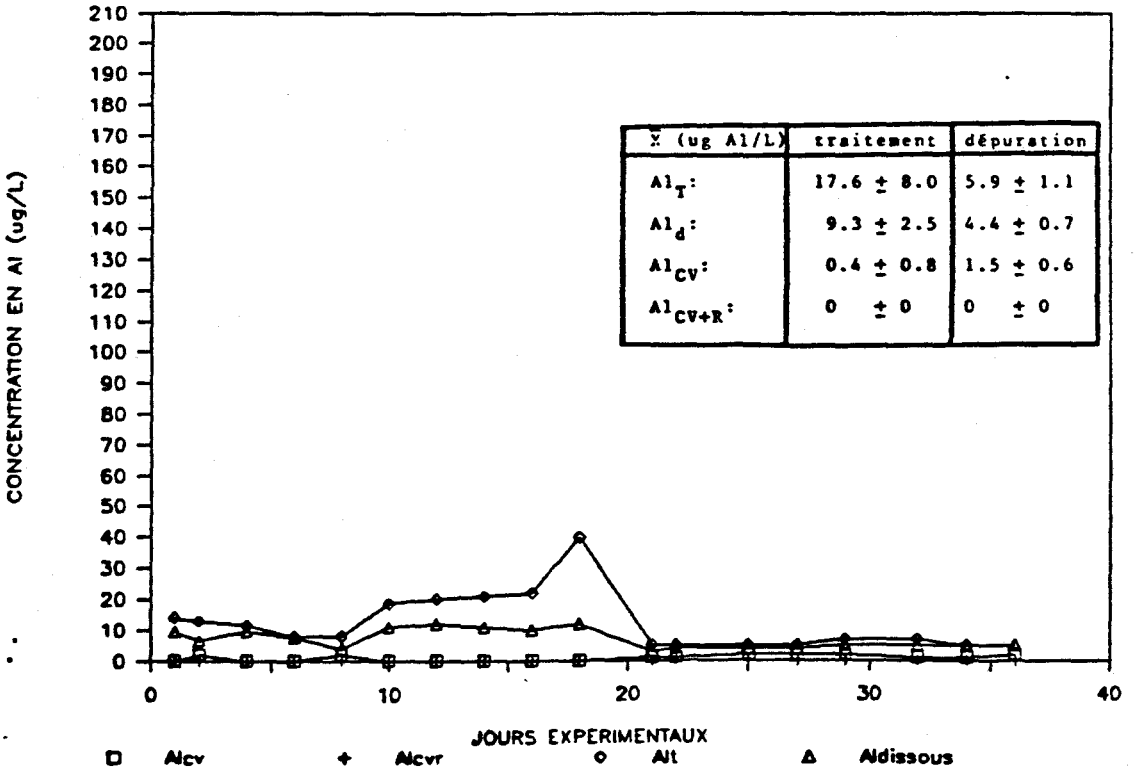
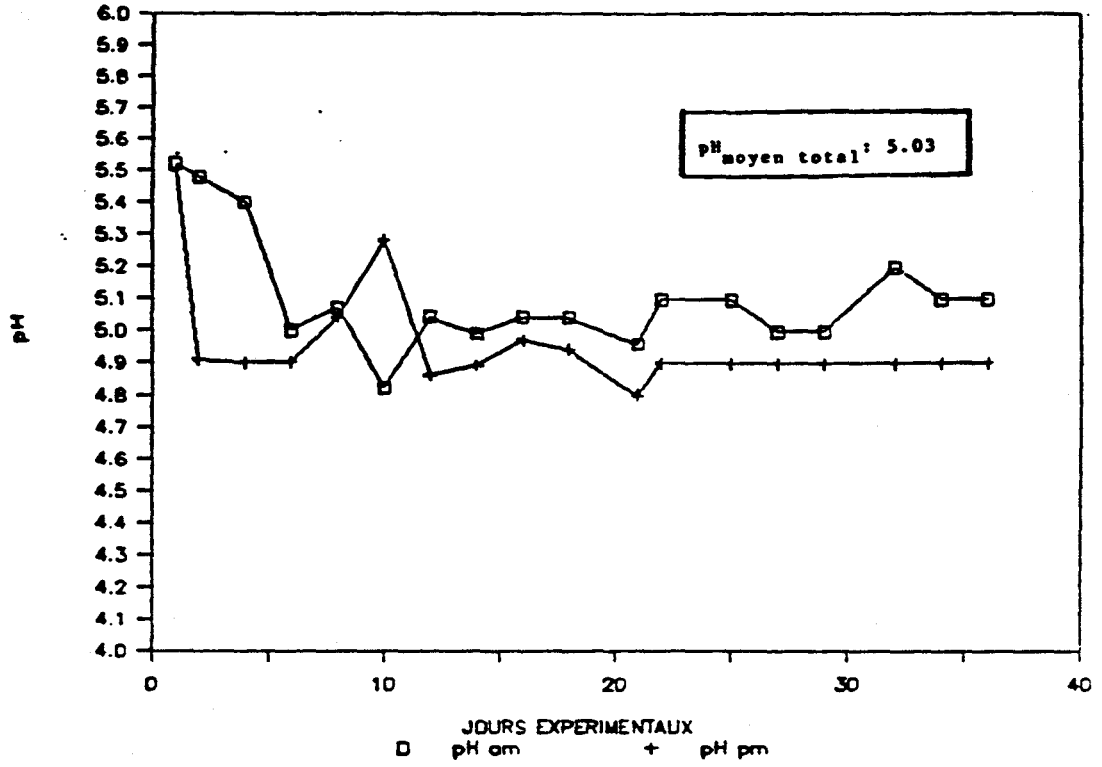


Figure 3: pH et concentration en aluminium de l'auge 1 (pH: 6.7) avec moyennes et écarts types pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration (Al).



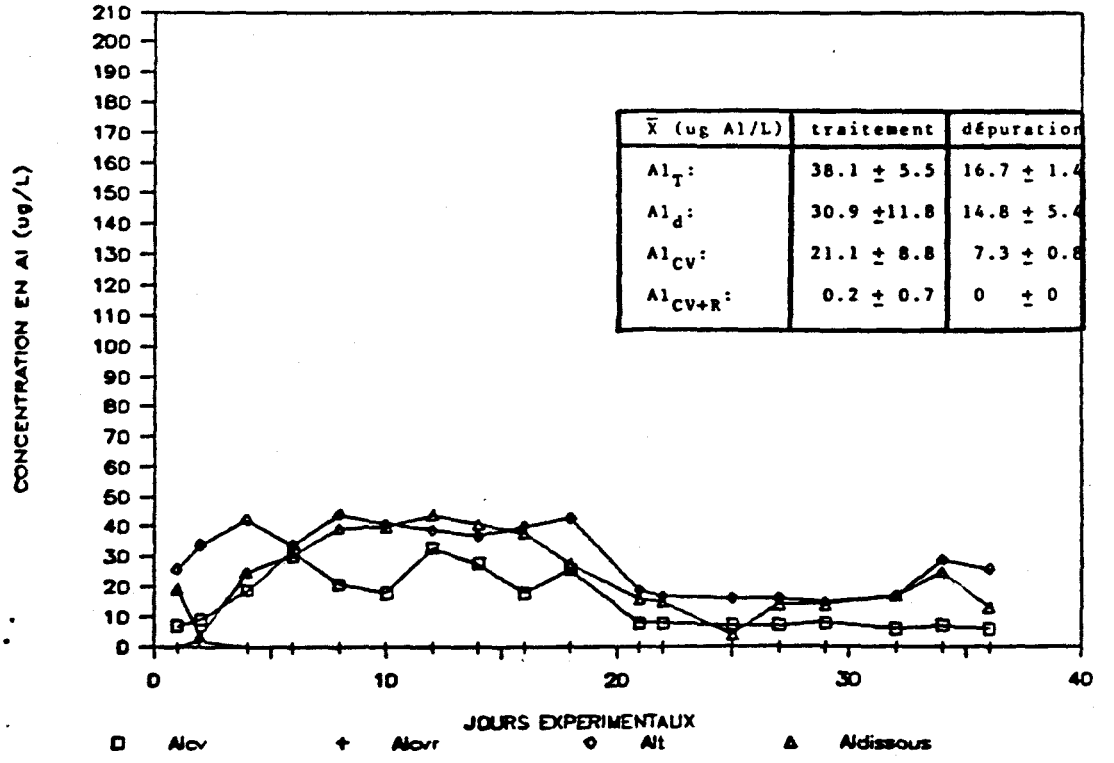
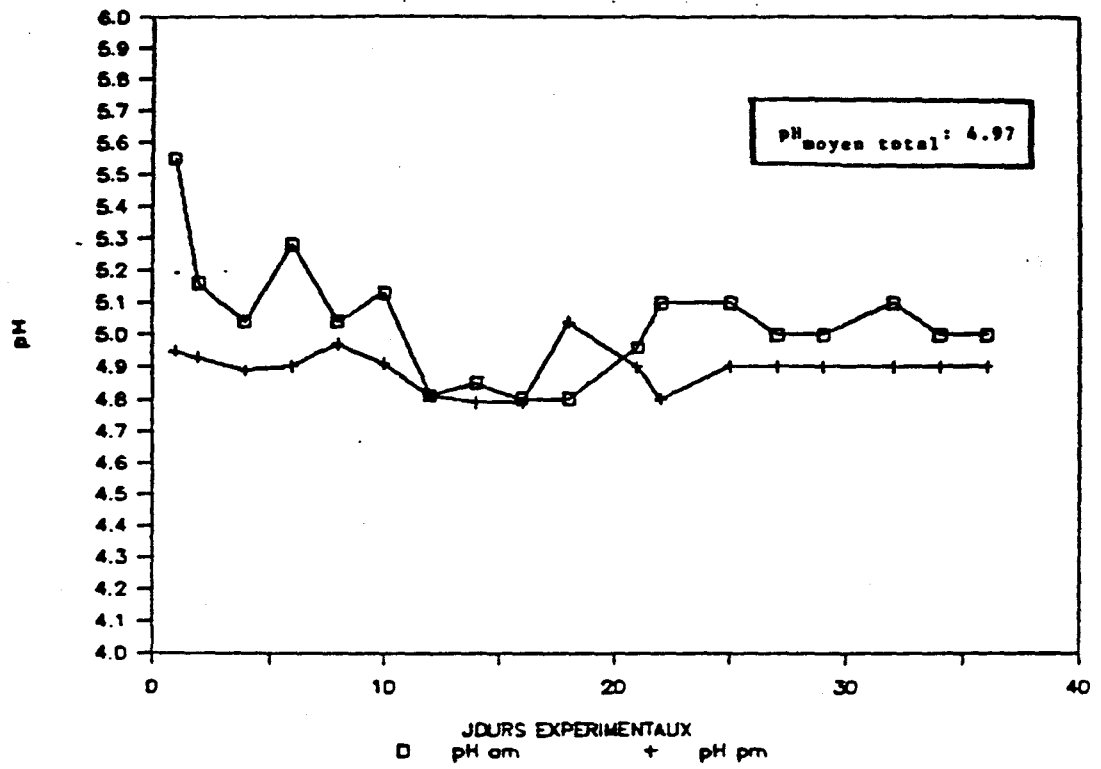


Figure 4: pH et concentration en aluminium de l'auge 2 (pH 5), avec moyennes et écarts-types pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration (Al)



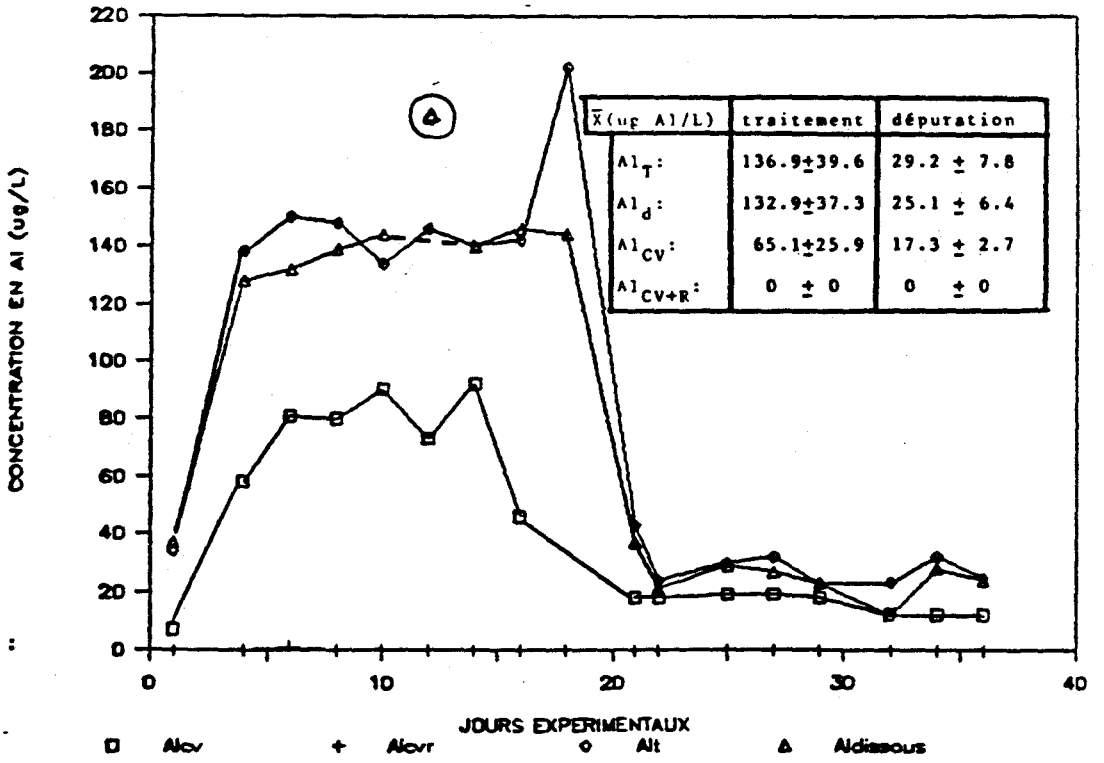


Figure 5: pH et concentration en aluminium de l'auge 3 (pH 5 + Al), avec moyennes et écarts-types pour l'ensemble des données (pH), la période de traitement et la période de dépuration.

④ valeur rejetée

les bassins d'agitation. On note une augmentation sporadique d'aluminium total, le 16-06, dans les auges 1 et 3, qui serait due à une erreur dans le calcul des concentrations de l'aluminium à ajouter: la concentration d'aluminium mesurée dans le bassin de maturation[°] a d'ailleurs doublé le 15-06.

Dans l'auge témoin (1), l'aluminium dissous correspond à environ 50% de l'aluminium total, avant le 16 juin, tandis qu'après il correspond à près de 75 % de l'aluminium total mesuré. Par contre, dans l'auge 2 (pH 5), l'aluminium dissous correspond à presque 100% de l'aluminium total, alors que l'aluminium monomère inorganique et organique correspond à près de 50 % tout le long des observations. On a le même phénomène dans l'auge 3. Cette différence de spéciation entre les auges de pH 6.7 et les auges de pH 5 est prévisible puisque la spéciation de l'aluminium varie avec le pH (voir figure 6). Une baisse de pH favorisera la solubilisation de formes particulaires de l'aluminium ainsi que la dissociation de complexes organiques. Il appert aussi que les concentrations en aluminium mesurées dans l'eau sont relativement différentes des concentrations

---

°: L'eau de renouvellement était préparée 24 heures à l'avance dans des bassins de maturation.

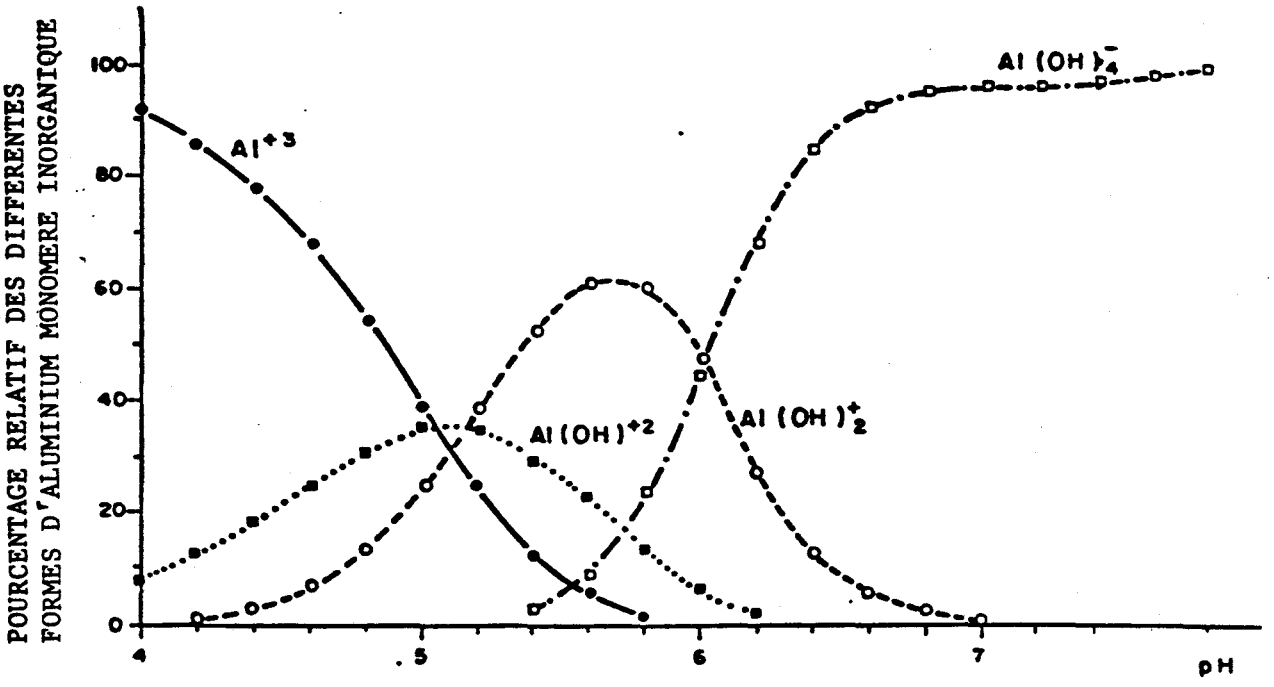


Figure 6: Spéciation de l'aluminium vs pH, calculé par le programme MINEQL pour le milieu d'incubation utilisé

nominales retenues (voir le tableau 1: auge 1= 0 ug/L; auge 2= 0 ug/L, auge 3= 100 ug/L) pour l'expérimentation.

Au cours des deux phases expérimentales (traitement et dépuration), les conditions physico-chimiques d'incubation ont été relativement stables en ce qui concerne la majorité des paramètres, à l'exception de l'aluminium. Pour ce qui est de l'oxygène dissous, il s'est toujours situé près du taux de saturation (>100%) alors que la conductivité restait à peu près constante soit à 30 umho (résultats non présentés). Par contre le COD présentait beaucoup de variations, même si les moyennes totales ne variaient pas entre les trois auges (environ 0.5 mg/L). Le pH est resté assez constant tout le long de l'expérience. Les concentrations en calcium étaient relativement faibles ($4*10^{-5}$ M), et les concentrations en fluorures étaient sous le seuil de détection ($2.63*10^{-7}$ M).

3.1.1 SPECIATION DE L'ALUMINIUM

La spéciation à l'équilibre de l'aluminium inorganique a été calculée à l'aide du modèle d'équilibre chimique MINEQL (Westall et al., 1976). La spéciation théorique

de l'aluminium est calculée pour chacune des auges et ceci durant la période de traitement et durant celle de la dépuration (tableau 6). Ce tableau permet d'identifier la fréquence d'apparition des différentes formes chimiques d'aluminium monomère inorganique selon les caractéristiques bien précises de chacune des auges et de chacune des périodes expérimentales.

Pour une force ionique constante de $5.5*10^{-4}$ M, une concentration en calcium de $4.00*10^{-5}$ M, une concentration en sulfate de $1.04*10^{-4}$M et une concentration en fluorures sous la limite de détection ($5.3*10^{-7}$ M[10]), on a calculé la spéciation de l'aluminium pour les différentes concentrations d'aluminium monomère inorganique mesurées (Al_{mes}-Al_{mes+R}) et selon les différents pH.

A pH 6.7, dans l'auge 1, l'aluminium est principalement présent à 96% sous la forme anionique d'$Al(OH)_4^-$ et

---

[10]: On utilise la moitié de cette limite de détection pour le calcul de la spéciation afin de considérer la présence de fluorure qui ne serait pas détecté par notre méthode ($2.6*10^{-7}$ M)

TABLEAU 6: Spéciation de l'aluminium calculée avec le programme MINEQL pour chacune des auges expérimentales en considérant la posssibilité de précipitation.

Auge / Période	pH	Al_{CV-CVR}	% relatif						
			Al^{+3}	$Al(OH)^{+2}$	$Al(OH)_2^{+}$	$Al(OH)_4^{-}$	AlF^{2+}	AlF_2^{+}	$AlSO_4^{+}$
1 traitement	6.7	1.4E-8			4	96			
dépuration	6.7	5.5E-8			4	96			
2 traitement	5.0	7.8E-7	29	27	19		21		4
dépuration	5.0	2.7E-7	24	22	16		33	2	3
3 traitement	5.0	2.4E-6	34	31	22		9		4
dépuration	5.0	6.4E-7	29	26	18		23		4

seulement à 4% sous forme dihydroxo-complexes $Al(OH)_2^+$. Cette distribution est valable indépendamment de la période correspondant au traitement ou à la dépuration. Même si la concentration en aluminium monomère inorganique mesurée est de 4 fois plus élevée durant la période de depuration, la spéciation de l'aluminium n'est pas affectée.

A pH 5, par contre, on calcule que l'aluminium se retrouve sous beaucoup plus de formes différentes, dont majoritairement sous la forme ionique libre (Al^{+3} :29%). Même si la concentration en fluorures est faible, l'aluminium est complexé à ce dernier et les fluoro-complexes représentent 21% des formes présentes. L'importance relative des fluoro-complexes est d'autant plus élevée que la concentration de l'aluminium est plus faible (voir auge 2, traitement vs dépuration). A des concentrations plus élevées en aluminium (auge 3, traitement) , le pourcentage de l'aluminium lié au fluor est diminué au profit de l'ion libre (34%), de l'$Al(OH)^{+2}$ (31%) et de l'$Al(OH)_2^+$ (22%).

Durant la période de dépuration, la spéciation de l'aluminium est semblable dans les auges 2 et 3: à-peu-

près les mêmes conditions y prévalent. Il semble que l'aluminium lié aux poissons pourrait contribuer à la concentration d'aluminium retrouvée dans l'auge 3 puisque celle-ci est supérieure à ce qu'on a dans l'auge 2 sous les mêmes conditions de pH.

Il est à noter que dans aucun des cas, les calculs n'ont prédit la précipitation d'aluminium. Tel que voulu par le protocole expérimental, ceci signifie que le milieu synthétique était sous-saturé en aluminium inorganique monomère, empêchant ainsi toute précipitation et conséquemment toute perte ou diminution de la disponibilité de l'aluminium pour les alevins. Ce dernier point correspond à une amélioration du protocole expérimental par rapport à d'autre études du même genre (Brouard et al. 1985 et Baker et al. 1982, par exemple) où la possibilité de précipitation dû à une sursaturation d'aluminium était négligée.

3.2 SURVIE ET CROISSANCE

3.2.1 SURVIE

Le tableau 7 présente les résultats de mortalité absolue et cumulative pour les alevins de la rivière aux Rochers et pour les alevins de la rivière De la Trinité durant les périodes de traitement et de dépuration. On observe la même tendance chez les deux souches (R. aux Rochers et R. De la Trinité), soit une mortalité plus élevée dans l'auge 3 (pH5+Al). Chez la souche Aux Rochers, aucune mortalité ne fut observée lors de la période de dépuration tandis que chez la souche De la Trinité le degré de mortalité fut le même durant la période de traitement et celle de dépuration (figure 7).

Même en considérant les valeurs extrêmes, les mortalités sont relativement faibles (< 6%) (Brouard et al., 1985). Par contre, les valeurs absolues de mortalité sont nettement plus élevées dans l'auge 3 par

TABLEAU 7: MORTALITE DES ALEVINS VESICULES DE SAUMON DE L'ATLANTIQUE AU COURS DES PHASES DE TRAITEMENT ET DE DEPURATION

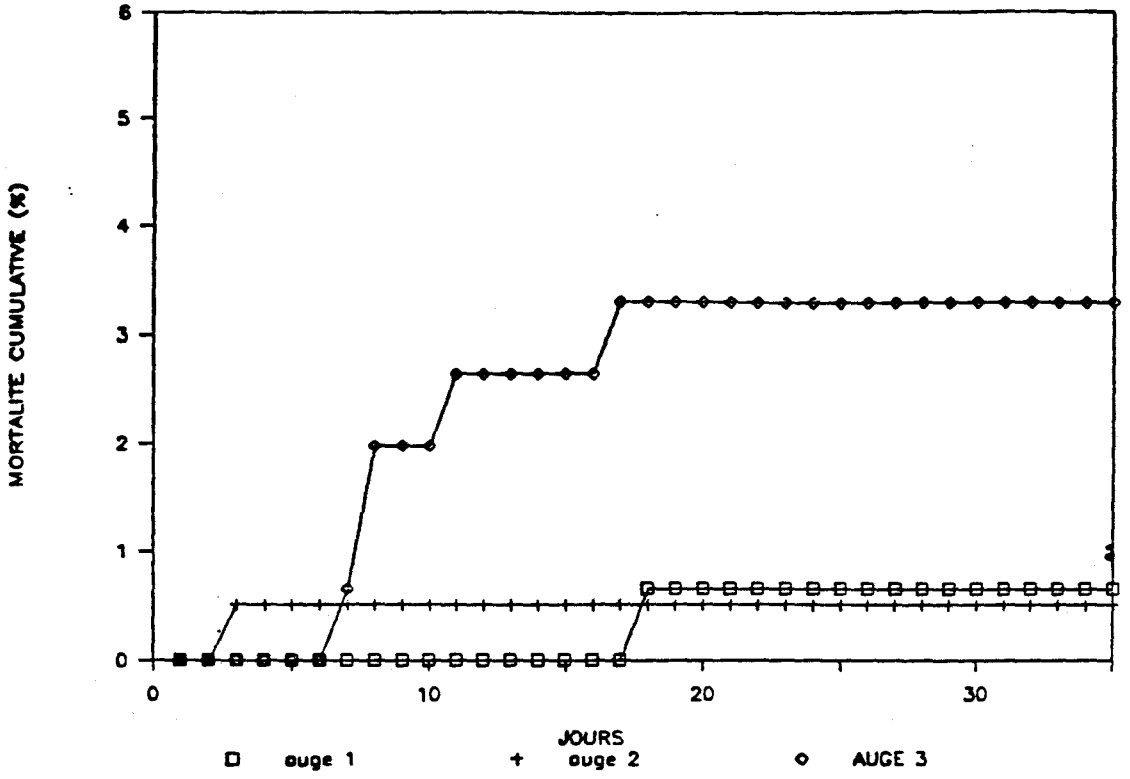
rivière aux Rochers

Période	Auge	Mortalité absolue (n)	Mortalité cumulative (%)
traitement (30-05 au 16-06-86)	1 (témoin)	1	0.66
	2 (pH=5)	1	0.51
	3 (pH=5+Al)	5	3.29
dépuration (17-06 au 04-07-86)	1 (témoin)	0	0.66
	2 (pH=5)	0	0.51
	3 (pH=5+Al)	0	3.29

rivière Trinité

traitement (30-05 au 16-06-86)	1 (témoin)	1	0.38
	2 (pH=5)	1	0.37
	3 (pH5 +Al)	7	2.71
dépuration (30-05 au 16-06-86)	1 (témoin)	0	0.38
	2 (pH=5)	1	0.74
	3 (pH5+Al)	7	5.43

A: Souche aux Rochers



B: Souches De la Trinité

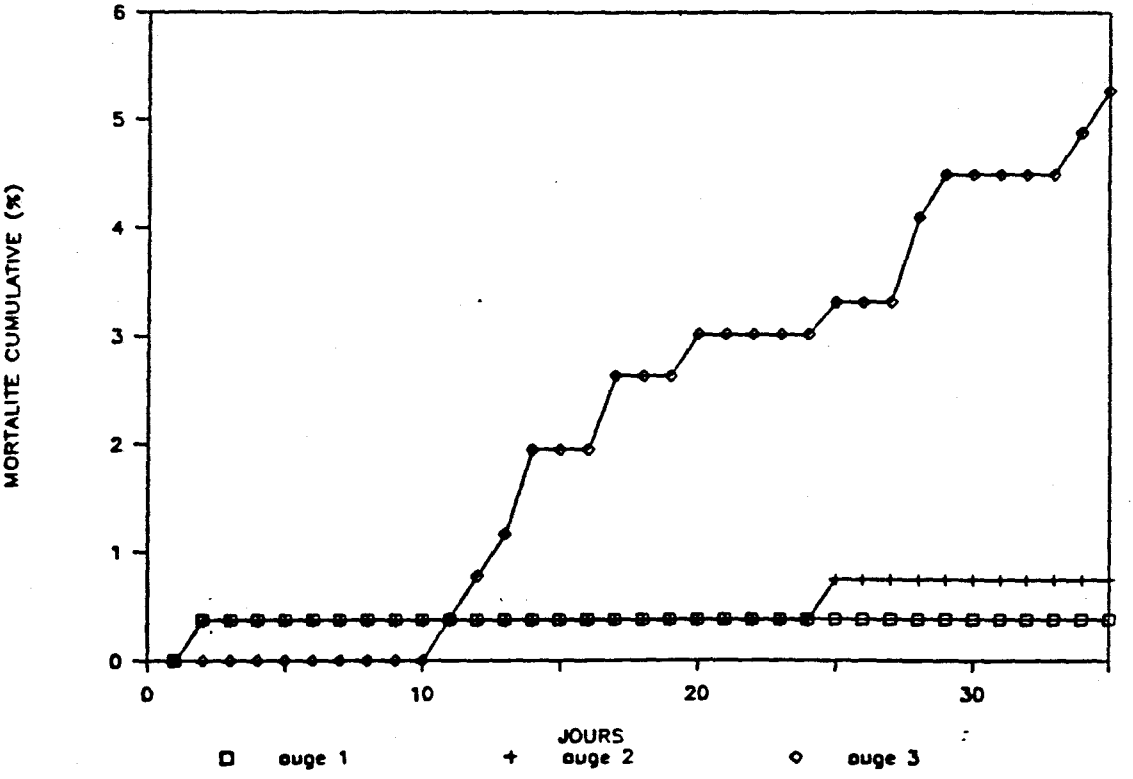


Figure 7: Variation temporelle des mortalités cumulatives pour les alevins dans chacune des auges, et pour les deux souches.

rapport aux deux autres. De cette façon on ne peut rejeter catégoriquement la possibilité de l'effet toxique de l'aluminium sur nos alevins vésiculés. Le taux de mortalité demeure presque constant durant la période de traitement à l'aluminium (auge 3) pour les deux souches (figure 7).

3.2.2 CROISSANCE

Le poids sec des alevins a été calculé à partir du poids sec de l'échantillon divisé par le nombre d'alevins prélevés. L'évolution temporelle du poids sec des poissons est présentée aux figures 8 et 9. Tous les poissons ont perdu du poids entre le début et la fin de l'expérience (à l'exception de ceux faisant partie de la souche De la Trinité dans l'auge 3 (pH5+Al)), ce qui est à peu près normal puisque cette période correspond peu à peu à la période de résorption de la vésicule, et que les poissons n'étaient pas nourris. Aussi, selon Chou et Uthe (1986), des erreurs dues à la pesée du matériel plus ou moins sec pourraient en expliquer les fortes variations observées.

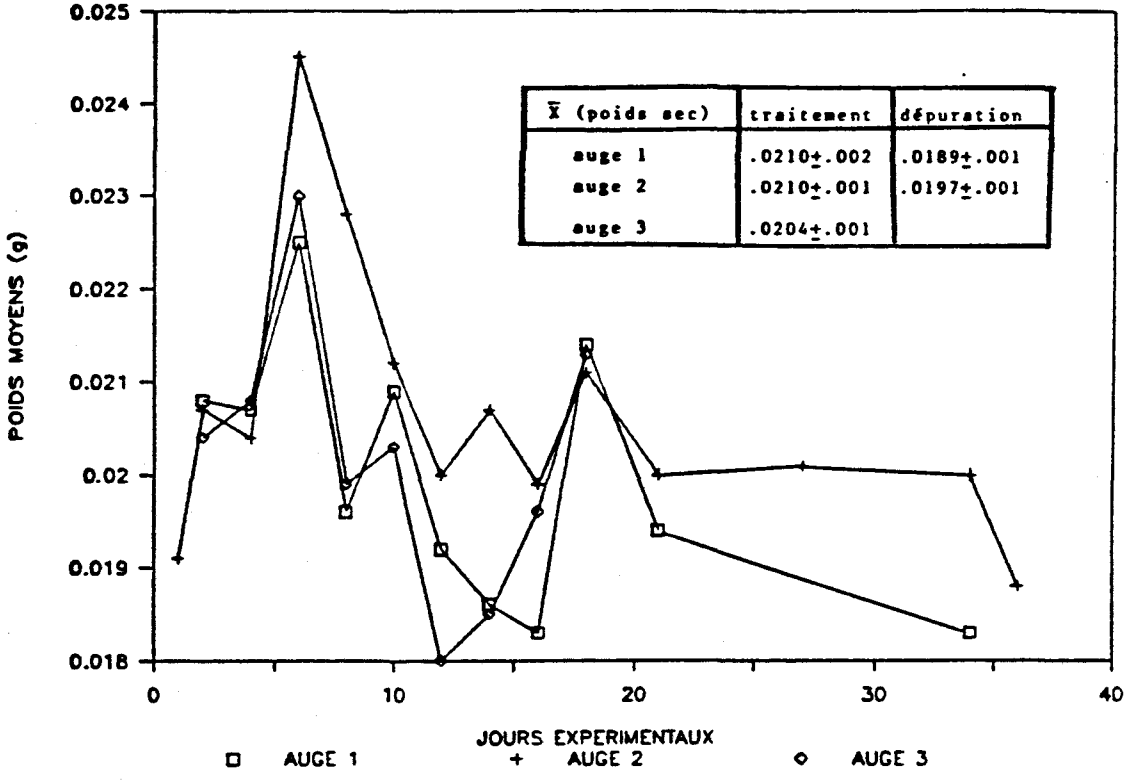


Figure 8: Poids sec moyen par alevin de saumon de la souche Aux Rochers.

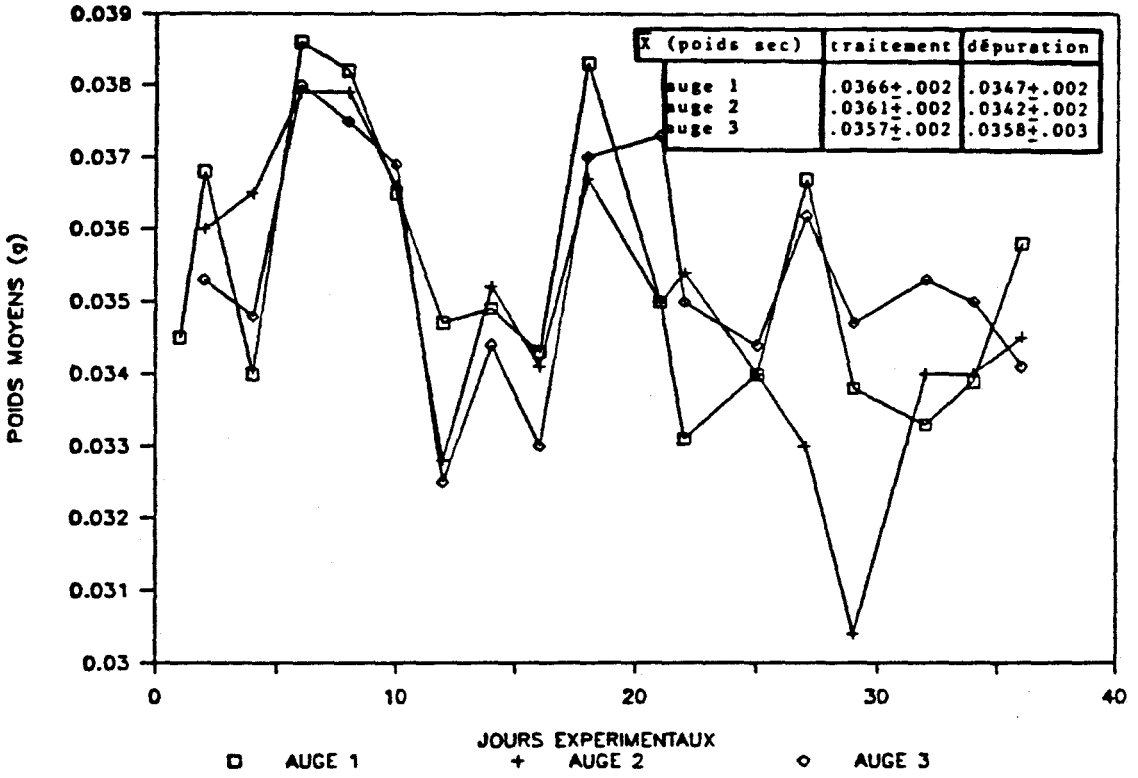


Figure 9: Poids sec moyen par alevin de saumon de la souche De la Trinité.

3.3 BIOACCUMULATION DE L'ALUMINIUM

Les figures 10 et 11 , présentent les résultats de l'accumulation de l'aluminium, durant la période de traitement et celle de dépuration, chez les alevins de la rivière Aux Rochers (figure 10) et chez les alevins de la rivière De la Trinité (figure 11). La variabilité entre les échantillonnages successifs pour chacune des auges est forte. En se référant à l'annexe 1 du présent rapport, on peut expliquer ces écarts comme étant liés à la variabilité analytique, à des erreurs expérimentales et de manipulation, ainsi qu'à la variabilité biologique elle-même.
Mentionnons qu'un des écarts observé dans les auges 1 et 3, celui du 16 juin, correspond à un ajout excessif d'aluminium qui avait eu lieu par mégarde la veille de l'échantillonnage.

L'aluminium dissous (voir figure 10), dans une eau acide (pH 5) inorganique, se concentre rapidement chez les alevins jusqu'à une concentration moyenne de 52 ± 19 ug par gramme de poids sec, lors de la période de traitement chez les alevins de la rivière Aux Rochers. Les variations observées dans les auges 1 et 2, ne sont pas significatives

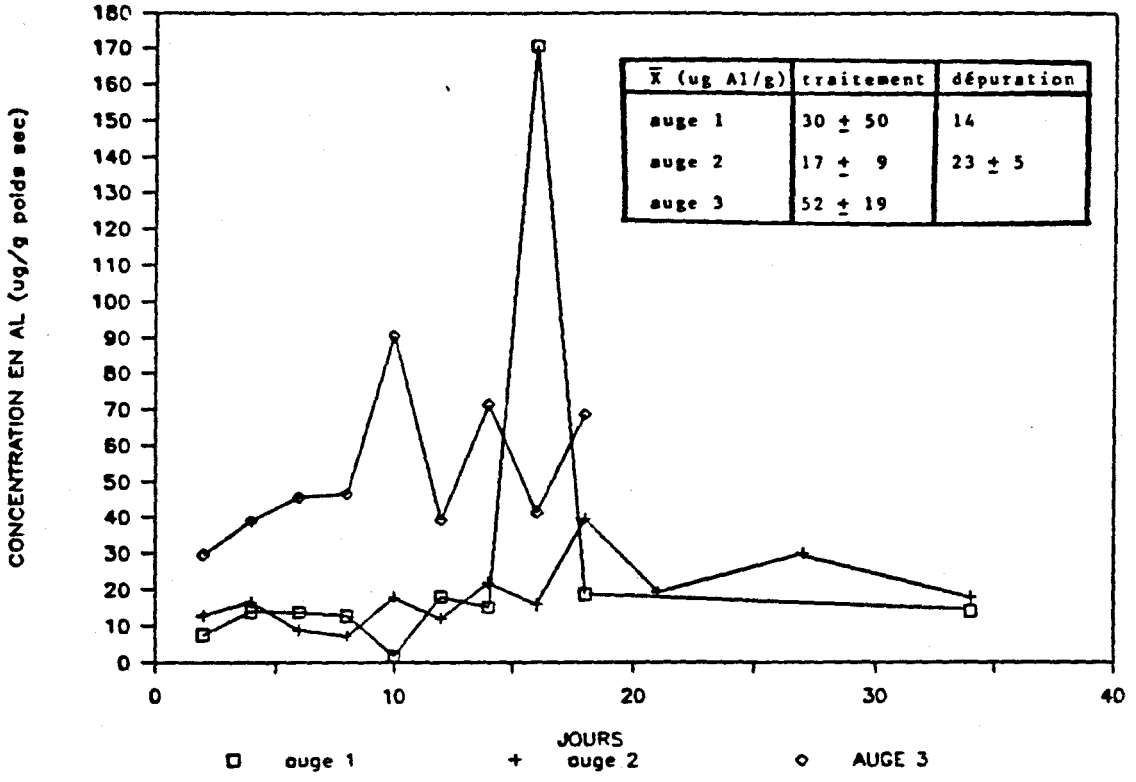


Figure 10: Contenu en aluminium (ug/g de poids sec) dosé chez les alevins de saumon de la souche Aux Rochers.

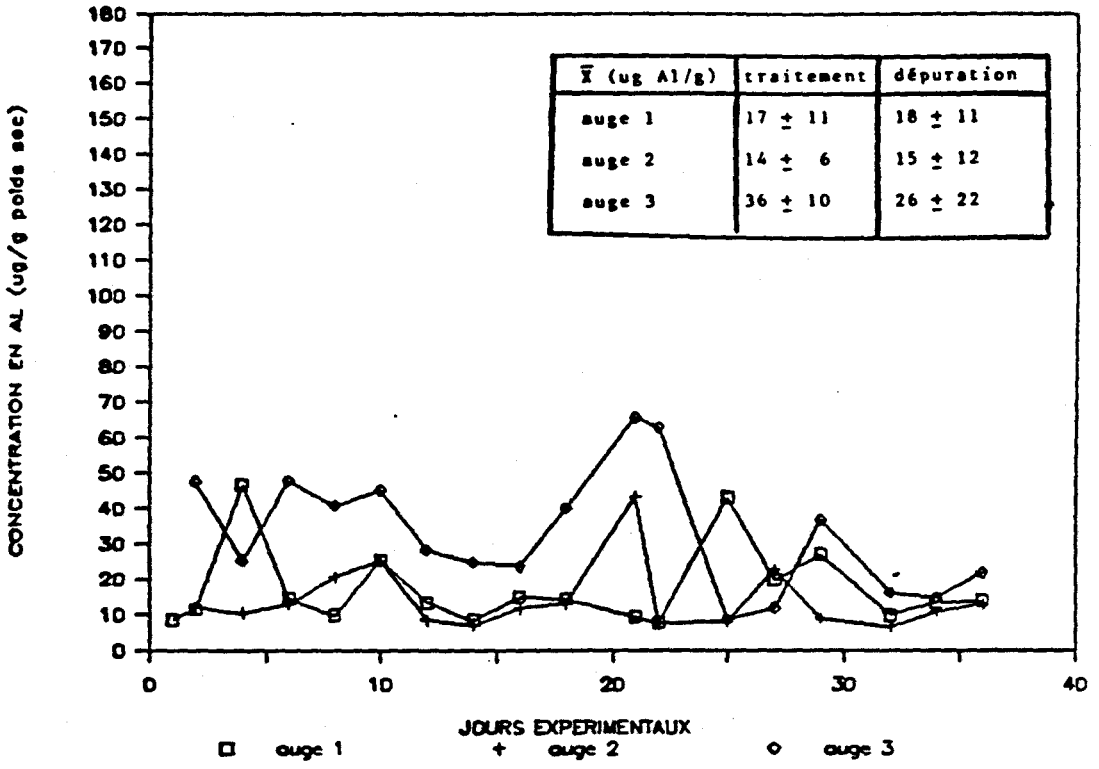
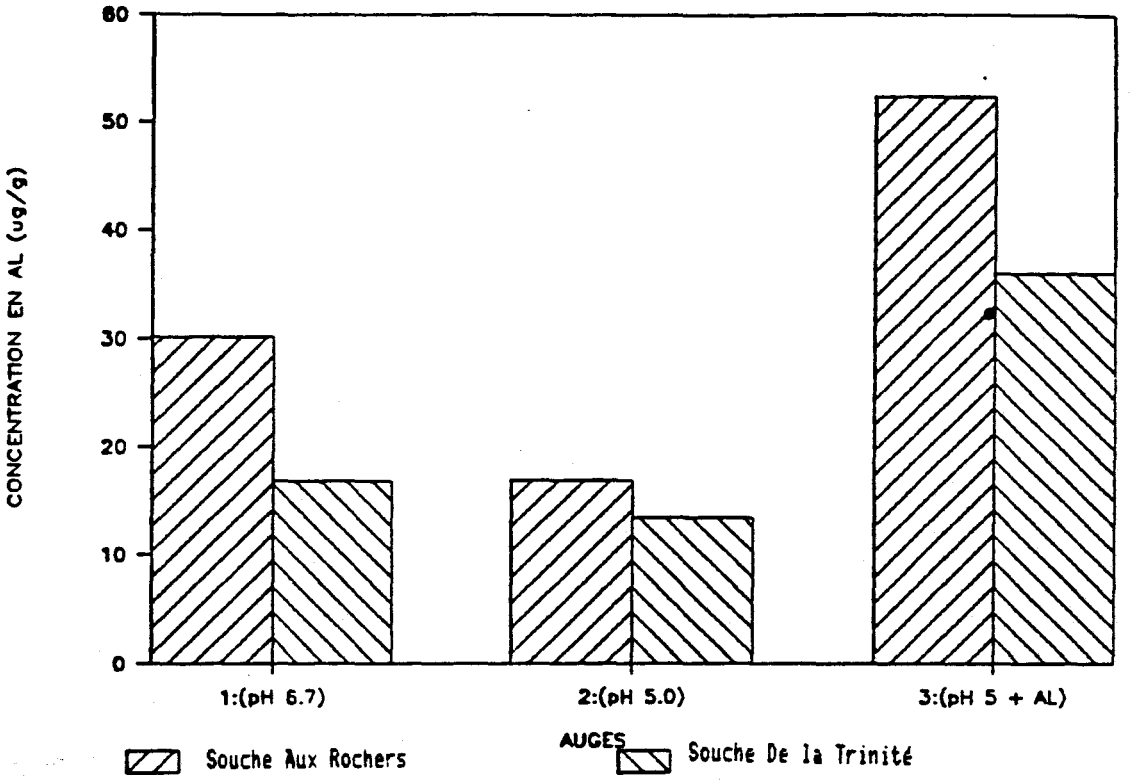


Figure 11: Contenu en aluminium (ug/g de poids sec) dosé chez les alevins de saumon de la souche De la Trinité.

($\alpha \leq$ 0.005, test de Kruskall Wallis). Chez les alevins de la rivière De la Trinité (figure 11), la teneur moyenne en aluminium est de 36 ± 10 ug/gramme de poids sec, pendant la période de traitement dans l'auge 3, soit plus de deux fois supérieure à celle qu'on retrouve dans les deux autres auges. Les courbes exprimant la concentration de l'aluminium ne sont pas linéaires, et tendent, plus ou moins nettement, vers l'atteinte d'un palier dans les jours de traitement. Ce phénomène, souvent décrit dans la littérature, est d'ailleurs utilisé comme indicateur de bioconcentration chez les poissons ("méthode du plateau" : Bishop et Maki, 1980). Cette tendance n'est pas aussi évidente en ce qui concerne les teneurs en aluminium. La bioconcentration est un indicateur de risque toxicologique (Boudou,1982). Pour le mercure par exemple, plus la concentration est élevée, plus le nombre de sites de fixation occupés par le métal, au niveau cellulaire, est grand.

On a calculé les facteurs de concentration de l'aluminium pour les alevins, à partir des valeurs moyennes d'aluminium assimilé divisées par les valeurs moyennes d'Al monomère inorganique (Alcv-Alcvr), disponibles dans le milieu (figure 12), (Hamelink, 1977). Ces facteurs calculés sont



FACTEURS DE CONCENTRATION	7553	4198	85	68	81	55

figure 12 Comparaison entre la bioaccumulation moyenne (période de traitement) de l'aluminium (ug/g de poids sec) de la souche Aux Rochers et celle De la Trinité, selon les trois auges expérimentales (incluant les facteurs de concentration).

supérieurs dans l'auge non acidifiée où aucun aluminium n'a été volontairement ajouté (1). En effet les valeurs calculées, pour les deux souches suivent la tendance suivante: auge 1> auge 2 = auge 3.

Sur la même figure (12), on peut faire des comparaisons entre l'aluminium pris en charge par les alevins des deux souches compte tenu de la différence dans leurs poids moyens. La concentration d'aluminium pris en charge, en moyenne, lors de la période de traitement est supérieure (test de Kruskall-Wallis. $\alpha \leq 0.005$) chez les petits alevins comparativement aux gros. Boudou (1982), avait fait ressortir les mêmes tendances pour le mercure. La contamination par voie directe, chez les poissons d'eau douce, selon lui, repose essentiellement sur la pénétration du métal aux niveaux cutanéo-muqueux et surtout branchial. Les organismes de faible poids ont une surface d'échange, avec le milieu environnant, qui est proportionnellement plus importante que ceux dont le poids est élevé. Cette règle, souvent décrite (Phillips, 1969), contribue donc à modifier les transferts à travers des barrières biologiques et explique la relation négative observée entre le poids et la concentration.

3.3.1 ALUMINIUM NON-EXTRACTIBLE A L'EDTA

Les moyennes et les écarts types des concentrations d'aluminium total, absorbé et adsorbé sont présentés au tableau 8. Les prélèvements ont eu lieu lors de la dernière journée de traitement, soit le 16-06-86. Les concentrations d'aluminium total et les concentrations d'aluminium absorbés ont été mesurés tel que decrit dans la section 3. Les concentrations d'aluminium adsorbé sont calculés par la différence entre la concentration d'aluminium total et la concentration d'aluminium absorbé ou non extractible à l'EDTA.

Ces résultats démontrent que près de 60% et plus de la totalité de l'aluminium est adsorbé, alors que 10 à 40 % est assimilé, ou bien très fortement lié au mucus qui recouvre les alevins à cette période de leur vie. Il semble aussi que cette adsorbtion soit plus élevée chez les petits poissons comparativement aux gros.

TABLEAU 8: Concentration de l'aluminium (moyennes et écarts types pour n=3) dans les alevins de saumon avant et après traitement à l'EDTA

Echantillon	Al total (ug/g)	Al absorbé (ug/g)	Al adsorbé (ug/g) (%total)
R. Aux Rochers			
auge 1 (témoin)	28 ± 20	2 (n=1)	26 (93%)
2 (pH 5)	40 ± 25	6 ± 0	34 (85%)
3 (pH 5 +Al)	69 ± 37	40 ± 6	29 (42%)
R. De la Trinité			
auge 1 (témoin)	15 ± 02	5 ± 0	10 (67%)
2 (pH 5)	13 ± 01	12 ± 0	1 (8%)
3 (pH 5 +Al)	40 ± 07	15 ± 2	25 (63%)

On ne peut expliquer la faible valeur observée pour les alevins provenant de la rivière Trinité et incubés dans l'auge 2 (TABLEAU 8).

4. DISCUSSION

4.1 PHYSICOCHIMIE DU MILIEU

La variabilité des concentrations en COD entre les auges ne nous permet pas de constater si la présence de matière organique dans l'eau tend à diminuer la toxicité de l'aluminium, qui deviendrait alors adsorbé sur des particules en suspension et complexé chimiquement à cette matière organique (Baker et Schofield, 1980; 1982; Van Coillie et al. 1983).

En ce qui concerne la speciation de l'aluminium inorganique monomère calculée (aluminium filtrable et réagissant avec la résine échangeuse de cations), dans l'auge 1 c'est la forme $Al(OH)_4^-$ qui prédomine nettement sur le dihydro-complexe $Al(OH)_2^+$. Quant aux fluoro-complexes AlF^{+2} et AlF_2^+, et aux sulfato-complexes $AlSO_4^+$, elles ne sont pas importantes

à pH 6.7. Il en est de même pour l'aquo-complexe Al^{+3} et pour l'hydroxo-complexe, $AlOH^{+2}$.

Dans l'auge 2 (pH=5, sans ajout d'aluminium) l'aluminium monomère inorganique se trouve principalement sous les formes Al^{+3}, $Al(OH)^{+2}$, $Al(OH)_2^{+}$ et AlF^{2+}. On retrouve le même type de distribution dans l'auge 3 où on a mesuré $2.4 \cdot 10^{-6}$ M d'aluminium monomère inorganique. On remarque qu'à cette haute concentration d'aluminium les fluorocomplexes sont moins importants au profit des formes libres et des hydroxo-complexes.

Les teneurs calculées et mesurées pour l'aluminium inorganique monomère (moyenne: 0.88 ug/L; maximum: 3 ug/L) dans l'auge témoin non-acide se situent à des concentrations très basses et de loin inférieures aux concentrations reconnues comme étant toxiques pour les salmonidés: cependant, dans les deux autres auges (auge2: de 15 à 21 ug/L; auge 3: 41 à 65 ug/L), les concentrations sont suffisamment élevées pour provoquer un stress considérable chez les poissons. Pour ce qui est des concentrations mesurées en aluminium dissous, la valeur moyenne étant de 133 ug/L dans l'auge 3,

elle se situe bienau dessus de la valeur indicatrice de 80-100 ug/l d'aluminium total, qui, selon Van Coillie et al. (1983), provoque une toxicité sous-létale chez les tacons de salmonidés en eaux oligotrophes (Brouard et al. 1985).

4.2 SURVIE

Nos données permettent d'établir que l'abaissement du pH à près de 5.0 unités, durant 36 jours, n'influence guère le taux de mortalité des alevins vésiculés. En effet, le pourcentage de mortalité cumulative obtenu chez le groupe témoin acide (auge 2) se situe en deça de 1% (tableau 7), soit près de la valeur trouvée par Brouard et al. (1985) (pH 5.5) pour les oeufs de saumon post-fertilisés et embryonnés.

Muniz et Leivestad (1980) ont fait remarquer que souvent l'eau d'acidité naturelle était plus toxique que des solutions d'acide sulfurique diluée pour les poissons adultes ainsi que pour les oeufs, alevins vésiculés et non vésiculés de saumon atlantique. Ils rapportent que Daye et Garside (1977) avaient trouvé des limites inférieures de survivance d'alevins près du pH 4.0, lorsque testé avec de

l'eau de robinet acidifiée avec de l'acide sulfurique, alors que Bua et Snekvik (1972), avaient trouvé des limites de survie entre pH 5.0 et pH 5.5 en utilisant de l'eau acidifiée naturellement provenant de la rivière Mandal. C'est à partir de ces observations que Muniz et Leivestad ont fait l'hypothèse que l'eau des lacs et des rivieres acidifiées devait contenir certains agents toxiques autres que les ions hydrogène.

Selon Wood et McDonald (1981) l'exposition à un milieu acide aurait trois effets majeurs sur les branchies: i) une entrée passive de H^+ sous un gradient de concentration; ii) une inhibition des échanges actifs de Na^+/H^+ ou de NH_4^+, iii) une augmentation de la perméabilité passive de l'épithélium branchial aux Na^+, K^+ et Cl^- et peut-être d'autres ions qui diffuseraient vers l'extérieur à un taux plus ou moins élevé selon leur gradient de concentration. Une augmentation de la concentration extérieure en Ca diminuerait l'effet de l'acide en diminuant la perméabilité de la membrane branchiale, diminuant ainsi les pertes passives des ions sous leur gradient électrochimique respectif (McDonald et al., 1980).

Selon Muniz et Leivestad (1980), et Haines (1981), les effets les plus marqués de la combinaison H^+/Al surviendraient à pH 5.0 à des concentrations de 7.4 uM d'aluminium; d'après Neville (1985), qui a travaillé à à des concentrations plus faibles en aluminium (2.8 uM), c'est à pH 4.5 que se manifestent de tels effets maximum. Pour l'aluminium, les effets sur les branchies sont similaires aux effets dus aux ions hydrogène (Dalziel et al. 1986) et les mécanismes de toxicité les plus souvent proposés (Haines, 1981) sont l'asphyxie et un déséquilibre de la régulation ionique. Ils seraient dues directement à l'interaction de l'aluminium avec les membranes biologiques (branchie) tel que décrit dans Neville et Campbell (1987).

Le mode d'action toxique de l'aluminium a été étudié en Norvège en utilisant des ajouts continus de sulfate d'aluminium dans un système expérimental d'eau courante. Dans ces expériences, Muniz et Leivestad (1980), utilisant la truite brune (Salmo trutta), ont détecté une perte rapide des sels plasmiques à des niveaux toxiques d'aluminium et principalement à pH 5. La perte d'ions était plus faible à des pH moins élevés (4.3-4.5) et elle était négative à pH 6 et à pH 4, l'aluminium ayant un effet de protection par rapport aux

stress des ions hydrogène. Sadler et Turnpenny (1986) ont aussi observé sur la truite brune que l'aluminium était extrêmement toxique à des concentrations au-dessus de 20 ug/l à des pH de 4.4 à 5.2. Par contre la toxicité était réduite à des pH élevés (5.9 et 6.3). D'autres auteurs (Muniz et Leivestad, 1980) rapportent qu'en plus de provoquer une perte d'ions, l'aluminium à pH 5 provoquait une accumulation du mucus sur les branchies, de l'hyperventilation, une toux et un stress respiratoire. Selon eux, l'action toxique de l'aluminium se fait par un déséquilibre des échanges ioniques et par un stress au niveau respiratoire dû à l'accumulation de mucus sur les branchies. Pour leur part, Dalziel et al. (1986) ont observé que la présence d'aluminium à bas pH n'avait pas d'effets sur l'efflux[11] de sodium mais que ça inhibait significativement l'influx[12] de sodium à des concentrations de 8 uM à pH 4.5-4.0. D'après ces expériences il semblerait que l'action des ions H+ sur les branchies soit différente de l'action de l'Al. Dans ce cas, le calcium n'améliorerait pas l'inhibition d'influx de sodium par l'aluminium, mais il

---

[11] terme utilisé dans le sens de sortie ou de perte

[12] terme utilisé pour signifier entrée ou gain

réduirait l'efflux à bas pH et de cette façon aiderait à maintenir l'équilibre ionique.

Dans notre cas, l'ajout de 100 ug/L (soit une concentration sous léthale) au milieu expérimental (pH 5.0, eau très douce) a provoqué une plus grande mortalité chez les alevins, quoique cette mortalité soit en deça de 6%. Rosseland et al. (1986) ont observé à peu près le même pourcentage (5%), 49 à 70 heures après le transfert d'alevins de saumon dans un milieu acide avec 135 ug/l d'Al labile. Ces auteurs ont observé une perte rapide de chlorure plasmique chez les alevins en question. Pour notre part, la mortalité mesurée dans l'auge 3 pourrait être attribuable à la forte assimilation d'aluminium qui a été observée dans cette auge (voir plus loin).

De plus, Muniz et Leivestad (1980) ont observé une récupération du stress (enlèvement de mucus sur les branchies) lorsque les poissons passaient d'un milieu acide avec aluminium à un milieu de pH 6. Puisque, dans notre cas, le pH des auges restait le même pour les périodes de traitement et de dépuration, on n'a pas pu observer ce phénomène, du

moins pour les poissons provenant de la rivière De la Trinité.

4.3 BIOACCUMULATION DE L'ALUMINIUM

Alors que Brouard et al.(1985) n'avaient pu mesurer une assimilation d'aluminium chez les alevins vésicules que dans une seule auge acidifiée à un pH de 5.5 et contenant environ 100 ug/L d'Al (facteur de concentration de 50), on a pu dans notre cas observer des facteurs de concentration de l'ordre de 60 à 3500 dans les auges acidifiées ou non et avec ajout ou pas d'aluminium. Comme on l'a observé à la section 3.0, les facteurs de concentrations étaient plus élevés chez la souche de petits poissons comparativement aux gros. Cette valeur plus élevée chez les petits poissons peut être attribuée à leur rapport surface/volume, qui est plus grand. On pourrait alors suggérer qu'une plus grande surface pour un même nombre d'alevins (à peu près 10) peut accepter plus d'aluminium sur ses sites et ainsi augmenter la bio-concentration, d'autant plus que le mucus recouvrant les alevins est un bon accepteur de cations (McDonald , 1983). En effet, selon Harris et Hunt (1973), la couche de mucus qui recouvre les alevins est constituée

de complexes hydro-solubles de glycoprotéines qui, à cause de la présence de résidus d'acide sialique, a une charge négative (poly-anionique) à pH neutre (Kirshner, 1978). De sa nature poly-anionique, il permet de concentrer les cations et aider leur transport actif vers l'intérieur (McDonald, 1983). Miller et Mackay (1982) ont pour leur part trouvé que le mucus des poissons pouvait lier le cuivre à pH neutre, mais qu'il perdait entièrement ses pouvoirs de liaison à pH 3.5. Ceci pourrait expliquer pourquoi on obtient un facteur de concentration plus élevée à pH neutre (6.7-auge 1), comparativemnt à pH 5.0 (auge 2). Les groupes fonctionnels présents à la surface des branchies, qui sont impliqués dans la liaison de l'aluminium, peuvent aussi interagir avec d'autres cations, comme par exemple l'ion hydrogène (Neville et Campbell, 1987). Dépendamment des valeurs de pK des groupements fonctionnels impliqués, des variations de pH peuvent affecter le degré de protonation des sites de liaison de l'aluminium. Dans ce cas, le proton jouerait un role protecteur analogue à, mais différent de, celui que jouent les cations Ca^{2+} et Mg^{2+} (Campbell et Stokes, 1985). Certains auteurs ont d'ailleurs montré que l'aluminium pouvait diminuer la toxicité des ions hydrogène à pH 4.0 (Muniz et Leivestad, 1980; Schofield et

Trojnar, 1980; et Neville, 1985) quoique nos résultats ne l'aient pas démontré.

Pour ce qui est de la relation existant entre la bioaccumulation de l'aluminium et la spéciation de l'aluminium dans le milieu, on peut prévoir que ce sont les espèces Al^{+3}, $Al(OH)^{+2}$ et $Al(OH)_2^{+}$ qui sont principalement impliquées. Dans des publications récentes, on a souvent observé que la toxicité de l'aluminium chez les poissons ou autres organismes aquatiques était supérieure à des valeurs de pH intermédiaires, c'est-à-dire entre les pH 4.5 et 5.5 (Muniz et Leivestad, 1980; Helliwell et al., 1983, Neville et Campbell, 1987). On a donc interprété ces résultats comme étant la conséquence d'une plus forte toxicité ou d'une plus grande disponibilité des hydroxo-complexes d'aluminium (Helliwell et al., 1983). Une telle interprétation ne serait pas compatible avec les modèles courrants d'équilibre de métaux toxiques (Morel, 1983). En effet, aucune des formes hydroxy-complexes ne peut être pointée comme étant responsable de la bioaccumulation, et ce pour deux raisons principales selon Neville et Campbell (1987): 1) puisque, d'une part, l'équilibre entre les différentes espèces d'aluminium monomères décrites plus haut se fait rapidement

(Plankey et al. 1986), et 2) puisque, d'autre part, ce sont toutes des espèces portant une ou plusieurs charges, et que de telles espèces hydrophiles ne peuvent pas passer à travers les membranes biologiques par simple diffusion.

De plus, on a mesuré que 60% et plus de l'aluminium était adsorbé à la surface des alevins ou plutôt , était extractible à l'EDTA, ce qui nous suggère que peu d'aluminium a pu pénétrer à l'intérieur des alevins et que probablement toute forme cationique d'aluminium peut se lier plus ou moins fortement au mucus. Il aurait été intéressant de mesurer les concentrations d'aluminium dans les principaux organes des alevins afin de déterminer plus spécifiquement la bioaccumulation de l'aluminium puisque le mucus enveloppant l'animal en entier a pu apporter certains biais qu'on ne peut, ici , évaluer. Par ailleurs, Lee et Harvey (1986) ont exprimé que la mesure de la concentration de l'aluminium sur les branchies correspondait au meilleur indicateur de l'exposition d'un poisson à l'aluminium en milieu acide.

En ce qui concerne la période de dépuration, des mesures n'ont été prises que pour la souche De la Trinité. Les deux premières valeurs de bioaccumulation mesurées lors de la

période de dépuration sont anormalement élevées. On peut expliquer cette variation aberrante par l'effet de l'ajout erronné de 200 ug/L d'aluminium le 15-06-86 (voir la figure 5).

Même si les valeurs présentes sur la figure 11 semblent élevées au début de la période de dépuration, on a pu mesurer une désorption d'aluminium significative ($\alpha \leq 0.005$) de la part des alevins quelques jours seulement après l'arrêt du traitement. Cette observation s'avère très importante si elle se répète en milieu naturel. En effet, l'impact des concentrations élevées en aluminium liées aux précipitations acides sur les alevins de saumon pourrait ainsi être amoindri si ces derniers sont capables de récupérer peu de temps après un évènement acidifiant. Il serait intéressant de pousser un peu plus la recherche afin de vérifier si la désorption d'aluminium observée est due à un processus physiologique de la part de l'alevin, l'éternuement par exemple, ou bien à un mécanisme purement chimique.

5.0 CONCLUSION

Les expériences que nous avons réalisées en milieu défini, ont permis de faire ressortir les points suivants:

- A un pH 5 avec 135 ug/L d`aluminium, on obtient une certaine mortalité des alevins quoique faible (<6%).

-Qu`il y avait influence du pH sur le facteur de concentration de l`aluminium, les ions hydrogène entrant en compétition avec l`aluminium et offrant ainsi une protection vis-à-vis de l`aluminium pour les alevins.

-L`aluminium qu`on mesure comme bio-accumulé est en fait en grande partie adsorbée (extractible à l`EDTA).

-Nos résultats ont pu démontrer significativement ($\alpha \leq 0.005$) qu`il y avait désorption de l`aluminium provenant des alevins très tôt dans la période de dépuration.

6.0 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agemian, H., D.P. Sturtevant et K.D. Austen, 1980. Simultaneous acid extraction of six trace metals from fish tissue by hot-block digestion and determination by atomic-absorption spectrometry. Analyst, 105: 125-130.

Baker, J.P., 1982. Effects on fish of metals associated with acidification, p. 165-176, In: Proc. Int. Conf. on Acidic Precipitation and Fishery Impacts in Northeastern North America. Ithaca, New York, August 2-5, 1981.

Baker, J.P. et C.L. Schofield, 1980. Aluminium toxicity to fish as related to acid precipitation and Adirondack surface water quality, p. 292-293, In: Drablos, D. et A. Tollan (eds) Ecological Impact of Acid Precipitation. SNSF-Project. Sandefjord, Norway. 383 p.

Baker, J.P. et C.L. Schofield, 1982. Aluminium toxicity to fish in acidic waters. Water Air Soil Pollut., 18: 289-309.

Bates,S.S., M. Létourneau, A. Tessier, et P.G.C. Campbell, 1983. Variation in zinc adsorption and transport during growth of Chlamydomonas variabilis (Chlorophyceae) in batch culture with daily addition of zinc. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40:895-904.

Bishop, W.E. et A.W. Maki, 1980. Critical comparaison of two bioconcentrations test methods. In: J.G.Eaton, P.R. Parrik et A. C. Hendricks, (ed).Aquatic toxicology. American Society for Testing and Material. Baltimore, p. 61-78.

Booth, J.H., G.F. Jansz et G.F. Holeton, 1982. Cl-, K+ and acid-base balance in rainbow trout during exposure to and recovery from syblethal environmental acidification. Can. J. Zool., 60: 1123-1130.

Boudou,A. 1982. Recherches en écotoxicologie experimentale sur les processus de bioaccumulation et de transfert des dérivés du mercure dans les systèmes aquatiques continentaux. Thèse de doctorat d'Etat ès Sciences. Université de Bordeaux 1.

Brouard, G., Y. Roy, C. Thellen et D. Dussault, 1985. Les spéciations acides et la survie du saumon atlantique: essai de modélisation pour un bassin versant de la Côte-Nord du Saint-Laurent. Rapport sectoriel 2: Evaluation

écotoxicologique. Rapport de Gilles Shooner et Ass. inc. au ministère des Pêches et des Océans du Canada. 61 p. et annexe.

Brouard, D., M.Lachance, G. Shooner et R. Van Coillie, 1982. Sensibilité à l'acidification de quatre rivières à saumons de la Côte Nord du Saint-Laurent (Québec). Rapp. Tech. Can. Sci. Halieut, Aquat., no 1109: v + 56 p.

Bua, B. et E. Snekvik, 1972. Klekkeforsok med rogn av laksefisk 1966-1971. Virkning av Surhet og Saltinnhold i klellevannet. (Hatching experiments with Roe from Salmonid Fishes 1966-1971. Effects of Acidity and Dissolved salt in the water) vann 7: 86-93.

Campbell, P.G.C. et P.M. Stokes, 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42: 2034-2049.

Campbell, P.G.C., R. Bougie et A. Tessier, 1984. Comportement géochimique de l'aluminium dans les eaux de la riviere Cassette (bassin de la riviere des Escoumins) au cours de la fonte printanière 1984. INRS-Eau, rapport scientifique no 174 pour le ministère des Pêches et des Océans du Canada. 38 p.

Chou, C.L. et J.F. Uthe. 1986. Factors affecting the measurement of trace metals in marine biological tissue. Aquatic Tocicity Workshop, 1986, Moncton.

Dalziel, T.R.K., R.Morris and D.J.A. Brown, 1986. The effects of low pH, low calcium concentrations and elevated aluminium concentrations on sodium fluxes in Brown Trout, Salmo trutta L., Water, Air. and Soil Pollution 30 : 569-577.

Daye, P.G. and E.T. Garside, 1977. Lower lethal levels of pH for embryos and alevins of Atlantic salmon (Salmo salar L.). Can. J. Zool., 55:1504-1508.

Daye, P.G. 1980. Attemps to acclimate embryos and alevins of Atlantic Salmon Salmo salar , and rainbow trout, S. gairdneri to low pH. Can J. Fish. Aquat. Sci., 37:1035-1038.

Dively, J.L., J.E. Mudge, W.H.Neff et A. Anthony, 1977. Blood PO_2, PCO_2 and Ph changes in brook trout (Salvelinus fonti-

nalis) exposed to sublethal levels of acidity. Comp. Biochem. Physiol., 57A: 347-351.

Driscoll, C.T. Jr., J.P. Baker, J.J. Bisogni Jr. et C.L. Schofield, 1980. Aluminium speciation in dilute acidified waters and its effects on fish. Nature (London), 284: 161-164.

Eddy, F.B., 1976. Acid-base balance in rainbow trout (Salmo gairdneri) subjected to acid stress. J. Exp. Biol., 64: 159-171.

Fromm, P.O., 1980. A review of some physiological and toxicological responses of freshwater fish to acid stress. Env. Biol. Fish., 5(1): 79-93.

Gunn, J.M. et W. Keller, 1986. Effects of acidic meltwater on chemical conditions at nearshore spawning sites. Water, Air, and Soil Pollution, 30:545-552.

Haines, T.A., 1981. Acidic precipitation and its consequences for aquatic ecosystems: a review. Trans. Amer. Fish. Soc., 110:669-707.

Hamelink, J.L., 1977. Current bioconcentration tests methods and theory. p. 149-161, In: Mayer, F.L. et J.L. Hamelink (eds), Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. American Society for Testing Materials. ASTM STP 634.

Harris, J., et S. Hunt, 1973. Epithelial mucins of the Atlantic salmon (Salmo salar L.) . Biochem. Soc. Trans., 1:153-155.

Harvey, H.H., R.C. Pierce, P.J. Dillon, J.R. Kramer et D.M. Whelpdale, 1981. Acidification in the canadian aquatic environment: scientific criteria for assessing the effects of acidic deposition an aquatic ecosystems. National Research Council of Canada. NRCC no 18475. 369 p.

Helliwell, S., G.E.Batley, T.M. Florence, et B.G. Lumsden, 1983. Speciation and toxicity of aluminum in a model fresh water. Environ. Technol. Lett., 4: 141-144.

Hendrey, G.R. et R. E.Wright, 1976. Acid precipitation in Norway. J. Great Lakes Res., 2: 192-207.

Hesthagen, T., 1986. Fish kills of Atlantic Salmon (Salmo salar) and brown trout (Salmo Trutta) in an acidified river of SW Norway. Water, Air, and Soil Pollution 30:619-628.

Hobe, H., C.M.Wood and B.R. McMahon, 1984. Mechanisms of acid-base and ionoregulation in white suchers (Catostomus commersoni) in natural soft water. 1. Acute exposure to low ambient pH. J. Comp. Physiol., B 154: 35-46.

Jeffries, D. S., Cox. C.M. et P.J. Dillon, 1979. Depression of pH in lakes and streams in central Ontario during snowmelt. J. Fish. Res. Board Can. 36:640-

Jensen, K.W., et E. Snekvik, 1972. Low levels wipe out salmon and trout populations in southern Norway. Ambio, 1: 223-225.

Kirschner, L.B., 1978. External charged layer and Na+ regulation. Dans Alfred Benzon Symposium XI. Osmotic and volume regulation. Academic Press, New York. pp. 310-321.

Lacroix, G,L., 1985. Survival of Eggs and Alevins of Atlantic Salmon (Salmo salar) in Relation to the Chemistry of Interstitial Water in Redds in some Acidic Streams of Atlantic Canada. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42:292-299.

Lacroix, G.L. Gordon, D.J. et D.J. Johnston, 1985: Can J. Fish. Aquat. Sci., 42:768-774.

Lee,c. et H.H. Harvey, 1986. Localization of aluminium in tissues of fish. Water, Air, and Soil Pollution 30:649-655.

Lloyd, R. et D.H.M. Jordan, 1964. Some factors affecting the resistance of rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson) to acid waters. Int. J. Air. Water. Poll., 8:393-403.

McDonald, D.G., 1983. The interaction of calcium and low pH on the physiology of the rainbow trout Salmo gairdneri. 1. Branchial and renal net ion and H+ fluxes. J. Exp. Biol., 102: 123-140.

McDonald, D.G. , R.L.Walker et P.R.H.Wilkes, 1983. The interaction of environmental calcium and low pH on the physiology

of the rainbow trout. 11. Branchial ionoregulatory mechanisms. J.Exp. Biol., 102:141-155.

McDonald, D.G. et C.M. Wood, 1981. Branchial and renal acid and ion fluxes in the rainbow trout (Salmo gairdneri) , at low environmental pH. J. Exp. Biol., 93:101-118.

McDonald, D.G. , Hobe, H. et C.M. Wood, 1980. The influence of calcium on the physiological responses of the rainbow trout, Salmo gairdneri, to low environmental pH. J.Exp. Biol., 88:109-131.

McKim, J.M., 1977. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. J.Fish. Res. Board Can., 34:1148-1154.

McWilliams, P.G., 1980. Effects of pH on sodium uptake in Norwegian brown trout (Salmo trutta) from an acid river. J. Exp. Biol., 88: 259-267.

Miller,T.G. et W.C.Mackay, 1980. Relationship of secreted mucus to copper and acid toxicity in rainbow trout . Bull. Environ. Contam. Toxicol., 28:68-74.

Morel, F.M.M., et N.M.L. Morel-Laurens, 1983. Trace metals and plankton in the oceans: facts and speculations, p. 841-869. Dans: Trace Metals in Sea Water, C.S. Wong, E. Boyle, K.W. Bruland, J.D. Burton et E.D. Goldberg (eds), Plenum Press, New York.

Muniz,I.P. et H. Leivestad, 1980. Acidification-effects on freshwater fish, p. 84-92. In: Proc. Int. Conf. Ecol. Impact Acid Precip. SNSF project, Oslo, Norway.

Neville,C.M. et P.G.C. Campbell, 1987. Proposed mechanisms of aluminium toxicity in a dilute, acidic environment to fingerlings and older life stages of salmonids. Water Air Soil Pollut. (soumis)

Neville, C.M., 1985. The physiological response of juvenile rainbow trout, Salmo gairdneri, to acid and aluminum-prediction of field responses from laboratory data. Can J. Fish. Aquat. Sci., 42: 2004-2009.

Packer, R.K., 1979. Acid-base balance and gas exchange in brook trout (Salvelinus fontinalis) exposed to acidic environment. J. Exp. Biol., 79: 127-134.

Peltier, W., 1978. Methods for measuring the acute toxicity to aquatic organisms. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio, EPA-600/4-78-012:52 p.

Peterson, R.H., P.G. Daye et J.L. Metcalfe, 1980. Inhibition of Atlantic salmon (Salmo salar) hatching at low pH. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37: 770-774.

Phillips A.M. Jr., 1969. Nutrition, Digestion, and Energy Utilization. p. 391-432. In: Hoard et Randall (ed), Fish Physiology, vol 1, Academic Press New-York.

Plankey, B.J. et H. H. Patterson. 1986. Kinetics of Aluminum Fluoride Complexation in Acidic Waters. Environ. Sci. Technol., 20:161-165.

Rogeberg, E.J.S. et A. Henriksen. 1985. An automatic method for fractionation and determination of aluminium species in fresh-waters. Vatten 41:48-53.

Rosseland, B.O., Skighei, O.K., Kroglund, F. et E. Hoell, 1986. Mortality and physiological stress of year-classes of landlocked and migratory Atlantic salmon, brown trout and brook trout in acidic aluminium-rich soft water. Water, Air, and Soil Pollution, 30: 751-756.

Rosséland, B.O. et Skogheim, O.K., 1984. Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm 61, 186.

Sadler K., et A.W.H. Turnpenny, 1986. Field and Laboratory studies of exposures of brown trout to acid waters. Water, Air, and Soil Pollution, 30:5 93-599.

Schofield, C.L., 1976. Acid precipitations: effects on fish. Ambio, 5: 228-230.

Schofield, C.L., 1981. Acid rain and Adirondack trout. Proc. Int. Conf. an acid rain and the Atlantic Salmon. International Atlantic Salmon Foundation. Special publication 10: 93-96.

Schofield, C.L. et J.R. Trojnar, 1980. Aluminium toxicity to fish in acidified waters, p. 341-346,In: Toribara, T.Y., M.W. Miller et P.E. Morrows (eds), Polluted rain. Plenum Press, New York, N.Y.

Sevaldrud et I.P. Muniz, 1980. Sure vatn innlandfisket i Norge, Tesultater fra interviuundersokelsene 1974-1979. SNS-projekt. IR77/80. p5 p.

Sunda, W.G. et S.A. Huntsman, 1983. Effect of competitive interactions between manganese and copper on cellular manganese and growth in estuarine and oceanic species of the diatom Thalassiosira. Limnol. Oceanogr., 28: 924-934.

Vaala, S.S. et R.B.Mitchel, 1970. Blood oxygen-tension changes in acid-exposed brook trout. Proc. Pennsylv. Acad. Sci., 44: 41-44.

Van Coillie, R., C. Thellen, P.G.C. Campbell et Y.Vigneault, 1983. Effets toxiques de l'aluminium chez les salmonidés en relation avec des conditions physico-chimiques acides. Rapp. Tech. Can. Sci. Halieut. Aquat., 1237: ix + 88p.

Westall, J.C., J.L. Zachary, et F.M.M. Morel, 1976. MINEQL, a computer program for the calculation of the chemical equilibrium composition of aqueous systems. MIT, Dept. Civil. Trans. R. Soc. Lond. B, 294:57-74.

Witters, H.E., 1986. Acute acid exposure of rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson: Effects of aluminium and calcium on ion balance and haematology., Aquatic Tocicology, 8:197-210.

Wood, C.M. et D.G. McDonald, 1981. Physiological mechanisms of acid toxicity to fish. In: Acid rain/ fisheries, Proceedings of an International Symposium on Acidic Precipitation and Fishery Impacts in North Eastern North America. Cornell University, Ithaca, New York.

7.0 ANNEXE 1 : SENSIBILITE DU SAUMON ATLANTIQUE AUX CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES ACIDES

DOSAGE DE L'ALUMINIUM DANS LES ALEVINS

Dans le but de doser l'aluminium présent dans les alevins, il a d'abord fallu choisir une méthode de digestion appropriée. Une méthode reconnue pour détruire complètement la matière organique dans ce type d'échantillons a été sélectionnée, afin d'éviter une dépense de temps à la mise au point de la procédure. Cette méthode d'Environnement-Canada (réf. 1) était recommandée pour le dosage des métaux traces suivants : Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn.

Une légère modification a été apportée au protocole, car le niveau d'aluminium prévu dans les échantillons digrés ne permettait pas d'utiliser du verre lors de la digestion à cause des risques de contamination. La méthode modifiée apparait en annexe 1.1.

Le dosage de l'aluminium était effectué par absorption atomique sans flamme (à four de graphite). Des essais ont d'abord été tentés en étalonnant avec des solutions d'aluminium dans une matrice semblable à celle des digestions. Il était toutefois

impossible de reproduire la matrice de chaque échantillon puisque la quantité de peroxyde ajoutée lors de la digestion variait d'un échantillon à l'autre. Les résultats obtenus montraient des variations impossibles à expliquer : il a alors été conclu qu'il y avait un effet de matrice non contrôlé. Des analyses ont alors été effectuées par ajouts dosés. De cette manière, les étalons sont ajoutés directement dans les échantillons: on peut supposer que la réponse de l'aluminium provenant de l'étalon et de l'échantillon est la même puisque le milieu est identique.

L'analyse par ajouts dosés est cependant fastidieuse (3 ou 4 fois plus longue que par étalonnage direct). Il semblait donc préférable de trouver un modificateur de matrice, pour tenter de mieux se débarasser de la matrice lors de l'étape de calcination précédent l'atomisation durant le cycle d'analyse. Un tel modificateur formé d'acide phosphorique a été essayé (réf. 2) et a donné des résultats comparables à ceux trouvés par ajouts dosés sur des échantillons d'alevins digérés (tableau 1).

Cette dernière technique a été utilisée pour toutes les analyses, mais aucun échantillon certifié n'était disponible pour vérifier la justesse des résultats. Les variations temporelles des teneurs en aluminium chez les alevins ainsi obtenues semblaient

encore difficiles à expliquer (tableau 2). A ce moment, une étude sur l'aluminium dans un échantillon biologique (hépatopancréas de homard, TORT-1) a permis d'obtenir une valeur quasi-certifiée (réf. 3). Il devenait alors possible de vérifier la justesse de notre méthode d'analyse (traitement d'échantillon et dosage d'aluminium). L'analyse de cet échantillon a montre que la récupération après digestion selon la méthode d'Environnement-Canada n'était que de 72 %. Elle a aussi montré que le fait d'utiliser un modificateur donnait une récupération de 31% , ce qui est loin d'améliorer la situation!

Dans la publication traitant de l'étude de l'aluminium dans l'échantillon TORT-1, Kratochvil et Motkosky (réf. 3) ont suggéré la présence de minéraux micro-particulaires contenant de l'aluminium dans ce type d'échantillons. Ils sugèrent alors de digérer les échantillons en employant de l'acide fluorhydrique (HF) et décrivent le protocole. Cette procédure apparait à l'annexe 1.2. Nous avons appliqué cette méthode pour digérer l'échantillon TORT-1 et nous avons trouvé la valeur attendue (tableau 3).

Tous les échantillons d'alevins digérés ont alors été évaporés à sec et digérés à nouveau en suivant la procédure décrite à

l'annexe 1.3. Ils ont ensuite été re-analysés et les résultats apparaissent au tableau 4.

Afin de faire le point sur les causes des écarts entre les échantillonnages successifs observés au cours de l'expérience, on a présenté au tableau 5 les coefficients de variation correspondant aux différentes causes de variation soupçonnées. Il semble évident que les alevins constituent un matériel difficilement estimable spécialement pour ce qui est de ses concentrations en aluminium.

REFERENCES

1. Environment Canada. Analatical Methods Manual, part 6, Trace Metals in fish, 1980.

2. Kraney, C.L., K. Swartout, F.W.Smith,III, et C.D. West. 1986. Improvement of Trace Aluminum Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrophotometry Using Phosphoric Acid. Analytical Chemistry, vol 58, p. 656-658.

3. Kratochvil, B. et N. Motkosky. 1986. Comparison of Instrumental Neutron Activation Analysis and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy for the Determination of Trace Aluminum Concentration and Homnogeneity in the Biological Reference Material TORT-1. Rapport non publié.

ANNEXE 1.1 : PROTOCOLE DE DIGESTION DES TISSUS DE POISSON

1. Mettre l'homogénat de poisson pesé (environ 5 g ou 0.2 g de matière sèche) dans un bécher de téflon de 100 mL.

2. Ajouter 2.5 mL d'acide nitrique concentré "Aristar" et 2.5 mL d'acide sulfurique concentré "Aristar".

3. Laisser la réaction se calmer (3 à 5 min) et placer les béchers sur une plaque chauffante à 60 °C, pendant 30 minutes.

4. Retirer les béchers de la plaque et refroidir 5 minutes.

5. Ajouter 5 mL d'acide nitrique concentré "Aristar".

6. Remettre les béchers sur la plaque et augmenter graduellement la température à 120°C, puis laisser bouillir jusqu'à évaporation visible de l'acid nitrique.

7. Augmenter la température à 150°C.

8. Retirer les béchers lorsque l'échantillon devient noir et laisser refroidir 5 minutes.

9. Ajouter 0.5 mL de peroxyde d'hydrogène 30%.

10. Remettre les béchers sur la plaque chauffante et répéter l'addition de H_2O_2 jusqu'à ce que l'échantillon soit clair.

11. Retirer de la plaque et refroidir.

12. Jauger à 25 mL dans un ballon de verre et transférer dans un contenant de plastique.

ANNEXE 1.2 : Protocole de digestion d'organismes aquatiques en vue du dosage de l'aluminium

1. Sécher l'échantillon à 23°C dans une étuve à vide pendant 24 heures avant la pesée.

2. Peser environ 35 mg d'échantillon à +/- 0.01 mg et transférer dans une bombe en téflon de 20 mL.

3. Ajouter 3 mL de HNO_3 concentré et 0.2 mL de HF (à cause de la présence possible de minéraux micro-particulaires contenant de l'aluminium).

4. Bien visser le couvercle de la bombe et mettre celle-ci dans l'eau bouillante pendant 3 heures.

5. Sortir la bombe, l'essuyer immédiatement et la laisser refroidir à la température de la pièce avant de l'ouvrir.

6. Transférer le contenu de la bombe dans une bouteille en téflon contenant 0.185 g de H_3BO_3 dans 5 mL d'eau (pour enlever l'excès de HF en le transformant en fluoroborate). Le poids de cette bouteille + H_3BO_3 doit être connu exactement.

7. Ajouter de l'eau pour avoir entre 15 et 25 mL de volume final en pesant la bouteille et son contenu. Calculer le volume exact en déterminant la densité à partir du poids de 1 mL de l'échantillon.

TABLEAU 1: COMPARAISON DES RESULTATS D'ANALYSE PAR AJOUTS DOSES ET PAR MODIFICATION DE MATRICE
(Resultats exprimés en ug/g de poids sec)

R. DE LA TRINITE	AJOUTS DOSES 1	2	MODIFICATEUR (H_3PO_4)
31-05;1	7.8	7.1	8.1
02-06;1	8.2		7.8
12-06;1	8.3	8.3	7.0
19-06;1	16.4	7.9	7.1
20-06;1	16.4	7.9	7.1
23-06;1	16.3	9.2	7.4
27-06;1A	8.4	9.3	10.5
27-06;1B	7.8		8.6
30-06;1	8.3	9.3	10.5
02-07;1	9.8	7.0	9.0
19-06;2	71.4	29.6	21.4
25-06;3	32.2	15.7	7.7
04-07;3A	30.1	15.0	11.5
04-07;3B	27.9	24.9	10.2

TABLEAU 5: Coefficients de variation évalués à partir de données (n) pouvant constituer des causes d'erreurs dans la mesure de la bioaccumulation de l'aluminium chez les alevins de saumon atlantique

CAUSES DES ECARTS	n	COEFFICIENTS DE VARIATION
IMPRECISION ANALYTIQUE	4	11 %
ECHANTILLONNAGE DES ALEVINS (16-06-86)	3	8 à 70 %
VARIABILITE BIOLOGIQUE: DU JOUR 1 AU JOUR 18	12	27 à 165 %