

Record Number:

Author, Monographic: Wilkinson, K. J.//Campbell, P. G. C.//Couture, P.

Author Role:

Title, Monographic: Biodisponibilité des fluoro-complexes d'aluminium chez les juvéniles du saumon atlantique, *Salmo salar*

Translated Title:

Reprint Status:

Edition:

Author, Subsidiary:

Author Role:

Place of Publication: Québec

Publisher Name: INRS-Eau

Date of Publication: 1989

Original Publication Date: Mars 1989

Volume Identification:

Extent of Work: iii, 101

Packaging Method: pages

Series Editor:

Series Editor Role:

Series Title: INRS-Eau, Rapport de recherche

Series Volume ID: 266

Location/URL:

ISBN: 2-89146-263-7

Notes: Rapport annuel 1988-1989

Abstract: Rapport rédigé pour le ministère des Pêches et Océans Canada
15.00\$

Call Number: R000266

Keywords: rapport/ ok/ dl

**Biodisponibilité des fluoro-complexes d'aluminium
chez des juvéniles du saumon atlantique, Salmo salar**

INRS-Eau, Rapport scientifique no R266

**Pour le ministère des Pêches et Océans du Canada
(Contrat no FP707-7-2356)**

**INRS-Eau
C.P. 7500
Ste-Foy, Québec
G1V 4C7**

**K.J. Wilkinson
P.G.C. Campbell
P. Couture**

Mars 1989

(i)

RESUME

Réalisées dans des conditions physicochimiques similaires à celles rencontrées dans les eaux courantes du Bouclier canadien au printemps, nos expériences ont eu pour but d'élucider l'effet de la complexation de l'aluminium par des fluorures sur sa toxicité envers le saumon atlantique (Salmo salar). Nous avons utilisé des tacons (âge 1+) dans une série d'expériences semi-statiques (renouvellement de l'eau deux fois par jour); les concentrations en ions majeurs étaient maintenues constantes (Σ cations = 0.25 mM) de même que le pH (4,5 ou 4,9) et la température (10°C) et ce, tout en variant les concentrations d'aluminium (0-12 μ M) et/ou de fluorures (0-20 μ M).

En suivant des paramètres létaux (e.g.: CL50-96 heures; CL50-7 jours; mortalité cumulative), on a pu démontrer que la complexation de l'aluminium inorganique par les fluorures réduit sa toxicité. Cependant, cette atténuation s'avère moins importante que celle prédite; en effet, la toxicité résiduelle de l'aluminium en présence de fluorures dépasse celle qui aurait été anticipée en fonction des concentrations de l'ion libre, $[Al^{3+}]$, et de ses hydroxo-complexes, $[Al(OH)_n]$.

L'étude de la bioaccumulation de l'aluminium dans les branchies suggère que la réponse biologique dépend de la concentration en aluminium «absorbé» (i.e., Al non-extractible à l'EDTA, 10^{-3} M). Par ailleurs, l'aluminium seul, tout comme la combinaison aluminium + fluorures, provoque une diminution du Na plasmatique, même à des conditions sous-létales. L'action toxique serait liée à une perturbation de l'osmorégulation qui mène à la mort des poissons.

La relation entre la réponse biologique et les concentrations en Al dans le milieu a été examinée en portant en graphique le pourcentage de mortalité en fonction de certaines fractions de l'aluminium inorganique. La meilleure relation prédictive est celle obtenue en exprimant le pourcentage de mortalité en fonction de Al^{3+} et $Al(F)^{2+}$. Un modèle des interactions entre l'aluminium et les branchies (-L-branchie), impliquant la formation de complexes mixtes à la surface de la branchie, a été élaboré pour expliquer cette relation.

ABSTRACT

One of the most frequently documented consequences of environmental acidification is the geochemical mobilization of aluminum. A drop in pH (especially during spring snowmelt) leads to both an important increase in the dissolved aluminum concentrations and to modifications in the speciation of this element. Equilibrium calculations indicate that fluoro-aluminum complexes will often be predominant during this critical period of low pH ($4.5 \leq \text{pH} \leq 5.5$).

In a series of semi-static experiments (duration 7d), the effect of fluoride complexation on aluminum toxicity towards juvenile Atlantic salmon (Salmo salar; age 1+) was evaluated in a synthetic medium similar to the soft, acidic water of the Canadian Shield during snowmelt. Major ion concentrations (Σ cations = 0.25 mM), pH (4.5 or 4.9), dissolved oxygen content ($10 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$), and temperature (10 ± 1 °C) were kept constant, while aluminum and fluoride concentrations were either individually or simultaneously varied.

LC50, cumulative mortality and gill-[Al] were employed to elucidate the effect of complexation by fluoride on aluminum toxicity. We were able to show that fluoride complexation attenuates the biological response to inorganic aluminum, though not to the extent predicted by the free-ion model of toxicity. Residual toxicity in the presence of fluoride ion was greater than could be attributed to the free aquo ion, Al^{3+} .

The relation between the biological response and aluminum concentrations was examined in a series of mortality-Al speciation diagrams. The percentage mortality (7 d) was best predicted as a function of Al^{3+} and $\text{Al}(\text{F})^{2+}$. Equilibrium models involving the formation of a mixed ligand complex at the gill surface were elaborated to explain this correlation. According to this model, the addition of fluoride results in the complexation of aluminum in solution and a concomitant decrease in the concentration of the aluminum-gill complex {Al-L-gill}. Nonetheless, the total gill [Al] is largely unaffected: an increase in the {F-Al-L-gill} concentration compensates for the decrease in [Al-L-gill].

Comparison of gill aluminum concentrations with observed fish mortality suggests that the biological response depends upon the 'absorbed' aluminum concentrations (i.e., non-EDTA extractible Al). It appears that mortality occurs if the fish accumulates a critical gill burden of aluminum over a given time interval. Moreover, gill-[Al] was often lower for the fish succumbing to a given treatment than for the tolerant fish remaining at the end of the exposure period. This suggests that fish exposed to sublethal aluminum concentrations can acclimate and hence accumulate significantly higher gill-[Al] than the critical gill burden.

Exposure to aluminum, or to a combination of aluminum and fluoride, leads to a decrease in the plasma sodium levels even for

(iii)

sub-lethal conditions. At pH 4.5 and 4.9, the toxic action appears to be due to a perturbation of the osmoregulatory system: aluminum concentrations as low as 1 μM or 2 μM adversely affected the salmon.

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
Résumé.....	(i)
Abstract.....	(ii)
1. Introduction	
1.1 Aspects géochimiques.....	1
1.2 Aspects toxicologiques	
1.2.1 Modélisation des effets biologiques de l'aluminium....	3
1.2.2 Effets biologiques des complexes de l'aluminium- revue de la littérature.....	9
(i) Plantes	
(ii) Bactéries	
(iii) Amphibiens	
(iv) Poissons	
1.3 Résumé.....	18
2. Objectif de l'étude.....	21
3. Méthodologie	
3.1 Transport et acclimatation.....	22
3.2 Conditions physicochimiques des solutions expérimentales	
3.2.1 Généralités.....	21
3.2.2 Détermination de l'Al.....	24
3.2.3 Détermination des fluorures.....	24
3.2.4 Détermination des ions majeurs.....	25
3.3 Tests de toxicité	
3.3.1 Tests létaux.....	25
(i) Mortalité	
(ii) Bioaccumulation branchiale d'Al	
3.3.2 Tests sous-létaux.....	26
(i) ATP	
(ii) Na plasmatique	
4. Résultats	
4.1 Conditions physicochimiques des solutions expérimentales	
4.1.1 Généralités.....	28
4.1.2 Concentrations moyennes d'aluminium et de fluorures...	30
4.1.3 Concentrations en ions majeurs.....	31
4.2 Tests de toxicité	
4.2.1 Tests létaux.....	32
(i) CL50	
(ii) Concentrations engendrant 0% et 100% de mortalité	
(iii) Mortalité cumulative	
(iv) Concentrations d'Al branchial	
4.2.2 Tests sous-létaux.....	39
(i) ATP	
(ii) Na plasmatique	
5. Discussion	
5.1 Conditions physicochimiques des solutions expérimentales.....	41

5.2	Tests létaux	
5.2.1	CL50.....	45
5.2.2	Concentrations engendrant 0% et 100% de mortalité.....	47
5.2.3	Mortalité cumulative.....	48
5.2.4	Modélisation.....	53
	(i) Généralités	
	(ii) Choix des paramètres du modèle	
	(iii) Résultats	
5.2.5	Bioaccumulation de l'aluminium.....	63
5.3	Tests sous-létaux	
5.3.1	ATP dans le muscle squelettique.....	64
5.3.2	Na plasmatique.....	66
6.	Conclusion.....	67
7.	Remerciements.....	70
8.	Références bibliographiques.....	71
9.	Annexes	
A.1	Introduction	
A1.1	Tableau récapitulatif.....	75
A.2	Méthodologie	
A2.1	Schéma analytique pour déterminer la spéciation de l'aluminium.....	77
A2.2	Méthodologie de digestion des branchies pour détermination de [Al].....	78
A2.3	Méthodologie pour la détermination de l'ATP du muscle squelettique.....	80
A.3	Résultats	
A3.1	Concentrations d'aluminium inorganique, de fluorures et de H ⁺ (pH).....	82
A3.2	Spéciation calculée des solutions expérimentales.....	87
A3.3	Mortalité du <u>Salmo salar</u>	91
A3.4	Concentrations d'aluminium branchial.....	96
A3.5	Concentrations de sodium plasmatique.....	98

LISTE DES FIGURES

	<u>Page</u>
Figure 1	Variation temporelle de la qualité de l'eau de la rivière De la Trinité..... 2
Figure 2	Variation temporelle de l'aluminium inorganique monomère..... 3
Figure 3	Quelques équilibres chimiques de l'aluminium dans les eaux naturelles..... 5
Figure 4	Représentation de l'interaction Al-branchie pour le modèle ion libre adapté..... 7
Figure 5	Variations de la longueur des racines de l'orge <u>Hordeum vulgare</u>12
Figure 6	Réponse toxique à l'aluminium avec le test Microtox.....15
Figure 7	Effet de la complexation de l'aluminium sur le taux de survie de <u>Salvelinus fontinalis</u>17
Figure 8	Concentrations en aluminium total et inorganique.....30
Figure 9	Mortalité cumulative (%) du <u>Salmo salar</u> (exp A).....34
Figure 10	Mortalité cumulative (%) du <u>Salmo salar</u> (exp F).....35
Figure 11	Mortalité cumulative (%) du <u>Salmo salar</u> (exp G).....35
Figure 12	Concentrations en aluminium branchial: traitement létal (exp B).....36
Figure 13	Concentrations en aluminium branchial: traitement sous-létal (exp B).....37
Figure 14	Concentrations en aluminium branchial: traitement létal (exp C).....37
Figure 15	Concentrations en aluminium branchial: traitement sous-létal (exp C).....38
Figure 16	Concentrations en aluminium branchial absorbé (exp B)....39
Figure 17	Variation de [Na] plasmatique (exp B).....43
Figure 18	Variation de [Na] plasmatique (exp C).....43
Figure 19	Variation de [Na] plasmatique (exp F et G).....43
Figure 20	Courbes de toxicité (exp B et C).....50
Figure 21	Courbes de toxicité (exp H et I).....50
Figure 22	Courbes de toxicité (exp B et C).....51
Figure 23	Courbes de toxicité (exp H et I).....51
Figure 24	Variation de la mortalité de <u>Salmo salar</u> en fonction de la spéciation de l'aluminium.....53
Figure 25	Quelques équilibres à la surface des branchies.....54
Figure 26	% de sites occupés par l'Al (modélisation 1).....59
Figure 27	% de sites occupés par l'Al (modélisation 2).....60
Figure 28	% de mortalité en fonction de Al inorganique (exp F)....60
Figure 29	% de sites occupés par l'Al (modélisation 3).....61
Figure 30	% de sites occupés par l'Al (modélisation 4).....62
Figure 31	% de mortalité en fonction de F ⁻ (exp A).....63

LISTE DES TABLEAUX

	<u>Page</u>
Tableau 1	Conditions expérimentales nominales.....23
Tableau 2	Concentrations des composants de l'eau synthétique.....23
Tableau 3	Concentrations en ions majeurs (station piscicole de l'Anse Pleureuse et Longueuil).....28
Tableau 4	Comparaison des masses moyennes, longueurs moyennes, et facteurs de conditions moyens.....29
Tableau 5	Contenu en ions majeurs de l'eau expérimentale.....31
Tableau 6	Comparaison entre les valeurs de CL50.....32
Tableau 7	Concentrations en Al provoquant 0% ou 100% de mortalité.....33
Tableau 8	Concentrations en ATP (exp B).....40
Tableau 9	Concentrations en ATP (exp C).....40
Tableau 10	Concentrations en ATP (exp G).....41
Tableau 11	Concentrations en ATP (exp H).....41
Tableau 12	Quelques réactions M^{Z+} + L-branchie et les constantes de formation correspondantes.....57

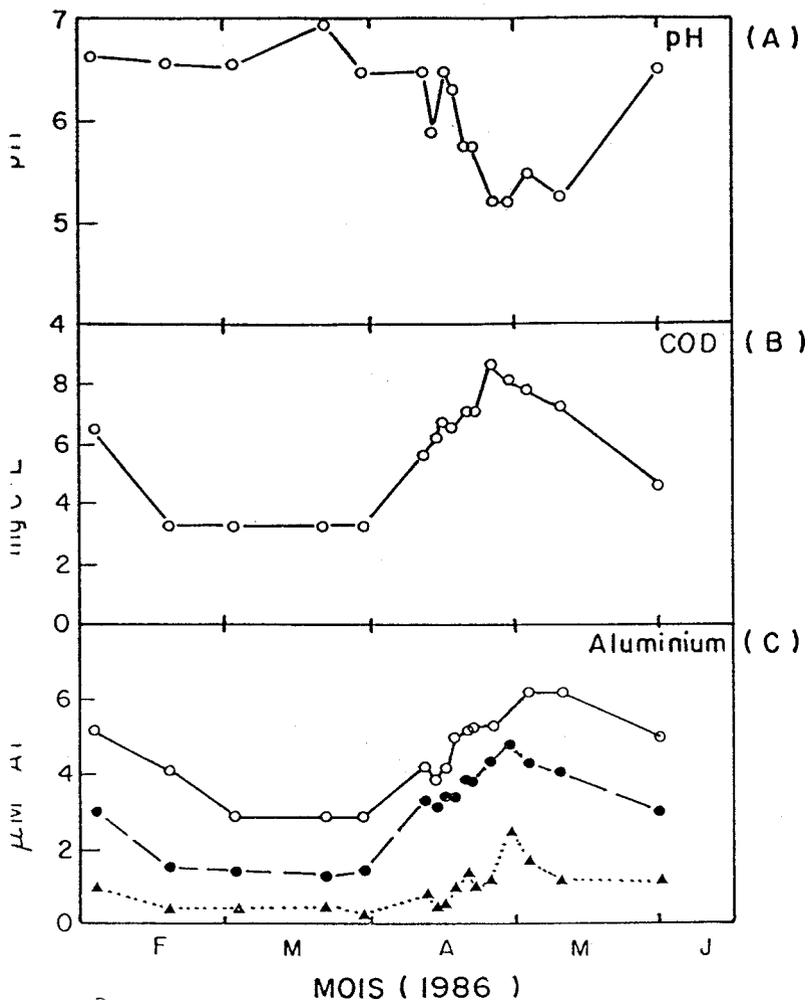
1. INTRODUCTION

1.1 Aspects géochimiques

Parmi les conséquences géochimiques de l'acidification des eaux naturelles, la mieux documentée est probablement celle impliquant la mobilisation de l'aluminium. Les eaux douces du Bouclier canadien possèdent un pouvoir tampon restreint, ce qui entraîne une sensibilité à l'acidification et de ce fait la présence de concentrations en aluminium parfois élevées. Dans ce contexte, les variations temporelles de pH sont d'une grande importance. En effet, l'apport de l'ion hydrogène au milieu aquatique augmente de façon marquée (i.e. Δ pH 1-2 unités) lors de la fonte printanière (Johannessen et al., 1978; Driscoll et al., 1980; Lachance et al., 1983; Hansen et Campbell, 1987); parallèlement, lors de cette période, on observe souvent une augmentation des concentrations en aluminium. Par exemple, pour un bassin versant situé dans les montagnes Adirondacks, Driscoll et al. (1980) ont observé au printemps des concentrations totales de 20 μ M d'Al, dont 12 μ M sous la forme d'aluminium inorganique monomère.

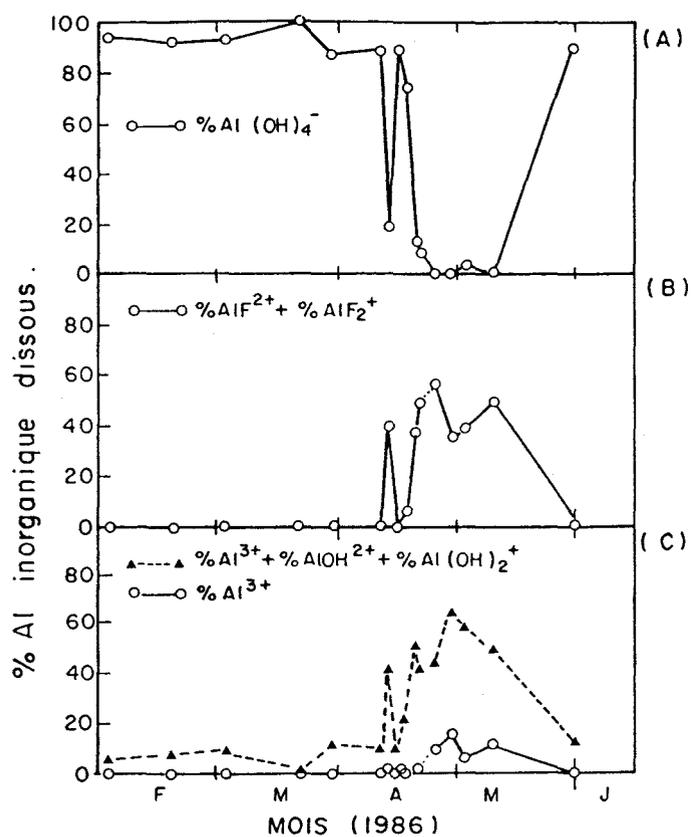
Les baisses de pH provoquent non seulement des concentrations plus importantes d'aluminium dissous, mais aussi une modification de la spéciation de cet élément (voir la figure 1). Pour l'aluminium inorganique, la forme anionique $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, qui prédomine pendant les périodes de pH neutre (≥ 6), devient minoritaire en milieu acide. Par ailleurs, dans leur étude sur un ruiseau dans les Adirondacks (New

York), Driscoll *et al.* (1980) ont signalé l'importance accrue des espèces AlF_x au cours de la baisse de pH au printemps, leurs calculs mettant en évidence la prédominance de ces fluoro-complexes. De même, dans le cas de trois rivières à saumon de la Côte-Nord du Golfe Saint-Laurent (rivières McDonald, Aux Rochers, de la Trinité), Campbell *et al.* (1989) ont signalé la contribution importante des fluoro-complexes AlF_2^+ et AlF_3^+ lors de la fonte printanière. Une variation de 2.9 à 10.5 μM d'Al a été enregistrée durant cette période, les fluoro-complexes représentant jusqu'à 60% de l'aluminium inorganique (voir la figure 2). Ceci met en évidence l'importance de déterminer la spéciation de l'aluminium plutôt que de restreindre l'effort analytique à la détermination des concentrations totales.



(A) Figure 1. Variation temporelle de la qualité de l'eau de la rivière de la Trinité (A) pH, (B) carbone organique dissous, (C) aluminium dissous: Al monomère inorganique (\blacktriangle); Al monomère total (\bullet); Al dissous total (\circ). Adapté de Hansen et Campbell, 1987.

Figure 2. Variation temporelle des différentes formes d'aluminium inorganique monomère dans la Rivière de la Trinité. Adapté de Hansen et Campbell, 1987.



1.2 Aspects toxicologiques

1.2.1 Modélisation des effets biologiques de l'aluminium

On associe les concentrations élevées d'acidité et d'aluminium à la toxicité importante observée chez plusieurs espèces aquatiques, notamment chez les poissons (Cronan et Schofield, 1979; Henriksen et al., 1984). La prédiction des effets biologiques de l'aluminium, à l'aide de la modélisation, nécessite certaines connaissances sur les mécanismes d'activité du métal. Une asphyxie et une détérioration de l'ionorégulation ont toutes les deux été proposées pour expliquer la mortalité des poissons en présence de l'aluminium (Haines, 1981). Dans

les deux cas, l'aluminium doit évidemment interagir avec une membrane biologique (branchie) pour provoquer une réponse toxique chez l'organisme cible. Cette interaction peut être représentée par la formation d'un complexe M-L-cellule (éq. 1) à la surface de la membrane comme il a déjà été proposé pour d'autres métaux tels le Cd, le Cu et le Zn (ici L-cellule = ligand cellulaire; K = constante de formation).



Selon ce «modèle de l'ion libre», élaboré par Morel (1983) et Pagenkopf (1983), la réponse biologique serait proportionnelle à la concentration du complexe à la surface de la membrane $[M^{Z+}\text{-L-cellule}]$ (éq. 2).

$$\text{réponse biologique} \propto [M^{Z+}\text{-L-cellule}] = K[L\text{-cellule}][M^{Z+}] \quad (2)$$

Cette approche s'est révélée utile pour expliquer la toxicité des métaux (autres que l'aluminium) chez plusieurs espèces d'organismes aquatiques (Nelson et al., 1981; Petersen, 1982; Morel et Morel-Laurens, 1983; Sunda et Huntsman, 1983) y compris les poissons (Pagenkopf, 1983). Ceci laisse présumer que la concentration en Al^{3+} pourrait être le meilleur prédicteur de la toxicité de l'aluminium.

L'importance de l'ion libre est souvent interprétée à tort comme étant la seule forme qui soit «disponible» pour l'organisme. Son importance vient plutôt du fait que la réactivité du métal est contrôlée

par l'équilibre chimique entre l'ion libre et les divers ligands cellulaires. L'effet physiologique dépendra de la concentration du métal libre, dans le milieu externe, indépendamment des autres formes du métal qui s'y trouvent. Dans la figure 3 on peut voir la dépendance de toutes les espèces d'aluminium sur l'ion libre.

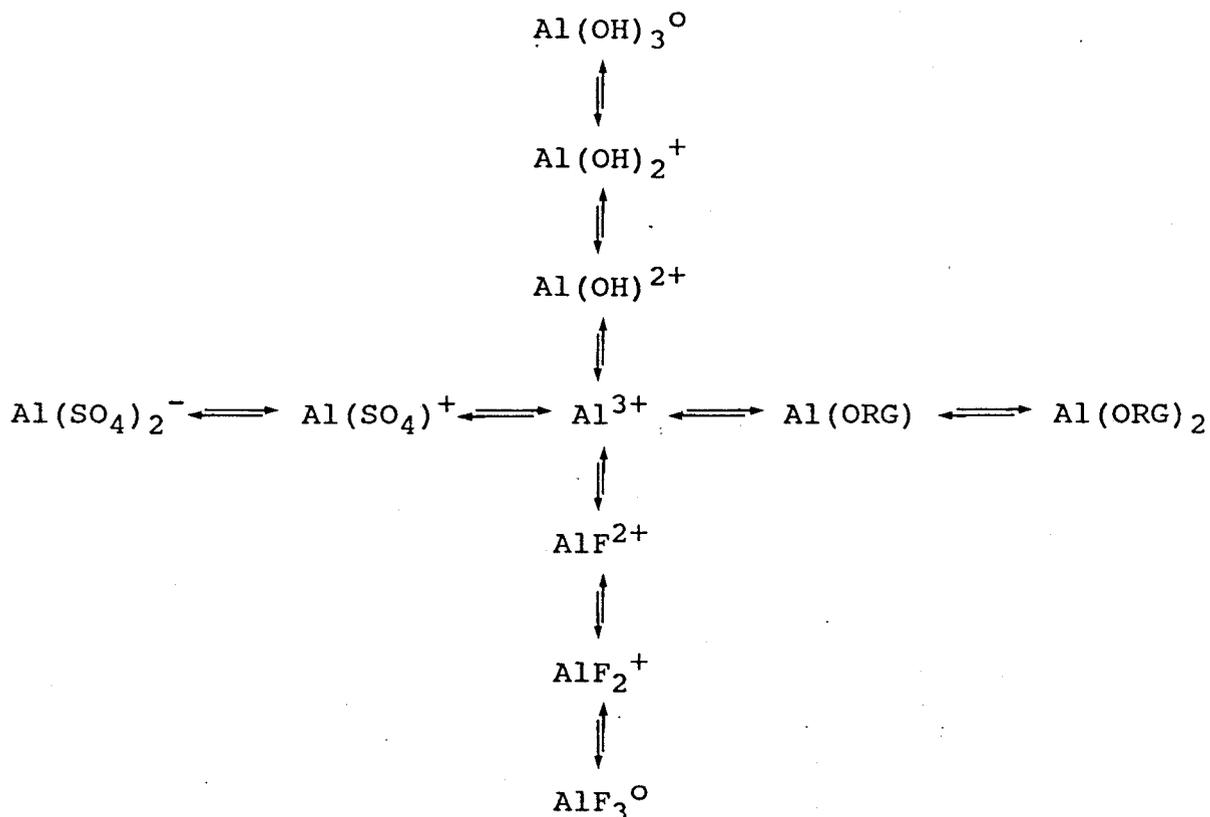
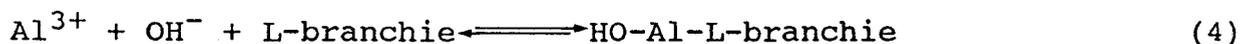
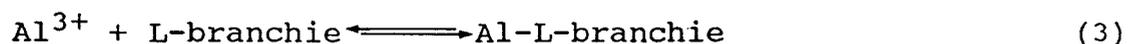


Figure 3. Quelques équilibres chimiques de l'aluminium dans les eaux naturelles.

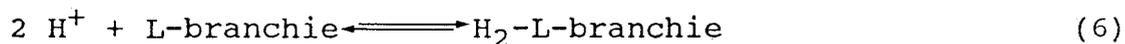
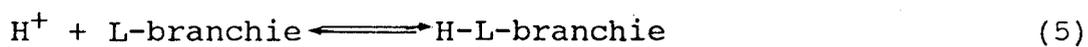
Bien que le modèle «ion libre» réussisse à expliquer la toxicité des métaux bivalents (e.g.: Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+}) vis-à-vis des organismes aquatiques, ce modèle simple est inadapté pour expliquer chez les poissons la toxicité d'un métal aussi complexe que l'aluminium. Il

semble donc essentiel d'adapter ce modèle aux conditions physiologiques et écologiques particulières des poissons.

Morel (1983) a originellement développé ce modèle afin d'interpréter les interactions des métaux bivalents chez les micro-organismes. Neville et Campbell (1988) l'ont modifié pour expliquer les interactions de l'aluminium à la surface des branchies des poissons. Ces derniers proposent que la compétition entre le proton et l'aluminium à la surface des branchies peut devenir importante à faible pH (i.e., à de fortes concentrations de H^+). D'après le modèle de l'ion libre simple, les réactions suivantes seraient déterminantes (pour la simplicité, on néglige les charges sur les espèces associées à la branchie) (éq. 3 et 4):



Pour expliquer la diminution de toxicité observée à faible pH (voir ci-dessous), ces auteurs ont aussi tenu compte de l'interaction de l'ion H^+ avec la membrane biologique (éq. 5 et 6):



Si un pK_a de 5.2 est attribué aux groupements fonctionnels des branchies impliqués dans l'adsorption (Pagenkopf, 1983), la concentration en {Al-L-branchie} atteindra son maximum à un pH de 5 et diminuera aux pH plus ou moins élevés (figure 4). L'ajustement des valeurs de pK_a a pour effet de modifier l'importance de la compétition du proton tout en déplaçant le maximum de toxicité à des valeurs de pH plus ou moins élevés.

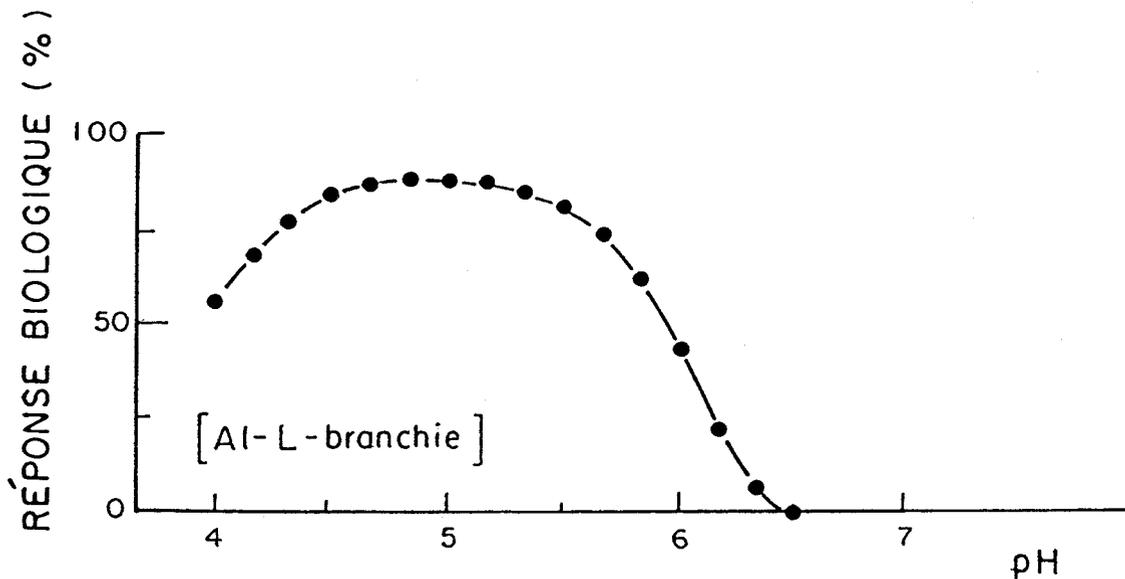


Figure 4. Représentation de l'interaction Al-branchie pour le modèle ion libre: proportion de sites occupés par l'aluminium en fonction du pH. Adapté de Neville et Campbell, 1988.

Selon cette approche, la toxicité de l'aluminium en présence de fluorures serait réduite par la formation de fluoro-complexes d'aluminium. Ceci entraînerait une baisse de la concentration de l'ion libre, et donc une réduction de la concentration de l'espèce {Al-L-branchies}. En d'autres termes, le modèle «ion-libre» prédit que les fluoro-complexes de l'aluminium ne devraient pas s'avérer toxiques.

L'interaction entre l'aluminium et les membranes biologiques dépend de diverses variables physicochimiques. Parmi celles-ci, la concentration en calcium du milieu extérieur s'avère particulièrement importante puisque les ions Ca^{2+} se lient à la membrane protégeant ainsi l'organisme contre la perte d'ions Na^+ (McWilliams, 1982; McDonald et al., 1983a et b). D'autres variables, telles que la température et la teneur en matière organique dissoute, agiront sur l'état physiologique de l'organisme cible. De plus, puisque les «cibles biologiques» de l'aluminium peuvent agir sur leur milieu extérieur, on doit également considérer cette caractéristique parmi les variables pouvant moduler l'action de l'aluminium, ce qui augmente le degré de complexité des interactions. Par exemple, en milieu artificiel, les poissons peuvent modifier leur milieu extérieur en excréant des cations (Na^+ , K^+ , etc.) ou du CO_2 et du NH_3 à travers leurs branchies. En milieu naturel, bien que cette influence des poissons sur leur macro-environnement soit négligeable, le micro-environnement qui entoure leurs branchies peut avoir un pH significativement différent de celui de l'eau extérieure. De plus, le saumon peut activement chercher une eau moins acide. Sa mobilité favorise le passage d'une quantité d'eau beaucoup plus grande à la surface des branchies que celle qui entre en contact, par exemple, avec la membrane extérieure d'une algue stationnaire.

Jusqu'ici on a surtout discuté de l'effet de formes dissoutes de l'aluminium. Cependant, il existe quelques indications dans la

littérature (Schofield et Trojnar, 1980; Dickson, 1982) que des formes colloïdales ou des précipités d'aluminium (e.g.: $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$) puissent, eux aussi, exercer un effet toxique sur les poissons. Il est toutefois probable dans ces cas que le mécanisme toxique soit différent de celui postulé pour l'aluminium dissous. L'hypothèse proposée par Neville et Campbell (1988) est celle d'une précipitation d'hydroxo-polymères d'aluminium sur la membrane, c'est-à-dire que la toxicité serait liée à un effet physique plutôt qu'à un effet biochimique. Dans ce cas, l'hydroxyde d'aluminium agirait comme barrière physique au transport de gaz, au lieu d'affecter les équilibres osmotiques comme lors du transport d'un ion chargé au travers la membrane biologique.

1.2.2 Effets biologiques des complexes de l'aluminium - revue de la littérature

Complexes organiques. Il semble que la plupart des complexes organiques de l'aluminium ne soient pas directement disponibles pour les organismes aquatiques (Kramer et Hummel, 1985, Rosseland et al.). Divers auteurs ont d'ailleurs mis en évidence que l'ajout de matière organique diminuait la toxicité de l'aluminium, tout comme le prédit le modèle d'ion libre (Baker, 1981, Van Coillie et al., 1983).

Driscoll et al. (1980) ont ajouté une concentration constante d'un réactif organique simple (citrate: 11.7 mg C L^{-1}) pour complexer la majorité de l'aluminium en solution ($[\text{Al}]_{\text{total}} = 19 \mu\text{M}$). Ils ont trouvé que le temps de survie des poissons était mieux corrélé avec la fraction

inorganique d'Al qu'avec l'aluminium total. Van Coillie et al. (1983) ont observé que la matière humique (10 mg L^{-1}) a considérablement atténué la toxicité létale de l'aluminium à pH 4.5 et à pH 5.6 chez le saumon atlantique (Salmo salar; âgé 1+).

Pour une concentration en aluminium inorganique monomère constante ($2.8 \text{ } \mu\text{M}$), Neville (1985) a trouvé que 8-10 mg L^{-1} d'acides organiques naturels n'ont pas modifié la réponse de la truite arc-en-ciel à pH 5.0. Cependant à pH 4.5, la réponse était légèrement accrue en présence de ces ligands organiques.

Complexes inorganiques. L'aluminium inorganique est généralement considéré comme «plus toxique» que l'aluminium organique. Plusieurs auteurs ont essayé de distinguer entre les effets de différents complexes inorganiques et l'ion libre, mais souvent sans pouvoir en arriver à des conclusions évidentes. L'équilibre entre les hydroxo-espèces d'aluminium et l'ion libre est rapide; ainsi, à un pH constant, la proportion de chacune des espèces (Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, ...) restera constante de telle sorte qu'on ne peut pas distinguer entre l'effet de Al^{3+} et celui des hydroxo-complexes si on réalise le bio-essai à un pH donné. Si on varie la concentration d'autres ligands (e.g.: sulfates, fluorures) ou la concentration totale en aluminium, on change obligatoirement la concentration de toutes les espèces Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, De même, si on fait varier le pH afin de changer les proportions relatives de ces espèces, on perturbe simultanément les équilibres entre le proton et les membranes biologiques (équations 5 et 6).

Le ligand SO_4^{2-} est faiblement lié à l'aluminium et les sulfato-complexes sont généralement peu importants dans les eaux naturelles; il s'en suit que l'on trouve peu d'études sur les effets des complexes $\text{Al}(\text{SO}_4)_x$. On peut citer comme exemple l'étude de Kinraide et al. (non-publié) sur l'orge, qui ont proposé la non-toxicité des sulfato-complexes.

Il y a également peu de littérature sur les **fluoro-complexes**. Burrows (1977) a fait une revue exhaustive de la littérature; il en a conclu que les articles écrits jusque-là étaient peu utiles étant donné le manque de précision sur la composition des milieux expérimentaux employés. Notre recherche bibliographique sur les travaux réalisés depuis 1977 a permis de recenser seulement huit articles traitant spécifiquement de l'effet de la complexation de l'aluminium par le F^- sur la toxicité de l'Al. C'est pour cette raison que des organismes aussi divers que l'orge et la truite ont été retenus dans la discussion qui suit.

(i) Plantes

Cameron et al. (1986) ont examiné les effets de la complexation de l'aluminium sur sa toxicité envers l'orge (Hordeum vulgare). A pH 4.5, à des concentrations en F^- de 0 à $190 \mu\text{g L}^{-1}$ (0 à $10 \mu\text{M}$) et en Al de 0 à $432 \mu\text{g L}^{-1}$ (0 à $16 \mu\text{M}$), ces auteurs ont trouvé que la toxicité de

l'aluminium variait selon la concentration en Al^{3+} . Les complexes $\text{Al}(\text{F})_x$ s'avéraient donc non-toxiques pour cette espèce. Toutefois, l'ion F^- a provoqué une élongation des racines de la plante en présence d'aluminium; cette modification n'a pas été observée en absence d'Al. Pour les diverses concentrations en aluminium et en fluorures, la croissance a été corrélée à la concentration en Al^{3+} sans devoir évoquer la présence de AlF_x (voir la figure 5). Pour la croissance dans les expériences sans ligand supplémentaire, ils ont également obtenu la meilleure corrélation avec les concentrations en Al^{3+} .

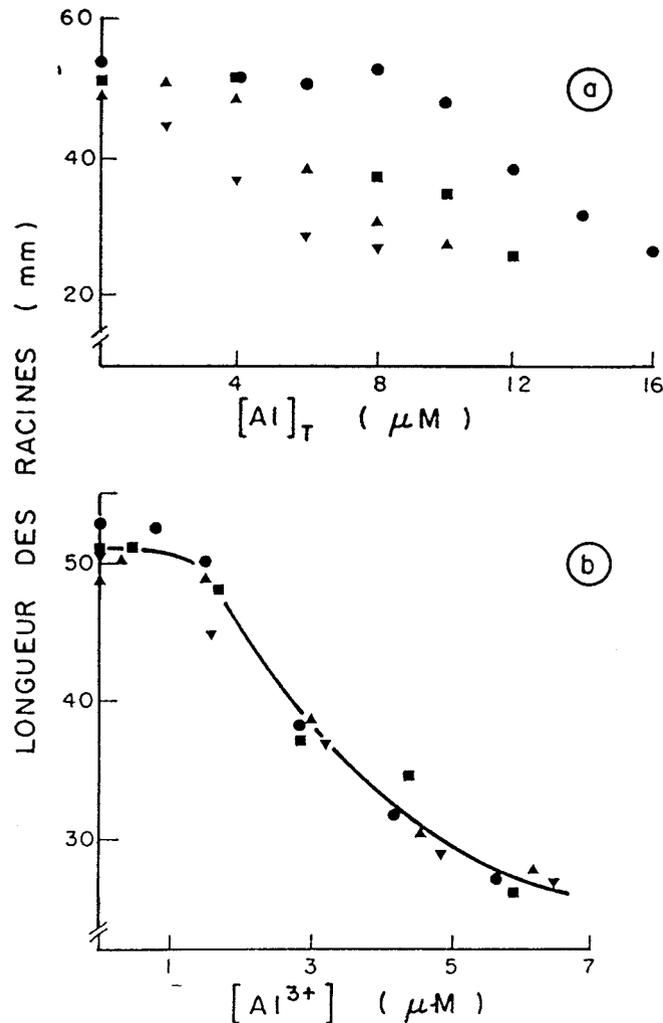


Figure 5 Variations de la longueur des racines de l'orge *Hordeum vulgare* en fonction de (a) la concentration totale en aluminium (b) la concentration en Al^{3+} pour 0 (▼), 2.5 (▲), 5 (■), et 10 (●) μM F^- . Adapté de Cameron *et al.*, 1986.

Kinraide et al. (1985), qui ont travaillé avec la même espèce, ont découvert une suppression complète de la toxicité pour des solutions de $1 \mu\text{M}$ ($27 \mu\text{g L}^{-1}$) ou $2 \mu\text{M}$ ($54 \mu\text{g L}^{-1}$) en Al avec des concentrations en F^- de $2 \mu\text{M}$ ($38 \mu\text{g L}^{-1}$) ou $3 \mu\text{M}$ ($57 \mu\text{g L}^{-1}$).

Helliwell et al. (1983) ont choisi un pH de 5.2 pour leurs expériences sur l'algue verte Chlorella pyrenoidosa. Ils ont effectué une série de tests en eau synthétique avec des concentrations de 1.0 mg L^{-1} ($52.6 \mu\text{M}$) F^- et en Al_{total} de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ ($1.1 \mu\text{M}$). Ces expériences indiquaient que la solution préparée avec excès de F^- était légèrement moins toxique que la solution correspondante d'aluminium sans ces ligands importants. Pour les solutions avec aluminium mais sans fluorures, le taux de croissance correspondait à environ 48% de celui du contrôle (sans Al, sans F^-). Lorsque 1 mg L^{-1} ($52.6 \mu\text{M}$) F^- était ajouté à cette solution, le taux de croissance augmentait jusqu'à 62% des témoins. Cependant, ces auteurs n'ont pas indiqué si cette différence était statistiquement significative. Par ailleurs, les concentrations en fluorures utilisées étaient vingt à trente fois supérieures à celles trouvées normalement dans les eaux de surface du Bouclier canadien. Il est même possible que les fluorures qui se trouvaient en excès dans cette solution soient eux-mêmes toxiques; les auteurs n'ont pas vérifié ce point. Si tel était le cas, la diminution de la toxicité de la solution avec Al par rapport à celle sans aluminium pourrait simplement être due aux ions F^- libres, les complexes de AlF_x étant non-toxiques.

(ii) Bactéries

Des bioessais avec un système Microtox Beckman modifié ont permis de déceler une diminution de la toxicité de l'aluminium en présence de fluorures (Gunn et al., 1986). Ces auteurs ont remplacé le tampon inhérent à la suspension bactérienne par un tampon biologique MES (acide sulphonique 2-(N-morpholino)éthane) considéré comme étant très peu complexant et peu toxique. Les tests furent réalisés à pH constant dans un milieu à force ionique très élevée constitué par le milieu salin dans lequel se trouvaient les bactéries (NaCl 2.1% w/v).

Pour des concentrations en F^- de 0, 0.91, 1.82 mg L^{-1} (0, 45, 90 μM) et Al_{totale} de 0, 100, 300, 500 $\mu g L^{-1}$ (0, 3, 7, 11.1, 18.5 μM), les tests ont indiqué que l'ion fluorure diminuait la toxicité de l'Al lorsque l'on tenait compte de la toxicité de F^- seul. Les chercheurs ont ici présenté une relation additive simple entre la toxicité de F^- et celle de l'aluminium; la réponse toxique de l'Al n'était évidente qu'après correction pour l'ion F^- libre (voir la figure 6).

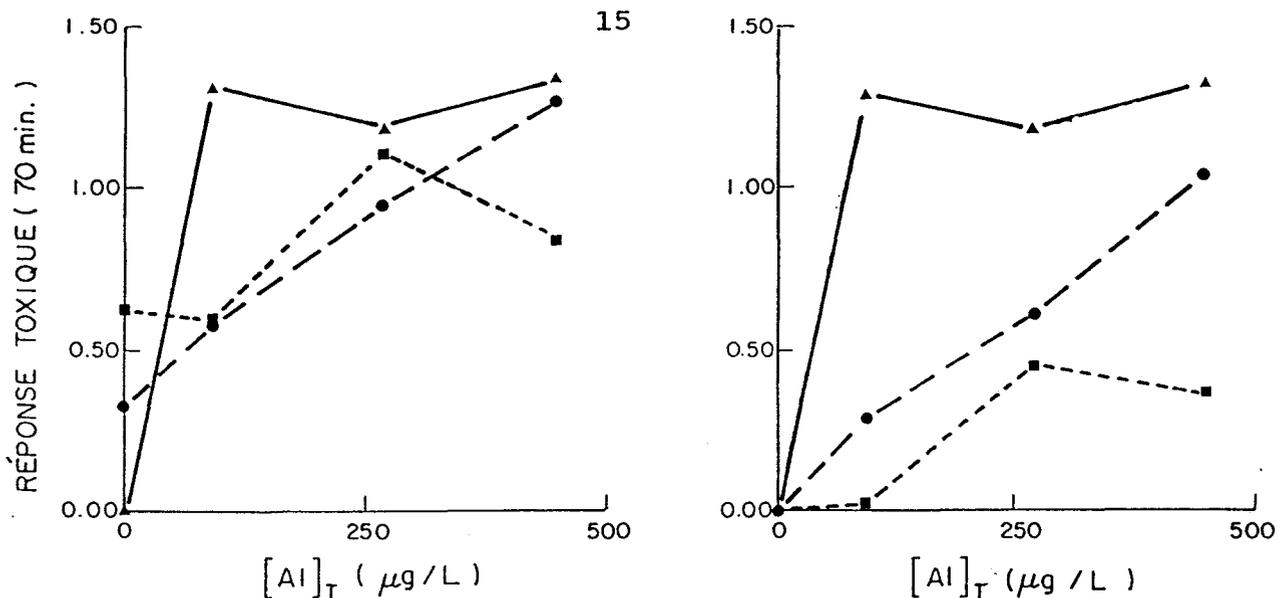


Figure 6 (a) Réponse toxique à l'aluminium en fonction de différentes concentrations en fluorures avec le test Microtox.
 (b) Réponse toxique à l'aluminium en fonction de différentes concentrations en fluorures avec le test Microtox: résultats corrigés d'après la toxicité des fluorures libres. Adapté de Gunn *et al.*, 1986.

Pour a et b: (\blacktriangle) $0 \mu\text{M F}^-$, (\bullet) $47 \mu\text{M F}^-$, (\blacksquare) $95 \mu\text{M F}^-$.

Les concentrations en F^- dans les eaux douces ne dépassent que rarement le seuil de $150 \mu\text{g L}^{-1}$ ($7.9 \mu\text{M}$), alors que les concentrations employées par Gunn *et al.* sont de cinq à dix fois supérieures. Pour les solutions préparées au laboratoire de $300 \mu\text{g L}^{-1}$ ($11.1 \mu\text{M}$) en Al et $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ($26.3 \mu\text{M}$) en F^- , les complexes dominants sont AlF_2^+ et une grande proportion de AlF_3^0 , que l'on ne trouverait pas dans les eaux naturelles. Pour les concentrations normales de fluorures dans les eaux naturelles, la forme AlF_2^+ prédomine parmi les fluoro-complexes. Le mécanisme d'interaction avec la membrane biologique est sûrement différent pour une espèce chargée en comparaison avec une espèce neutre comme AlF_3^0 .

Signalons que le test Microtox n'est pas fiable pour des pH plus bas que 5.5; la sensibilité du test diminue avec le stress acide auquel sont exposées les bactéries.

(iii) Amphibiens

Clark et LaZerte (1985), quant à eux, ont exposé en laboratoire des oeufs et des têtards de Bufo americanus à une gamme de pH de 4.14 à 5.75 pour des concentrations variant de 0 à 200 $\mu\text{g Al L}^{-1}$ (7.1 μM). Ils ont observé que les complexes Al(F)_x étaient aussi toxiques que Al^{3+} pour les bioessais à pH 4.14 et 4.32, aux concentrations en aluminium de 10 à 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (3.6 μM). Dans une autre série d'expériences, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (5.27 μM) de fluorures ont été ajoutés pour assurer une solution avec au moins 89% Al(F)_x . A des pH de 4.14 et de 4.32, les fluoro-complexes d'Al ont produit les mêmes diminutions du taux d'éclosion que les solutions composées de 75-81% d' Al^{3+} . Cependant, pour les essais à pH 4.75, les auteurs ont précisé que les espèces Al^{3+} , Al(OH)_x , et Al(F)_x ne semblaient pas avoir d'effet. Pour déterminer la spéciation, des mesures de fluorures libres et totaux furent utilisées; ceci présumait qu'il n'y avait pas de matière organique liée à l'aluminium. Pour mieux simuler l'environnement naturel, les températures du laboratoire variaient de 6 à 24 °C; cette variation augmente la complexité de l'analyse des résultats obtenus avec les différents essais.

(iv) Poissons

Utilisant les alevins de truite (Salvelinus fontinalis), Driscoll et al. (1980) ont conclu que les formes labiles d'aluminium (monomères inorganiques) constituaient les espèces les plus toxiques. Les complexes Al-citrate s'avéraient très peu toxiques pour ce poisson alors que les fluoro-complexes d'aluminium semblaient avoir une toxicité intermédiaire entre celle d'Al-citrate et celle des hydroxo-complexes. Pour une concentration de $500 \mu\text{g F}^- \text{L}^{-1}$ ($26.3 \mu\text{M}$) et $500 \mu\text{g Al L}^{-1}$ ($18.5 \mu\text{M}$), environ 45% des poissons ont survécu relativement aux témoins (0 Al, pH 5.2). Pour ces mêmes concentrations à un pH de 4.4, la survie des truites exposées se situait à environ 71% des témoins à pH 4.4, lesquels avaient un taux de survie de 95% (voir la figure 7).

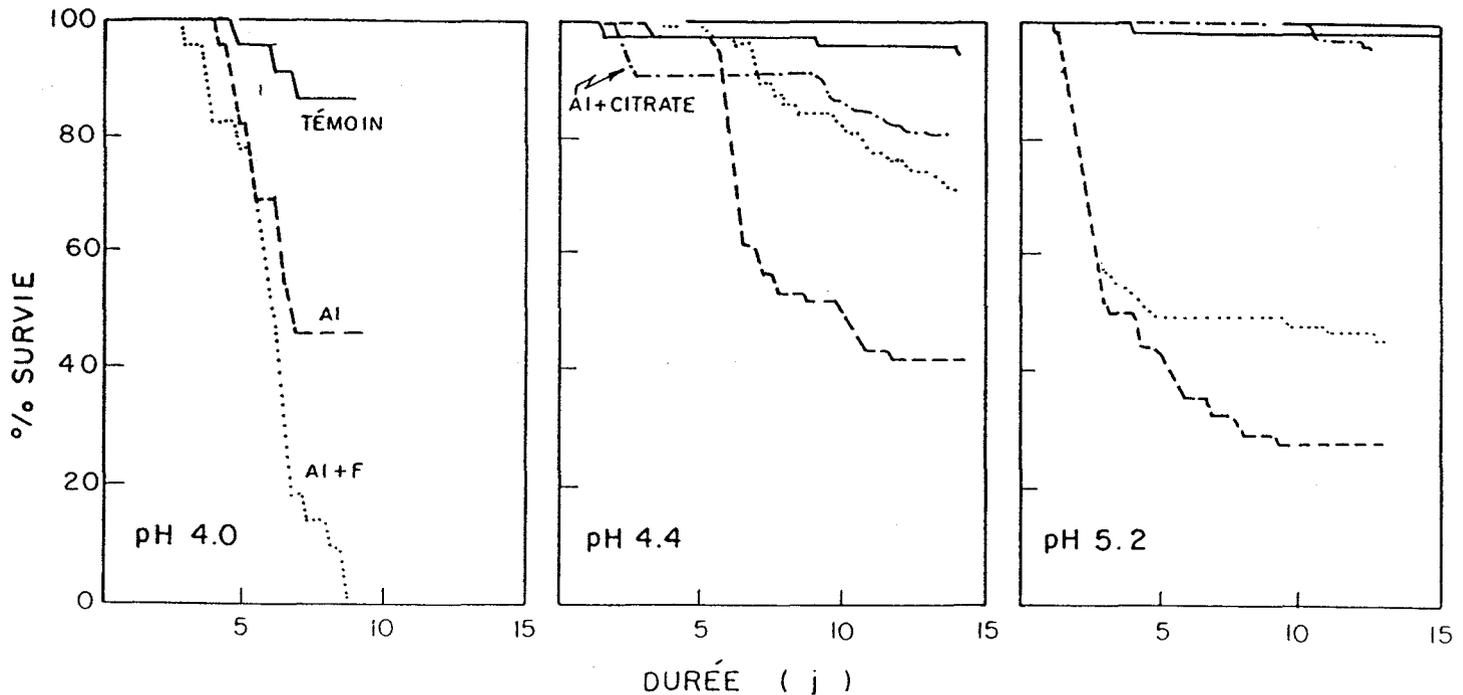


Figure 7 Effet de la complexation de l'aluminium sur le taux de survie de Salvelinus fontinalis. Adapté de Baker, 1981.

Les calculs thermodynamiques faits sur ces milieux indiquent qu'en présence de fluorures une faible quantité d'aluminium devait se retrouver sous forme d'ion libre. D'après ces auteurs, la toxicité a été réduite par l'effet moins important de $\text{Al}(\text{F})_x$ et non pas par une diminution de la concentration des ions Al^{3+} ou $\text{Al}(\text{OH})_x$ résiduels.

Avec des rapports molaires F_T/Al_T de 5, la toxicité de l'aluminium est supprimée pour Notropis cornutus (méné à nageoires rouges) à pH 5 et pour une concentration en aluminium de $280 \mu\text{g L}^{-1}$ ($10 \mu\text{M}$) (Kramer et Hummel, 1985). Pour une solution équimolaire, $F_T/\text{Al}_T = 1$, une hyperplasie des branchies apparaissait et la couche épithéliale présentait également des ruptures. Il y avait augmentation de la production de mucus et fusion des lamelles secondaires lorsque le rapport molaire de F_T/Al_T était de 3.5. Selon ces auteurs, ceci démontre que pour cette espèce la suppression de la toxicité de l'aluminium par F^- n'est pas stochiométrique. Il a fallu cinq ions fluorure pour chaque ion d'aluminium afin de ne plus observer les effets d'Al.

1.3 Résumé

Il ne semble pas y avoir de consensus dans la littérature au sujet de la toxicité des fluoro-complexes de l'aluminium: dans certains cas on observe une élimination complète de la toxicité de l'aluminium alors que dans d'autres, on constate une réduction partielle de sa toxicité; de plus, dans deux études (Clark et LaZerte, 1985; Helliwell et al.,

1983), la toxicité de l'aluminium est demeurée à peu près inchangée après l'addition de l'ion fluorure. Cette absence de consensus pourrait être due à plusieurs facteurs dont la diversité des cibles biologiques considérées. La variabilité des milieux expérimentaux peut également être invoquée. En effet, le milieu choisi peut influencer grandement la réponse biologique observée puisque des effets majeurs peuvent provenir (i) de la concentration en ions protecteurs (Ca^{2+} et Mg^{2+} : McDonald et al., 1983a,b) et (ii) de la compétition avec les ions H^+ . Ces ions peuvent se lier à la membrane, soit en compétitionnant pour les mêmes sites de transport que l'aluminium, soit en altérant la structure même de la membrane. Enfin il y a la température qui agit sur le métabolisme des organismes et sur les équilibres dans le milieu abiotique.

2. OBJECTIF DE L'ETUDE

Le projet a pour objectif de déterminer la biodisponibilité relative de Al(OH)_x (hydroxo-complexes) et de Al(F)_y (fluoro-complexes) pour le saumon atlantique (Salmo salar; âge 1+) et d'améliorer les connaissances sur les mécanismes de la prise en charge de l'aluminium et de ses dérivés. Nos travaux se situent dans la perspective des études concernant les interactions entre l'aluminium, le fluorure et des cibles biologiques. Ce type d'études revêt une importance particulière compte tenu d'une part de l'importance des fluoro-complexes de l'aluminium dans les eaux courantes lors de la fonte printanière des neiges, et d'autre part de la confusion apparente dans la littérature en ce qui concerne la bio-disponibilité de ces complexes.

3. METHODOLOGIE

3.1 Transport et acclimatation des poissons

Les poissons utilisés pour les fins de cette expérience (Salmo salar: âge +1) provenaient de la station piscicole de l'Anse Pleureuse (Gouvernement du Québec). Ils furent acheminés aux laboratoires du Service de Conservation et de Protection d'Environnement Canada (Longueuil) en trois occasions soit à la fin des mois d'avril, juin et août. A chaque occasion, durant les 12 heures de transport, la concentration d'oxygène ($[O_2]_{\text{dissous}}=10 \text{ mg L}^{-1}$) et la température ($T=4^{\circ}\text{C}$ (avril), 7°C (juin) et 17°C (août)) étaient maintenues constantes. Quelques poissons seulement sont morts au cours du transport.

En arrivant aux laboratoires d'Environnement Canada, les poissons étaient transférés dans la même eau (eau de la station piscicole) dans des bassins à débit continu, où ils étaient gardés durant un minimum de dix jours, soit le temps d'acclimatation nécessaire à l'eau de Longueuil. Au cours de la première journée, on procédait à l'ajout, à faible débit, de l'eau de Longueuil de façon à ne pas perturber l'état de santé des poissons. De cette manière, on arrivait lentement à remplacer l'eau de la station piscicole par l'eau traitée de Longueuil. Cette eau, qui provient du fleuve St-Laurent, est traitée (par la ville) et ensuite exposée aux rayons UV (par Env. Can.) pour enlever les excès de Cl_2 . Nos expériences se sont déroulées à 10°C avec des concentrations d'oxygène dissous de $10 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$; l'acclimatation pour

arriver à cette température consistait à changer graduellement la température ($\leq 1^{\circ}\text{C}/\text{jour}$) pour atteindre 10°C .

3.2 Conditions physicochimiques des solutions expérimentales

3.2.1 Généralités. Dans une série d'expériences semi-statiques, des tacons du saumon atlantique ont subi, à pH constant, un traitement de diverses solutions d'aluminium et/ou de fluorures (tableau 1). On a employé de l'eau synthétique (tableau 2) très douce (USEPA; Van Coillie et al., 1983) préparée à partir de l'eau déminéralisée (Culligan, $R > 1 \text{ M}\Omega$). L'acclimatation des poissons à l'eau synthétique durait deux jours. Pendant cette période, l'eau était graduellement acidifiée à pH 5.0. Finalement, les poissons étaient transférés dans les bassins expérimentaux. On s'est servi de onze à douze bassins de polypropylène (capacité de 64 L).

Chaque bassin expérimental correspondait à une concentration d'Al et de F; ils étaient doublés à l'aide d'un sac en polyéthylène pour éviter la contamination lors du renouvellement de l'eau. Nous renouvelions l'eau deux à trois fois par jour pour minimiser l'influence de l'adsorption de l'aluminium sur le sac, et pour minimiser l'accumulation de produits d'excrétion. De plus, les poissons n'étaient pas nourris pendant la durée de l'expérience. Cette façon de procéder permet d'éviter l'accumulation de matière organique (mucus, matières fécales) laquelle favorise la complexation et donc l'élimination de l'aluminium inorganique, soit la forme dont la biodisponibilité pour les

poissons nous intéresse. Les expériences furent réalisées dans une chambre froide où la température, l'aération et la photopériode étaient contrôlées (9-11°C; 0.6 L min⁻¹; 16 h de lumière par jour).

Tableau 1 Conditions expérimentales (Concentrations nominales)

Expérience	[Al]	[F ⁻]	[Al ³⁺]	pH
A	constante (9 μM)	variable (0-12 μM)	variable	4.5
B	variable (0-11 μM)	absente (0 μM)	variable	4.5
C	variable (0-11 μM)	constante (18 μM)	variable	4.5
D	variable (0-11 μM)	constante (5 μM)	variable	4.5
E	variable (0-12 μM)	variable (0-11 μM)	constante (2.8 μM)	4.5
F	variable (0-12 μM)	variable (0-11 μM)	constante (2.8 μM)	4.9
G	variable (0-12 μM)	variable (0-11 μM)	constante (2.8 μM)	4.5
H	variable (0-11 μM)	constante (6 μM)	variable	4.5
I	variable (0-11 μM)	absente (0 μM)	variable	4.5

Tableau 2 Concentrations des composants de l'eau synthétique.

Composant	Concentration (mg L ⁻¹)	Concentration (μM)
NaHCO ₃	12.0	143
CaSO ₄ ·2H ₂ O	7.5	44
MgSO ₄	7.5	62
KCl	0.5	7

3.2.2 Détermination de l'aluminium. Les concentrations en aluminium total étaient déterminées par spectrophotométrie d'absorption atomique au four de graphite. On distinguait entre aluminium monomère total, aluminium monomère organique et aluminium monomère inorganique en utilisant une méthode colorimétrique automatisée impliquant la réaction de l'aluminium labile avec le pyrocatéchol violet (Rogeberg et Henriksen, 1985; Røyset, 1986). Dans chaque bassin expérimental, on prélevait un échantillon d'eau au début de l'expérience; de plus, chaque fois que l'eau était renouvelée dans un bassin, on prélevait d'autres échantillons avant et après le changement d'eau (c'est-à-dire un échantillon du milieu vieilli ainsi qu'un du milieu frais). Les étapes analytiques (annexe 2.1) consistaient d'abord en une filtration (0.4 μm , Nuclepore). Une portion du filtrat était ensuite acidifiée (0.1 mL HCl ou HNO₃ par mL de filtrat) et l'aluminium filtrable était dosé par absorption atomique au four de graphite. La seconde portion du filtrat servait à la détermination colorimétrique des concentrations en aluminium monomère. L'équilibre chimique des diverses formes d'aluminium inorganique était ensuite calculé à partir du modèle d'équilibre MINEQL (Westall et al., 1976) en utilisant les résultats obtenus pour l'aluminium inorganique, les fluorures totaux et le pH.

3.2.3 Détermination des fluorures. L'emploi d'une électrode sélective aux fluorures permettait l'évaluation de [F⁻]. On se servait du tampon commercial TISAB II (Orion 940909), avec et sans l'agent complexant CDTA (l'acide cyclohexylène-1,2-diamine-tétracétique), pour effectuer ces mesures. En comparant chaque paire de valeurs obtenues (sans et avec

CDTA), on vérifiait la validité de nos mesures pour une concentration en aluminium connue en employant des calculs d'équilibre chimique (MINEQL). La méthode détaillée est celle donnée par le manufacturier (Orion Research Inc., 1983).

3.2.4 Détermination des ions majeurs. Un échantillon de chaque séquence expérimentale était prélevé et analysé pour son contenu en ions majeurs (Ca, Na, Mg, K) et en certains métaux traces, dont l'aluminium, par spectrophotométrie d'émission atomique à plasma (ICP).

3.3 Tests de toxicité

3.3.1 Tests létaux.

(i) Mortalité. Afin de distinguer entre les effets de l'ion libre et ses hydroxo-complexes (Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})_x$) de ceux des fluoro-complexes d'aluminium ($\text{Al}(\text{F})_y$), nous avons utilisé plusieurs indicateurs létaux. Les concentrations auxquelles 50% de la population meurt suite à une exposition de 96 heures (CL50-96 h) ou de 7 jours (CL50-7 j) furent déterminées. De plus, on a comparé pour chacun des temps d'exposition les concentrations maximum qui ne causaient pas de létalité. En traçant le logarithme de la concentration en fonction du pourcentage de mortalité, on peut en tirer une information sur la toxicité des diverses espèces.

(ii) Bioaccumulation branchiale de l'aluminium. Les branchies étaient prélevées et les concentrations en Al y étaient déterminées. La détermination des concentrations en Al était faite selon un protocole analogue à celui développé par Bates et al. (1982) de façon à pouvoir distinguer entre l'Al adsorbé (Al extractible à l'EDTA) et l'Al absorbé ([Al] total - [Al] extractible à l'EDTA). Ainsi, une première fraction de branchies était immergée dans une solution d'EDTA 10^{-3} M (acide éthylène-1,2-diamine-tétracétique) pendant 15 minutes pour tenter d'y enlever l'aluminium adsorbé, tout en y laissant l'aluminium absorbé, alors que l'autre fraction ne subissait aucun traitement. Les deux fractions étaient ensuite entreposées au congélateur jusqu'au moment d'être séchées et pesées. Finalement, elles étaient soumises à une digestion à l'acide nitrique au four à micro-ondes (annexe 2.2) et l'aluminium était dosé par spectrométrie d'émission atomique à plasma (ICP).

3.3.2 Tests sous-létaux.

(i) ATP. Les concentrations en ATP dans le muscle squelettique étaient déterminées en employant la méthode développée par Blaise et al. (1986) et présentée à l'annexe 2.3. Selon ces auteurs, cette méthode aurait une grande sensibilité pour déterminer les seuils de stress auxquels le poisson serait exposé. Déjà démontré comme un test sous-létal utile pour des produits organiques toxiques, on l'a employé afin de déceler un stress sous-létal pour des poissons exposés aux conditions d'acide et d'aluminium. Cette méthode fut modifiée pour les poissons les plus gros

(c-à-d, >25 g), puisque l'isolement préalable de ceux-ci semblait affecter leur comportement. Ce changement de protocole avait pour but de minimiser le stress de l'isolement en maintenant l'environnement constant jusqu'au moment du prélèvement du muscle. De plus, dans près de 25% des cas, deux échantillons de muscle étaient prélevés chez un même poisson afin d'évaluer la reproductibilité de la méthode d'analyse.

(ii) Na plasmatique. Après anesthésie à l'aide de MS 222 (acide éthyle 3-aminobenzoate méthanesulfonique), environ 0.5 mL de sang était prélevé dans l'artère caudale de chaque poisson et centrifugé. La centrifugation d'une petite quantité de sang (≈ 20 mg) était effectuée peu après son prélèvement (7000 X g pendant 8 min.). Le plasma séparé de cette façon était pesé et ensuite congelé jusqu'à sa dilution (HCl ultrapur, H₂O déminéralisée). Le contenu en Na était déterminé par la spectrophotométrie d'absorption atomique à la flamme.

4. RESULTATS

4.1 Conditions physicochimiques des solutions expérimentales

4.1.1 Généralités.

Le transfert des poissons s'est fait de manière progressive. La qualité de l'eau (température, oxygène dissous) était contrôlée rigoureusement durant et après le transport. La température de l'eau n'a jamais varié de plus d'un degré Celsius par jour. On a maintenu la concentration d'oxygène dissous à $10 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ par ajout d'oxygène pendant le transport ou de l'air durant l'expérience. En arrivant aux laboratoires d'Environnement Canada, les tacons, toujours dans la même eau, ont été transférés aux bassins dynamiques se trouvant sur les lieux. L'ajout, à débit faible, de l'eau de Longueuil assurait un mélange qui ne devait pas perturber l'état de santé des poissons. Les concentrations en ions majeurs de l'eau provenant de la station piscicole et celles de l'eau traitée de Longueuil sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 Concentrations en ions majeur dans l'eau de la station piscicole de l'Anse Pleureuse (échantillon prélevé le 20/04/88) et dans l'eau de Longueuil (échantillon prélevé le 05/05/88).

Cation mesuré	Concentration	
	l'Anse Pleureuse	Longueuil
Ca ($\mu\text{M} \pm 4$)	693	923
Mg ($\mu\text{M} \pm 5$)	222	329
Na ($\mu\text{M} \pm 10$)	274	491
K ($\mu\text{M} \pm 3$)	10	38

La masse moyenne, la longueur moyenne, et le facteur de condition moyen des divers groupes expérimentaux de poissons sont présentés au tableau 4. Les résultats sont regroupés en deux ensembles. Quant aux groupes F à I, maintenus à la pisciculture au cours de l'été, ils ont considérablement grandis par rapport aux poissons des groupes A à E. Ceci est surtout dû à la rétention du saumon pendant la saison de croissance à une température plus élevée à la station piscicole et à son effet positif sur le métabolisme des poissons.

Tableau 4 Moyenne (\pm écart-type) des masses, longueurs et facteurs de condition (K) des poissons dans les deux ensembles d'expériences.

Expérience	Masse (g)	Longueur (cm)	K (g cm ⁻²)
A	9.4 (2.6)	9.3 (1.0)	0.107 (0.013)
B	5.6 (1.5)	7.9 (0.9)	0.088 (0.010)
C	5.6 (1.6)	7.7 (0.9)	0.092 (0.010)
D	6.6 (2.0)	8.4 (1.0)	0.092 (0.013)
E	8.3 (2.4)	8.8 (1.1)	0.100 (0.010)
F	28.8 (6.0)	13.6 (0.9)	0.157 (0.018)
G	28.8 (6.0)	13.7 (0.9)	0.151 (0.017)
H	29.6 (5.6)	14.2 (0.9)	0.146 (0.015)
I	34.0 (7.2)	14.4 (1.0)	0.160 (0.016)

4.1.2 Concentrations moyennes d'aluminium et de fluorures

Les conditions expérimentales (pH, $[Al]_t$, $[F]_t$) furent déterminées de façon à éviter une précipitation d'hydroxyde d'aluminium (Burrows, 1977), en n'excédant pas sa limite de solubilité ($Al(OH)_3$ (s), (gibbsite microcristalline) $\rightleftharpoons Al^{3+} + 3 OH^-$, $\log K_{sp} = -32.65$; Hem, 1968): 85-100 % de l'aluminium dans les milieux expérimentaux est demeuré sous forme monomère inorganique. La figure 8 présente un exemple de ce que l'on retrouvait dans l'expérience A.

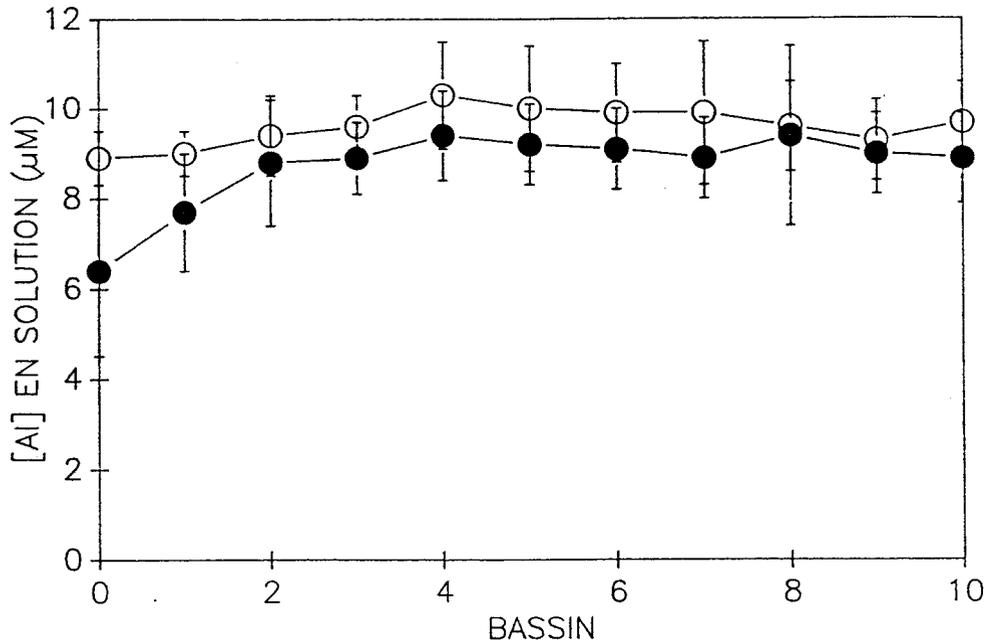


Figure 8 Concentration en aluminium total (○) et en aluminium monomère inorganique (●) en fonction des bassins expérimentaux lors de l'expérience A ($[Al]_{total}$: constante, $[F^-]$ augmentent de 0 à 12 μM).

Pour l'ensemble des expériences, les concentrations en aluminium monomère inorganique de même que les concentrations totales en fluorures et les valeurs de pH sont répertoriées aux tableaux A3.1.1 à A3.1.9.

Des calculs de spéciation à partir du programme MINEQL furent faits à chacune des expériences (annexe 3: tableaux A3.2.1 à A3.2.9)

4.1.3 Concentrations en ions majeurs.

Un échantillon d'eau de chaque expérience a été prélevé en vue d'analyser son contenu en ions majeurs. Les résultats sont présentés au tableau 5.

Tableau 5 Contenu en ions majeurs de l'eau de chaque série expérimentale.

Expérience	[Ca] $\mu\text{M} \pm 2$	[Mg] $\mu\text{M} \pm 4$	[Na] $\mu\text{M} \pm 9$	[K] $\mu\text{M} \pm 3$
A	43	58	139	8
B	45	58	130	8
C	43	62	96	8
D	45	62	139	8
E	50	58	187	10
F	45	58	130	8
G	45	58	130	10
H	48	58	139	10
I	48	62	135	10

** Dans leur étude sur 16 rivières à saumons de la Côte-Nord, Campbell *et al.* (1989) ont trouvé des étendues de concentrations en ions majeurs de: [Ca]=34→244 μM , moyenne 86 μM ; [Mg]=20→137 μM , moyenne 39 μM ; [Na]=15→289 μM , moyenne 51 μM et [K]=3→28 μM , moyenne 9 μM .

4.2 Conséquences vis-à-vis du saumon

4.2.1 Tests létaux

(i) CL50. Les expériences B et C de même que les expériences H et I ont été structurées de façon à mettre en évidence les effets létaux de l'aluminium, sans et avec la présence de fluorures. Noter que pour faciliter la comparaison avec la littérature, nous avons choisi de présenter les valeurs de CL50 en terme de concentration d'aluminium inorganique (tableau 6).

Tableau 6 Comparaison entre les valeurs de la CL50 (exprimée en $\mu\text{moles } \Sigma \text{ Al-inorg L}^{-1}$) et son intervalle de confiance à 95% pour les expériences B,C,H et I.

Expérience	CL50-96 h en μM (intervalle de confiance à 95%)	CL50-7 j en μM
B (Al)	5.8 (3.9-8.6)	4.8 (3.9-7.1)
C (Al+18 $\mu\text{M F}^-$)	8.2 (4.5-15.0)	7.6 (5.2-11.0)
H (Al+6.5 $\mu\text{M F}^-$)	7.2 (5.2-10.0)	5.4 (3.1-9.2)
I (Al)	6.9 (5.4-8.8)	4.7 (3.5-6.4)

(ii) Concentrations engendrant 0% et 100% de mortalité. Les concentrations en aluminium qui ne provoquaient aucune mortalité chez les tacons de Salmo salar, de même que celles qui causaient la mortalité de tout l'échantillon, sont présentées au tableau 7. On exprime la concentration en Al en terme de l'ion libre Al^{3+} et en fonction de la sommation (Σ) des concentrations (μM) en Al inorganique.

Tableau 7 Concentrations d'aluminium (exprimées en Al^{3+} et en $\mu\text{moles Al-inorg L}^{-1}$) provoquant 0% ou 100% de mortalité chez Salmo salar.

Expérience	$[\text{F}]_{\text{T}}$ (μM)	[Al] de 0% mortalité ($\mu\text{M Al}^{3+}$) ($\mu\text{M Al-inorg}$)		[Al] de 100% mortalité ($\mu\text{M Al}^{3+}$) ($\mu\text{M Al-inorg}$)	
A	0-12	1.1	9.2	2.4	9.4
B	0	1.5	2.6	6.9	10.1
C	18	0.02	5.7	$>0.1^1$	$>9.0^1$
G	0-12	0.7	2.6	1.1	9.8
H	6.5	0.1	3.1	1.3	7.3
I	0	1.4	2.5	5.0	8.2

¹ Dans cette expérience, il y avait des survivants dans tous les bassins.

(iii) Mortalité cumulative. La figure 9 met en évidence l'évolution de la toxicité observée lors d'une augmentation de la concentration en fluorures pour une concentration constante d'aluminium. En effet, on remarque une diminution de la mortalité des tacons avec une augmentation de la proportion des fluoro-complexes. D'après ce même graphique, on constate qu'il y a un effet atténuant lorsque la concentration en fluorures ajoutée excède $\approx 7 \mu\text{M}$ pour une concentration en aluminium monomère inorganique de $9 \mu\text{M}$. Pour des concentrations de fluorures inférieures à $7 \mu\text{M}$, on ne voit aucun effet sur la mortalité. Tous les poissons exposés à une concentration de $9 \mu\text{M Al}$ et $6.5 \mu\text{M F}^-$ sont morts (bassin 5) avant la fin de l'expérience (7 jours).

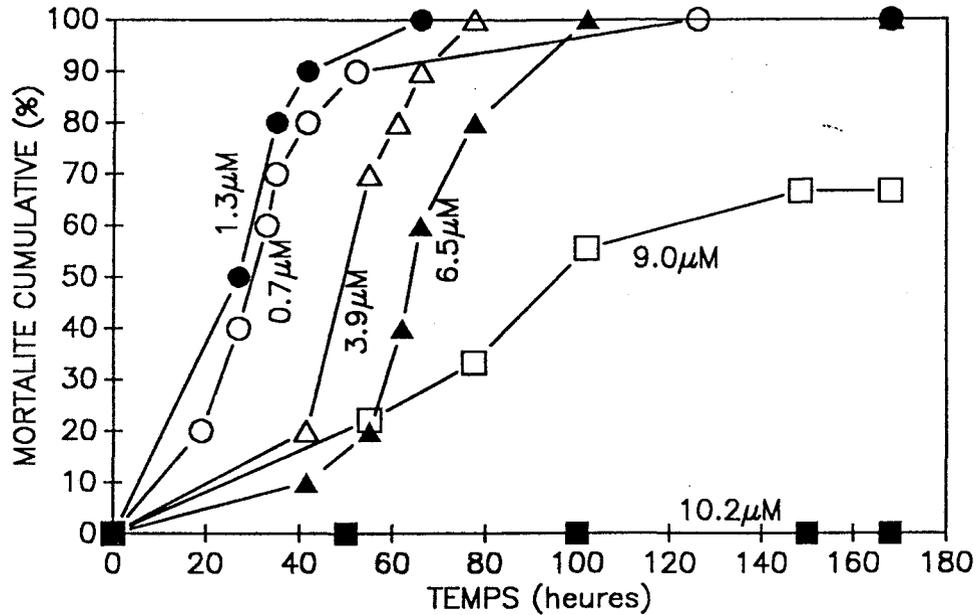


Figure 9 Mortalité cumulative (%): pH=4.5, [Al]=9 μM , et (○) 0.7 μM F^- , (●) 1.3 μM F^- , (△) 3.9 μM F^- , (▲) 6.5 μM F^- , (□) 9.0 μM F^- , (■) 10.2 μM F^- .

On présente aux figures 10 et 11 l'effet de l'augmentation de la concentration en fluoro-complexes d'aluminium en présence d'une concentration constante de l'ion libre et ses hydroxo-complexes (expériences F et G). Dans ces expériences, on augmentait à la fois les concentrations totales en aluminium et en fluorures de sorte que la concentration de l'ion libre, Al^{3+} , demeurait constante d'une expérience à l'autre afin de vérifier le modèle de l'ion libre. Bien que cette dernière et les concentrations des divers hydroxo-complexes dans les bassins expérimentaux soient semblables, on note une mortalité accrue avec l'augmentation de la concentration des fluoro-complexes d'aluminium.

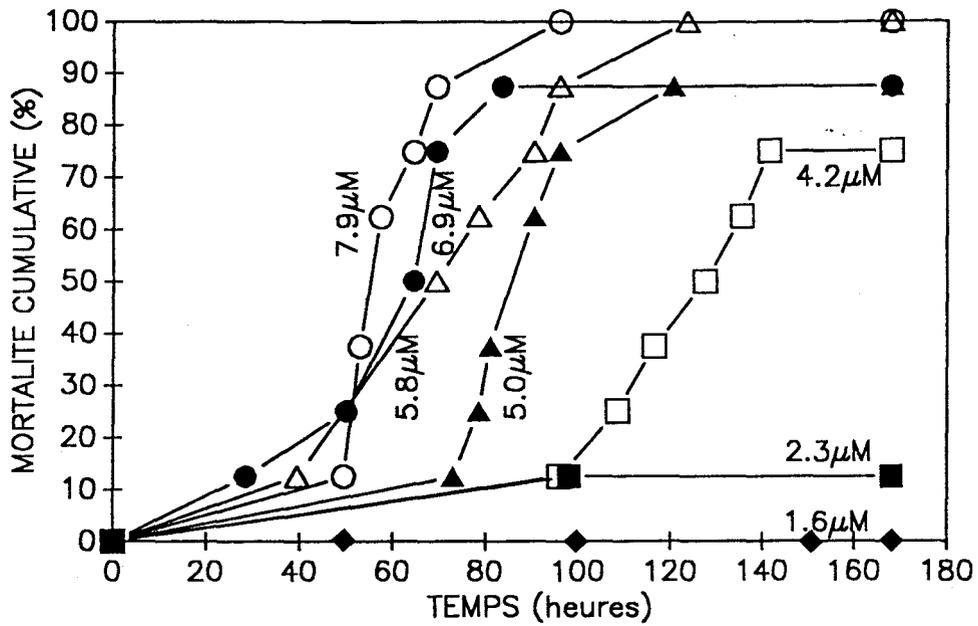


Figure 10 Mortalité cumulative: $\text{pH}=4.9$, $\Sigma[\text{Al}^{3+}]+[\text{Al}(\text{OH})_x] = 1.5 \mu\text{M}$ et
 (○) $7.9 \mu\text{M AlF}_x$, (●) $6.9 \mu\text{M AlF}_x$, (△) $5.8 \mu\text{M AlF}_x$,
 (▲) $5.0 \mu\text{M AlF}_x$, (□) $4.2 \mu\text{M AlF}_x$, (■) $2.3 \mu\text{M AlF}_x$,
 (◆) $1.6 \mu\text{M AlF}_x$.

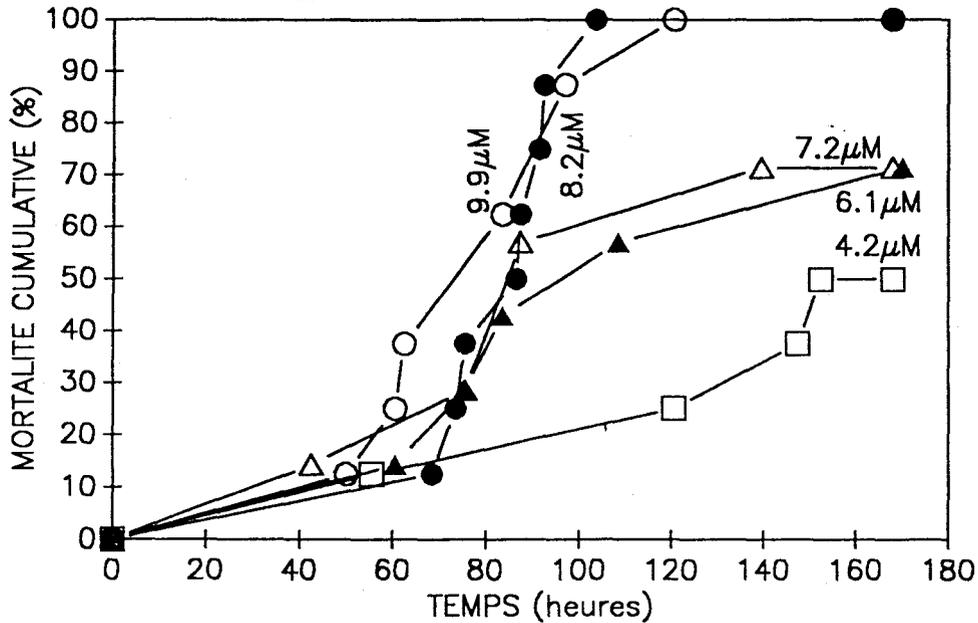


Figure 11 Mortalité cumulative: $\text{pH}=4.5$, $\Sigma[\text{Al}^{3+}]+[\text{Al}(\text{OH})_x] = 1.3 \mu\text{M}$ et
 (○) $9.4 \mu\text{M AlF}_x$, (●) $8.2 \mu\text{M AlF}_x$, (△) $7.2 \mu\text{M AlF}_x$,
 (▲) $6.1 \mu\text{M AlF}_x$, (□) $4.2 \mu\text{M AlF}_x$.

(iv) Concentrations en Al dans les branchies. Pour les expériences B et C, on a pu déterminer les concentrations d'aluminium branchial des poissons morts (ceux qui ont été récupérés moins de 4 heures après la cessation d'activité operculaire) de même que pour les poissons vivants après l'exposition de 7 jours aux conditions expérimentales. Les résultats sont présentés aux figures 12 à 15.

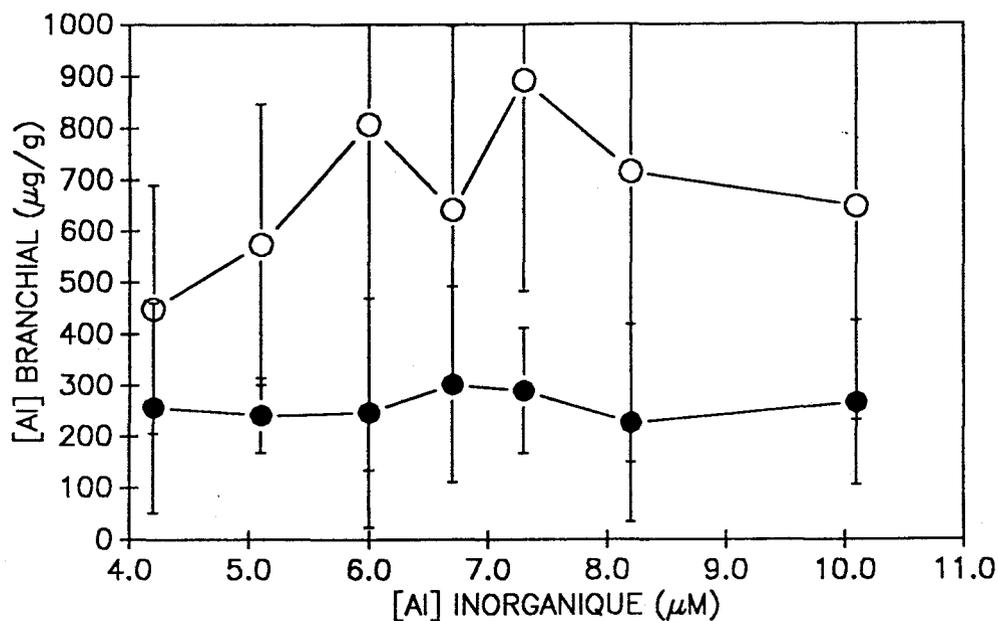


Figure 12 Concentration (\pm écart-type) en aluminium branchial en fonction de l'aluminium inorganique en solution (Traitement létal). EXPERIENCE B: (○) aluminium total; (●) aluminium non-extractible à l'EDTA (absorbé); $n \geq 3$.

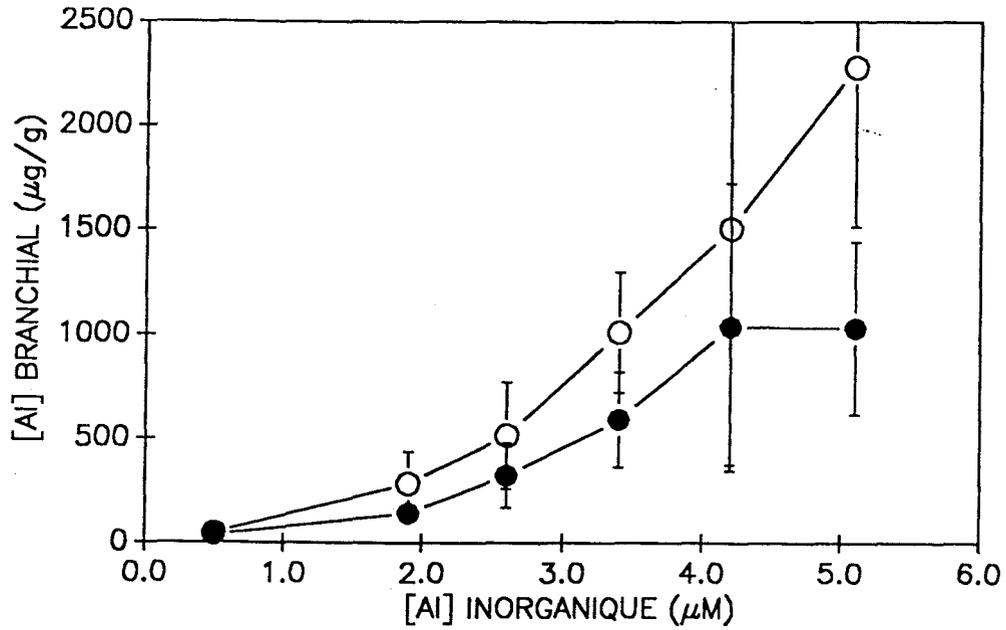


Figure 13 Concentration (\pm écart-type) en aluminium branchial en fonction de l'aluminium inorganique en solution (Traitement sous-létal). EXPERIENCE B: (○) aluminium total; (●) aluminium non-extractible à l'EDTA (absorbé); $n \geq 3$.

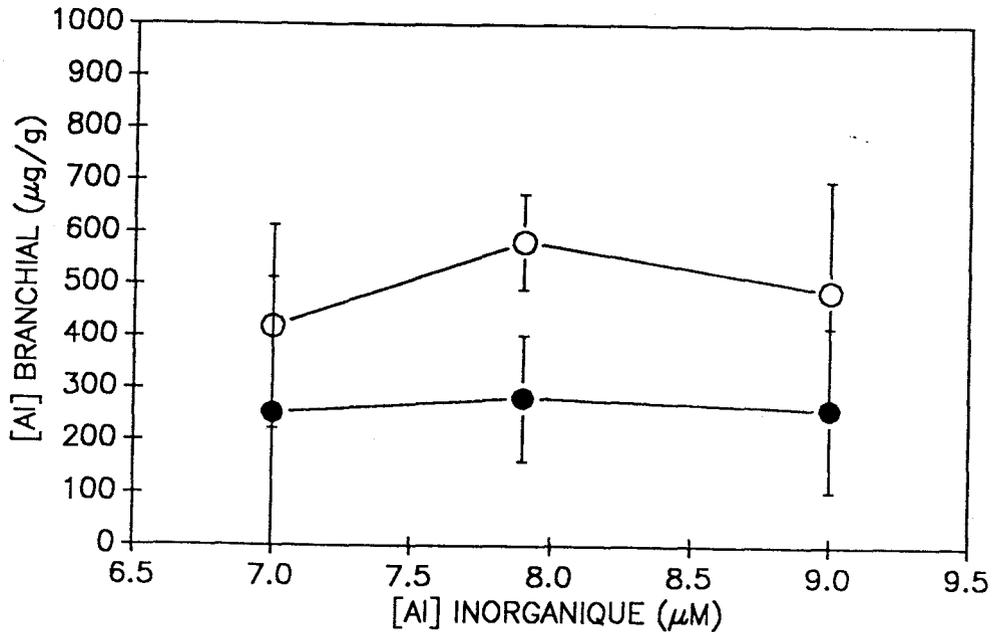


Figure 14 Concentration (\pm écart-type) en aluminium branchial en fonction de l'aluminium inorganique en solution (Traitement létal). EXPERIENCE C: (○) aluminium total; (●) aluminium non-extractible à l'EDTA (absorbé); $n \geq 3$.

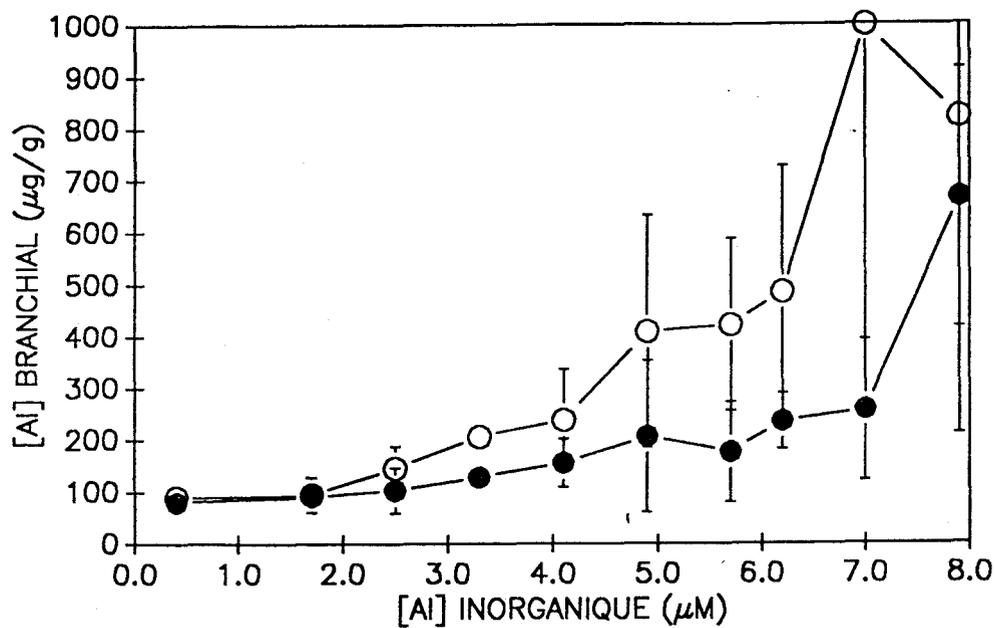


Figure 15 Concentration (\pm écart-type) en aluminium branchial en fonction de l'aluminium inorganique en solution (Traitement sous-létal). EXPERIENCE C: (○) aluminium total; (●) aluminium non-extractible à l'EDTA (absorbé); $n \geq 3$.

Dans le cas de l'aluminium à une concentration sous-létale, on constate que les concentrations totales en Al branchial, de même que les concentrations en aluminium absorbé, sont dans certains cas significativement plus élevées chez les vivants que celles observées chez les poissons morts. On voit un exemple de ceci dans la figure 16.

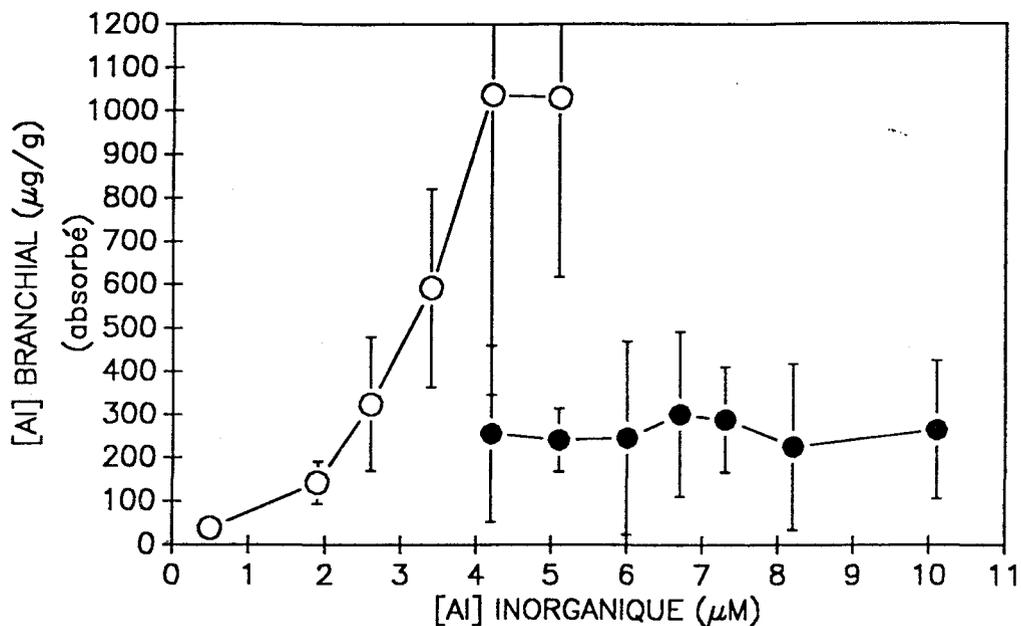


Figure 16 Concentration (\pm écart-type) en aluminium branchial absorbé en fonction de la concentration d'aluminium en solution. Expérience B: (o) poissons vivants, (●) poissons morts après une exposition de 168 heures; $n \geq 3$.

4.2.2 Tests sous-létaux

(i) ATP dans le muscle squelettique. Dans les tableaux 8 à 11, on présente les mesures d'ATP dans le muscle squelettique. L'analyse ANOVA (suivi du test de Tukey, intervalle de confiance à 95%) a été utilisée afin de distinguer les concentrations d'ATP.

Tableau 8 Concentrations en ATP dans le muscle squelettique (expérience B).

Bassin	[Al]-inorg. (μM)	[ATP] ($\mu\text{M g}^{-1}$)	Ecart-type ($\mu\text{M g}^{-1}$)	n
0	0.5	6.0 a	1.0	5
1	1.9	7.4 ab	0.7	4
2	2.6	8.7 bc	0.9	5
3	3.4	9.2 bc	1.4	4
4	4.2	9.9 c	0.5	4
5	5.1	10.3 c	0.9	4

a,b,c Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau 9 Concentrations en ATP dans le muscle squelettique (expérience C).

Bassin	[Al]-inorg. (μM)	[ATP] ($\mu\text{M g}^{-1}$)	Ecart-type ($\mu\text{M g}^{-1}$)	n
0	0.4	3.3 a	1.3	5
1	1.7	4.7 a	1.1	4
2	2.5	4.0 ab	1.0	5
7	6.2	5.8 bc	0.5	5
8	7.0	6.4 bc	0.4	4
9	7.9	6.8 c	0.8	5

a,b,c Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau 10 Concentrations en ATP dans le muscle squelettique (expérience G).

Bassin	[Al]-inorg. (μM)	[ATP] ($\mu\text{M g}^{-1}$)	Ecart-type ($\mu\text{M g}^{-1}$)	n
0a*	0.3	9.1 a	1.0	5
0	0.3	9.1 a	1.3	6
1	1.8	8.8 a	0.2	3
2	2.6	8.4 a	1.3	6
3	3.6	9.2 a	1.2	4
4	4.6	8.8 a	2.6	4
5	6.0	6.5 a	1.7	4

* témoin acide et aluminium (pH \approx 6.3)

a Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau 11 Concentrations en ATP dans le muscle squelettique (expérience H).

Bassin	[Al]-inorg. (μM)	[ATP] ($\mu\text{M g}^{-1}$)	Ecart-type ($\mu\text{M g}^{-1}$)	n
0a*	0.6	10.0 a	2.0	5
0	0.8	8.1 ab	1.3	5
1	1.8	7.9 ab	1.2	5
2	2.4	8.2 ab	2.1	5
3	3.1	7.4 ab	1.4	5
4	3.9	6.9 ab	1.3	6
5	5.5	7.2 ab	1.4	4
6	6.1	6.3 b	2.1	4

* témoin acide et aluminium (pH \approx 6.3)

a,b Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

(ii) Na plasmatique. Les concentrations en sodium dans le plasma des tacons sont présentées aux tableaux A3.5.1 à A3.5.9. Quelques

expériences paraissent sous forme graphique dans les figures 17 à 19. L'analyse ANOVA (test de Tukey, intervalle de confiance à 95%) a été employée afin de distinguer entre les concentrations moyennes de Na plasmatique (v. annexe). Bien que les unités ne soient pas standards, elles ont été choisies en fonction des très petits volumes de sang prélevés.

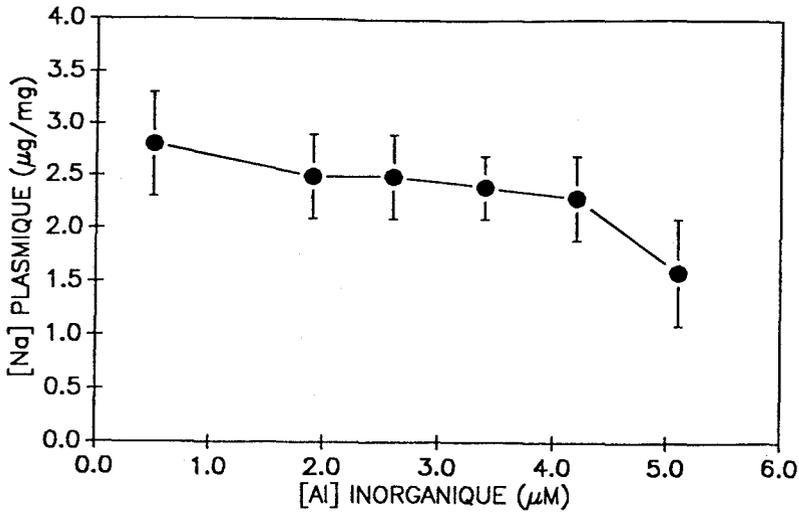


Figure 17 Variation de [Na] plasmatique (\pm écart-type) en fonction de Σ Al inorg. EXPERIENCE B, pH 4.5.

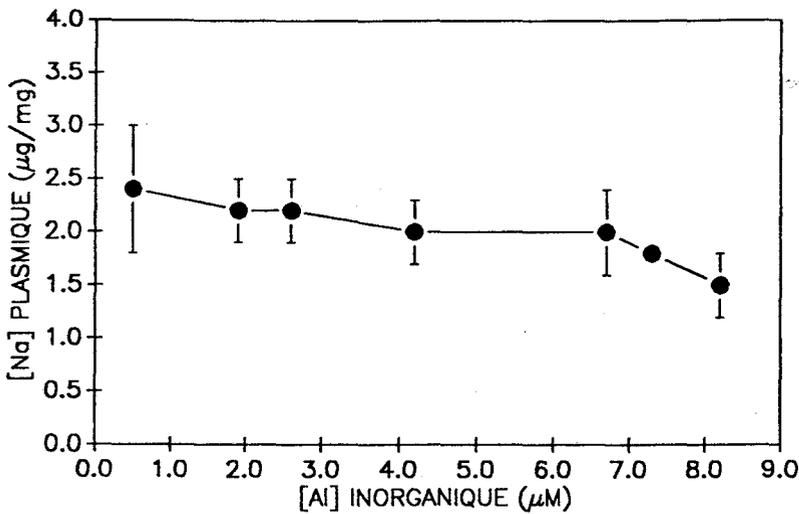


Figure 18 Variation de [Na] plasmatique (\pm écart-type) en fonction de Σ Al inorg. EXPERIENCE C, pH 4.5.

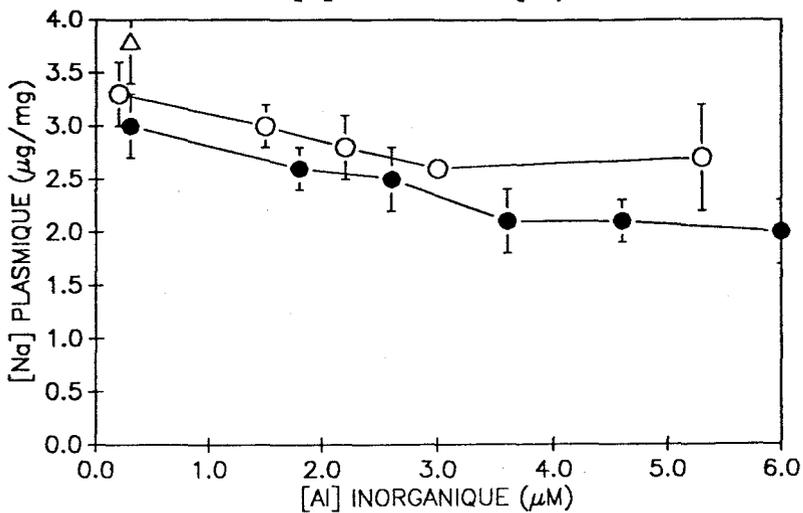


Figure 19 Variation de [Na] plasmatique (\pm écart-type) en fonction de Σ Al inorg. EXPERIENCE F: (Δ) pH 6.3, (\circ) pH 4.9; EXPERIENCE G: (\bullet) pH 4.5.

5. DISCUSSION

5.1 Physicochimie des solutions expérimentales

Selon les concentrations dosées et les calculs de spéciation correspondants, on constate qu'à une exception près, 85-100% de l'aluminium se retrouvait sous la forme monomère inorganique. On a donc réussi à éviter la formation d'espèces polynucléaires et la précipitation subséquente de $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$. La prédominance de l'aluminium monomère fut favorisée en travaillant à des concentrations n'excédant pas la limite de solubilité de l'hydroxyde d'aluminium. De plus, on renouvelait les milieux deux ou trois fois par jour afin de minimiser l'accumulation de la matière organique (mucus, produits fécaux, etc.). L'absence d'Al organique dans les milieux simplifie l'analyse des résultats. Enfin, la période de 24 heures pour le vieillissement des solutions semblent avoir été suffisante pour que celles-ci atteignent un état d'équilibre avant l'introduction des poissons.

Les concentrations les plus élevées en aluminium monomère inorganique utilisées ($\approx 12 \mu\text{M}$) sont un peu plus élevées que celles observées au printemps dans quelques rivières à saumon de la Côte-Nord ([Al] inorganique $\approx 4 \mu\text{M}$, étendue: 5-8 μM ; Campbell et al., 1989). Cependant, on remarque que des concentrations en Al inorganique moins importantes que 4 μM se sont avérées toxiques chez les tacons étudiés ici (voir ci-dessous). La pertinence d'étudier des concentrations plus élevées que 4 μM découle de la relation évidente entre l'acidification

des eaux de surface et la mobilisation/mise en circulation de l'aluminium. Pour plusieurs cours d'eau de la Côte-Nord, Campbell et al. (1989) ont remarqué une relation entre le pAl^{3+} et le pH, comme anticipée pour la dissolution acide de la gibbsite microcristalline. On peut donc formuler l'hypothèse que si les concentrations de l'ion hydrogène augmentent dans les années à venir, il pourra en résulter une augmentation importante des concentrations en aluminium dissous, ce qui engendrera de très graves problèmes chez le saumon atlantique, comme il a déjà été observé ailleurs (Jensen et Snekvik, 1972; Dickson, 1983; Watt, 1983; Skogheim et al., 1984). Les concentrations étudiées en aluminium se situent donc dans une gamme de concentrations réaliste.

5.2 Tests létaux

Nos données permettent d'établir que la complexation de l'aluminium par des quantités importantes de fluorures diminue d'une façon appréciable sa toxicité. Par contre, à des concentrations en fluorures les plus souvent rencontrées dans l'environnement, la complexation tempère peu l'effet toxique de l'aluminium.

5.2.1 CL50

L'impact de l'ajout de quantités importantes de fluorures aux bassins expérimentaux se traduit par une augmentation des CL50 (tableau 6). Toutefois, ce changement n'est pas statistiquement significatif

pour un intervalle de confiance de 95%. L'incapacité de distinguer statistiquement les valeurs de CL50 dans les expériences B et C, ou encore dans les expériences H et I, doit être considérée non pas comme indiquant une absence d'effet mais plutôt comme une conséquence de la variabilité inhérente du protocole analytique utilisé pour la détermination de la CL50: celui-ci implique l'interpolation de la concentration qui correspond à une mortalité de 50%. Etant donné la faible solubilité de l'aluminium, nous n'avions à notre disponibilité qu'une gamme très restreinte de concentrations pour le calcul de la CL50. En effet, il était difficile d'obtenir des valeurs de mortalité autre que 0% et 100% chez les populations étudiées.

Dans leurs expériences portant sur la toxicité de l'aluminium pour le saumon atlantique, Van Coillie et al. (1983) ont déterminé une valeur de la CL50-7 jours de $67 \mu\text{g Al inorganique L}^{-1}$ ($2.5 \mu\text{M}$) à un pH de 4.6 dans une eau synthétique identique à celle de nos expériences. Cette valeur est inférieure à la nôtre ($4.8 \mu\text{M}$); signalons cependant que ces chercheurs ont travaillé à un pH légèrement plus élevé que celui utilisé dans nos expériences. Dans leurs essais, à-peu-près 70% de l'aluminium dissous était sous forme monomère inorganique. Si on traduisait leur concentration d'Al en terme de concentration en aluminium total dissous, la valeur de CL50-7 jours serait de $3.7 \mu\text{moles Al L}^{-1}$ ($2.7-4.9 \mu\text{M}$), une valeur comparable à la nôtre ($4.8 \mu\text{M}$: $3.9-7.1 \mu\text{M Al}$).

5.2.2 Concentrations engendrant 0% et 100% de mortalité

Compte tenu du faible pouvoir de résolution des valeurs de CL50 pour discriminer les effets des diverses conditions expérimentales, nous avons également considéré les concentrations en aluminium provoquant 0% et 100% de mortalité après 7 jours. Signalons immédiatement que ces concentrations ne sont pas calculées, mais plutôt obtenues à partir de l'examen des résultats de chaque expérience. On note la concentration la plus élevée où il n'y a pas eu de mortalité ainsi que la concentration où tous les poissons sont morts. Les concentrations d'aluminium inorganique induisant une mortalité de 100% s'avèrent très variables d'une expérience à l'autre (tableau 7); il en est de même pour les concentrations qui ne provoquent pas de mortalité. Compte tenu de la variabilité de la spéciation de l'aluminium inorganique dans les différentes expériences, ce résultat ne devrait pas nous surprendre; cependant, cette variabilité persiste même si les concentrations sont exprimées en terme de Al^{3+} . En effet, pour différentes concentrations de F^- , les concentrations en Al^{3+} provoquant 0% ou 100% de mortalité varient beaucoup (rapport valeur maximum/valeur minimum $\approx 75X$). Rappelons que selon le modèle d'ion libre (MIL), les concentrations en Al^{3+} nécessaires pour provoquer une mortalité auraient dû demeurer constantes d'une expérience à l'autre.

Ces résultats constituent une première indication de l'échec du modèle d'ion libre pour prédire la toxicité de l'aluminium dans le présent système. De plus, on constate que les concentrations en aluminium inorganique ne peuvent être considérées comme de bons

indicateurs de toxicité dans les eaux contenant des quantités variables de fluorures.

5.2.3 Mortalité cumulative

Etant donné le faible pouvoir de résolution des valeurs de CL50, nous avons calculé la mortalité cumulative afin de mettre en évidence des différences entre les bassins. Fivelstad et Leivestad (1984) ont déjà exprimé leurs résultats de mortalité de cette façon dans une étude sur la toxicité de l'Al envers Salmo salar et Salmo trutta. A des concentrations en aluminium constantes, la réponse du Salmo salar à l'aluminium est atténuée (fig. 9) en augmentant la concentration de fluorures. Une telle réponse est conforme à celle prédite par le modèle MIL puisqu'en augmentant la concentration de F^- , les concentrations en Al^{3+} diminuent.

Les mortalités cumulatives obtenues avec des concentrations constantes en Al^{3+} et en ses hydroxo-complexes (expériences F et G; figures 10 et 11), révèlent toutefois que la mortalité augmente en fonction de la concentration totale en Al. En d'autres termes, on constate que l'on ne peut pas prédire l'effet toxique de l'aluminium en ne considérant que la concentration de l'ion libre Al^{3+} . Dans les expériences F et G, on a l'avantage de comparer à un temps donné un même groupe de poissons exposés à des concentrations variables. Comme on a gardé la concentration en Al^{3+} et en ses hydroxo-complexes constante,

l'effet toxique croissant peut être attribué aux autres espèces d'aluminium présentes en solution et/ou à la surface des branchies (i.e., les fluoro-complexes d'aluminium). En augmentant les concentrations de $Al(F)_x$ à pH 4.5 et à pH 4.9, on constate une détérioration de l'état de santé du Salmo salar.

Vu cet échec évident du MIL, on a étudié la possibilité de déterminer des relations (empiriques) capables de prédire la toxicité de l'aluminium. On a porté en graphique le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la concentration en aluminium: l'échelle semi-log facilite la comparaison entre les expériences dans lesquelles les concentrations diffèrent d'un facteur de 100 (figures 20 et 21). Cette relation met en évidence qu'en présence de fluorures, la mortalité n'est pas une fonction unique de la concentration en aluminium inorganique. Il en est de même en exprimant la mortalité cumulative en fonction de la concentration de l'ion libre, Al^{3+} (figures 22 et 23). On peut donc affirmer que ni les concentrations en aluminium inorganique ni les concentrations en ion libre Al^{3+} en solution ne suffisent comme indicateurs adéquats pour prédire la mortalité chez les tacons du saumon atlantique.

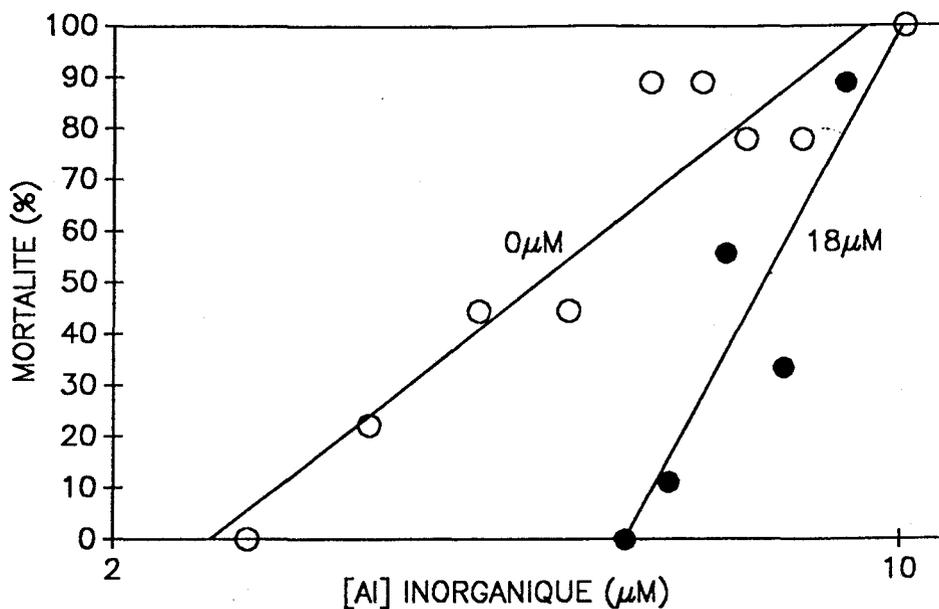


Figure 20 Courbes de toxicité: mortalité après 7 jours en fonction de la concentration en aluminium inorganique (log) pour l'expérience B (o:0 μ M F⁻) et l'expérience C (●:18 μ M F⁻).

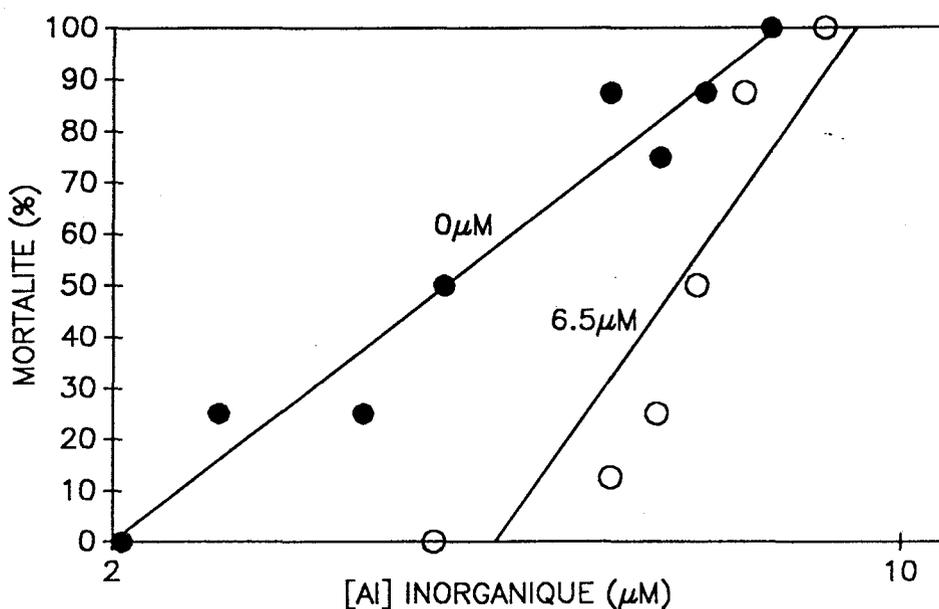


Figure 21 Courbes de toxicité: mortalité après 7 jours en fonction de la concentration en aluminium inorganique (log) pour l'expérience H (o:6.5 μ M F⁻) et l'expérience I (●:0 μ M F⁻).

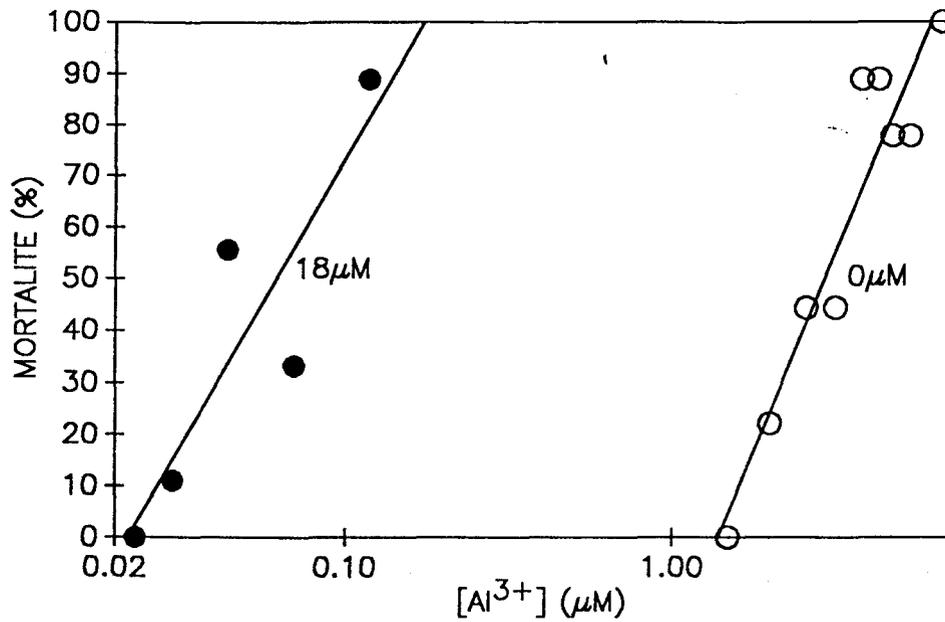


Figure 22 Courbes de toxicité: mortalité après 7 jours en fonction de la concentration de l'ion libre Al^{3+} (log) pour l'expérience B (o : $0\mu\text{M F}^-$) et l'expérience C (● : $18\mu\text{M F}^-$).

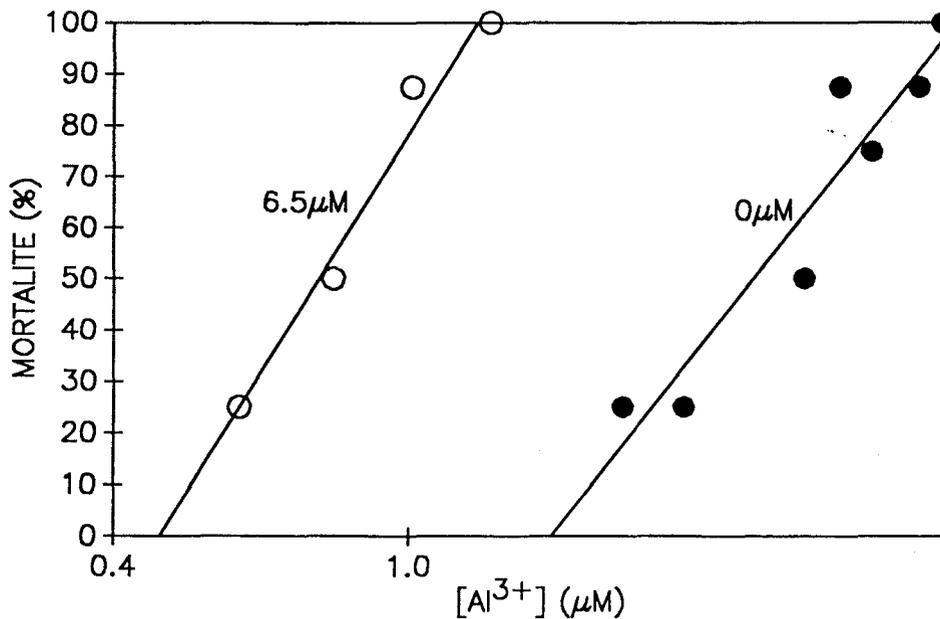


Figure 23 Courbes de toxicité: Mortalité après 7 jours en fonction de la concentration de l'ion libre Al^{3+} (log) pour l'expérience H (o : $6.5\mu\text{M F}^-$) et l'expérience I (● : $0\mu\text{M F}^-$).

La relation entre la réponse biologique et les concentrations en Al dans le milieu a également été étudiée en portant en graphique le pourcentage de mortalité en fonction de certaines fractions de l'aluminium inorganique (cf. Fivelstad et Leivestad, 1984). La meilleure relation prédictive est celle obtenue en exprimant le pourcentage de mortalité en fonction de Al^{3+} et $Al(F)^{2+}$; seule l'expérience C ($[F^-]$ plus élevée que les autres et donc non-réaliste par rapport à ce qu'on trouve dans l'environnement) demeure à l'écart. La mortalité observée est présentée en fonction de la mortalité prédite ($M.P.=15.8[Al^{3+}] + 9.1[AlF_2^+]$; $r^2=0.87$) à la figure 24. Il serait facile de se laisser séduire par ces résultats et de postuler une «toxicité sélective» d'une ou de quelques espèces d'aluminium en solution, comme proposé par Helliwell et al. (1983) ou Fivelstad et Leivestad (1984). Cependant, tel que discuté dans l'introduction, une telle approche ne peut être retenue; il est plus instructif (et plus conforme aux caractéristiques thermodynamiques et cinétiques des interactions «métaux-organismes») de considérer les interactions $Al + F^- (+OH^-)$ à la surface des branchies et non pas en solution.

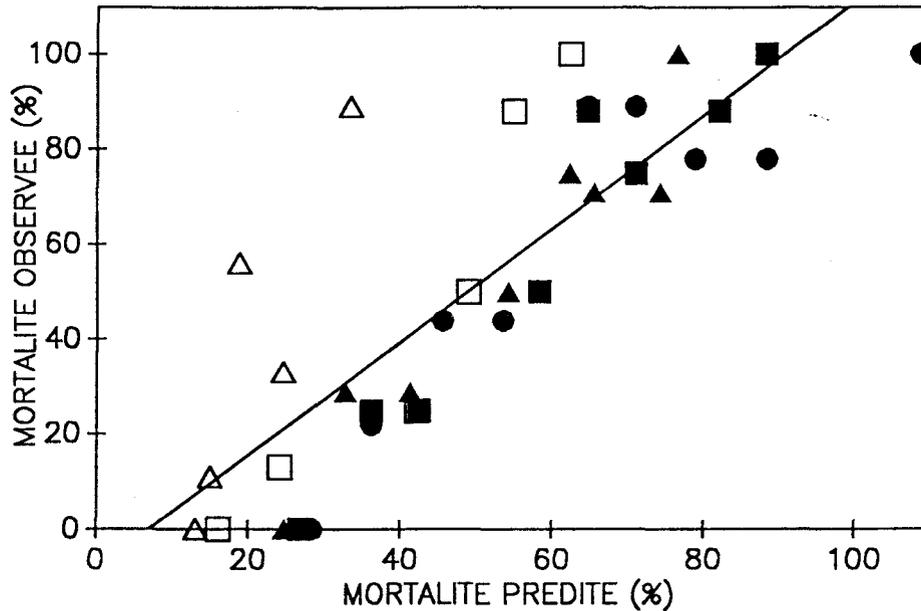


Figure 24 Variation de la mortalité observée de *Salmo salar* en fonction de la mortalité prédite pour les expériences B (●), C (△), G (▲), H (□), et I (■).

5.2.4 Modélisation

(i) Généralités.

Pour améliorer la compréhension des interactions $Al + F^- (+OH^-)$ à la surface des branchies, il convient de développer un modèle simple des réactions à la surface biologique (cf. Neville et Campbell, 1988). Quelques équilibres pertinents sont illustrés à la figure 25.

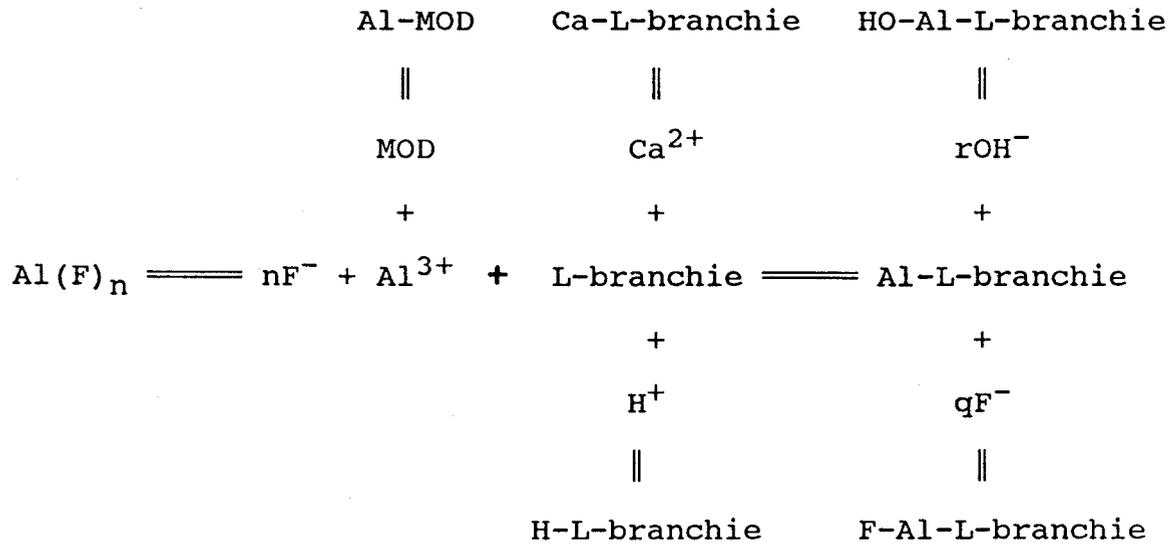


Figure 25 Quelques équilibres à la surface des branchies. MOD=matière organique dissoute.

Selon ces équilibres, une diminution de toxicité serait le résultat d'une compétition chimique qui diminuerait soit la concentration d'aluminium disponible pour la prise en charge, soit le nombre de sites occupés par l'aluminium à la surface de la cible biologique. Signalons qu'une corrélation apparente entre la mortalité et la concentration de l'espèce Al(X)^{2+} en solution peut s'expliquer par la formation d'un complexe mixte $\{\text{X-Al-L-branchie}\}$ (les charges sur les espèces sont négligées pour fins de simplicité):



$$\begin{aligned} \text{réponse biologique} &\propto [\text{X-Al-L-branchie}] = K_2 [\text{L-branchie}][\text{Al-X}] \\ &= K^* [\text{Al-X}] \end{aligned}$$

Marklund et al. (1986) ont déjà postulé la formation de tels complexes mixtes (X=OH) pour des ligands tels que le salicylate, le pyrocatechol et le 1,2-dihydroxynaphtalène-4-sulfonate.

Avant d'examiner les conséquences de l'application de cette approche sur nos résultats, précisons quelques caractéristiques du modèle. On fait d'abord l'hypothèse que la répartition de l'aluminium entre la surface des branchies et le milieu extérieur se produit rapidement par rapport à l'expression de la réponse toxique. Selon nos résultats de cinétique pour Salmo gairdneri (Wilkinson et Campbell, non-publié), il semble que l'adsorption commence au début de l'expérience et atteint son maximum après environ dix heures d'exposition. Autrement dit, on accepte qu'il existe un quasi-équilibre dans nos bassins expérimentaux entre la solution et la surface des branchies (Morel, 1984). Comme deuxième hypothèse, on considère que la réponse toxique du poisson à l'aluminium sera proportionnelle à la concentration d'une (ou de quelques) espèce(s) {X-Al-branchie}, où X = F, OH, ou OH₂. Cependant,

on s'attend à ce que l'aluminium puisse se lier ailleurs sur la branchie (sites non-sensibles) sans provoquer de réponse toxique. Pour cette raison, on ne peut s'attendre à voir des relations étroites entre la concentration en aluminium extractible à l'EDTA (Al absorbé) et la réponse biologique des tacons.

Selon ce schéma, les ions de dureté (Ca^{2+} , Mg^{2+}) pourraient protéger la cible biologique de deux façons: par une compétition avec l'aluminium et l'ion hydrogène, et/ou en protégeant l'intégrité de la membrane. Plusieurs auteurs (McWilliams, 1982; McDonald *et al.*, 1983a et b) indiquent que c'est surtout le deuxième mécanisme qui s'applique chez les salmonidés.

(ii) Choix des paramètres du modèle.

Comme les concentrations en aluminium diminuent peu au cours de l'expérience, on fait l'hypothèse que $[\text{Al}] \geq [\text{L-branchie}]$, c'est-à-dire que l'aluminium est présent en excès par rapport au nombre de sites disponibles pour le lier. On assigne donc une concentration de 10^{-6} M pour le ligand {L-branchie} hypothétique. En traitant {L-branchie} comme un simple ligand en solution, on ne tient pas compte des interactions de surface. L'objet de la modélisation n'est pas de reproduire les interactions Al-branchie dans toute leur complexité, mais

simplement d'examiner les implications de la formation de complexes mixtes {F-Al-L-branchie}.

Pour prédire l'allure des courbes de mortalité en fonction des conditions prévalant dans les différentes expériences, on doit assigner des valeurs "raisonnables" aux diverses constantes de formation. Les valeurs retenues sont rassemblées dans le tableau 12. Signalons que la valeur numérique de la constante pour la formation d'un fluoro-complexe à la surface de la branchie (le produit $K_1 * K_2$; voir ci-haut) a été obtenue par itération. Bien que cette valeur ait été choisie de façon arbitraire (remarquer qu'elle n'a pas nécessairement de sens physique), elle nous indique l'ordre de grandeur de l'affinité de l'ion fluorure pour les formes {Al-L-branchie}.

Tableau 12 Quelques réactions $M^{Z+} + L$ -branchie et les constantes de formation correspondantes.

	Réaction	Constante (K) (log)	Référence
(1)	$H^+ + L$ -branchie	5.2	Pagenkopf, 1983
(2)	$2 H^+ + L$ -branchie	10.5	Pagenkopf, 1983
(3)	$Ca^{2+} + L$ -branchie	3.7	Pagenkopf, 1983
(4)	$Al^{3+} + L$ -branchie	12	Cette publication
(6)	$Al^{3+} + F^- + L$ -branchie	18	Cette publication

(iii) Résultats.

D'après le modèle simple de l'ion libre, la complexation de Al^{3+} en solution, ou la liaison de cations autres que l'aluminium (H^+ , Ca^{2+}) sur

les sites branchiaux {L-branchie}, diminue la concentration totale d'aluminium lié aux sites sensibles et donc la réponse toxique. Ceci s'applique bien dans le cas de la complexation par la matière organique. Cependant, en présence de fluorures, la diminution de la toxicité de l'aluminium ne suit pas la diminution de la concentration de l'ion libre, Al^{3+} : la toxicité s'avère nettement supérieure à celle prédite. Par exemple, dans l'expérience H, l'ajout de $6.5 \mu M$ de fluorures n'influence guère la réponse létale du saumon à l'aluminium. Pour expliquer ce phénomène, on peut évoquer la présence d'un complexe mixte à la surface de la branchie. Selon ce modèle modifié, l'ajout de fluorures entraînera une complexation de l'aluminium en solution et une baisse concomitante de la concentration de {X-Al-L-branchie}, où X = HO ou H_2O ; cependant, la concentration de {F-Al-L-branchie} augmentera et compensera, au moins partiellement, pour la baisse de {X-Al-L-branchie}.

Les figures 26 à 28 montrent les résultats de modélisation qualitative suite aux expériences clés (A et G). Dans la simulation représentée à la figure 26, on ne tient compte que de la formation de {Al-L-branchie}; l'augmentation de la concentration totale en aluminium n'a pas d'effet puisque la concentration en Al^{3+} et en hydroxo-complexes est constante. Dans une seconde simulation, en évoquant la formation d'un complexe mixte {F-Al-L-branchie}, on obtient une réponse comme celle présentée à la figure 27, où l'augmentation concomitante de Al_T et de F_T entraîne une augmentation de la forme {F-Al-L-branchie}. Finalement, pour les fins de comparaison, les valeurs de mortalité (7 jours) pour l'expérience F sont présentées en fonction de la

concentration d'aluminium inorganique (figure 28). En comparant le pourcentage de mortalité au pourcentage de sites occupés par l'aluminium, il ne faut pas s'attendre à une relation parfaite. Il est probable qu'il existe une gamme de concentrations où la forme {X-Al-L-branchie} est active. Ainsi, en-dessous d'une certaine concentration aucune mortalité n'est induite, alors qu'au-dessus tous les poissons meurent.

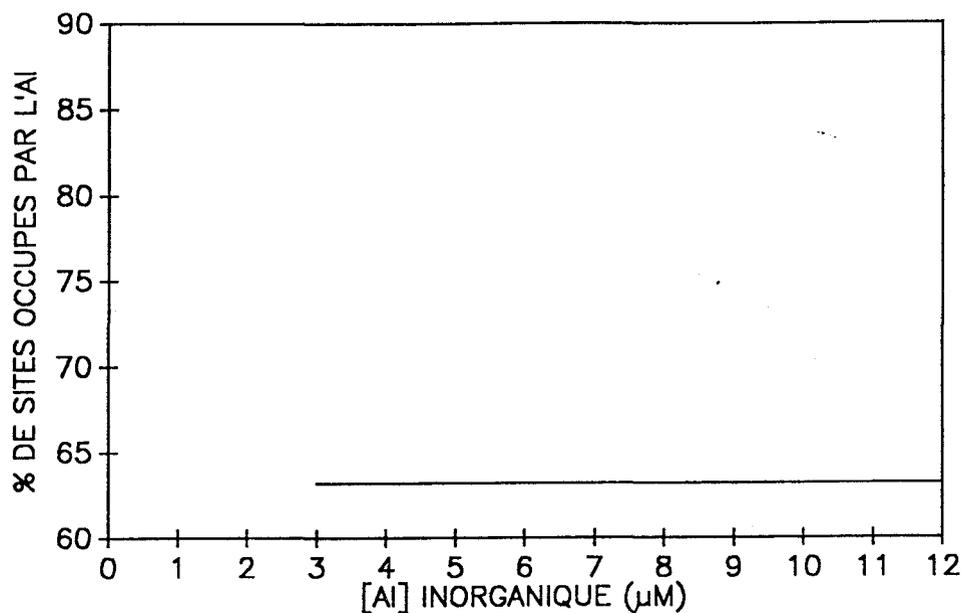


Figure 26 % de sites occupés par l'Al: effet d'une augmentation de la concentration en aluminium en ne tenant pas compte d'un complexe mixte {F-Al-L-branchie}.

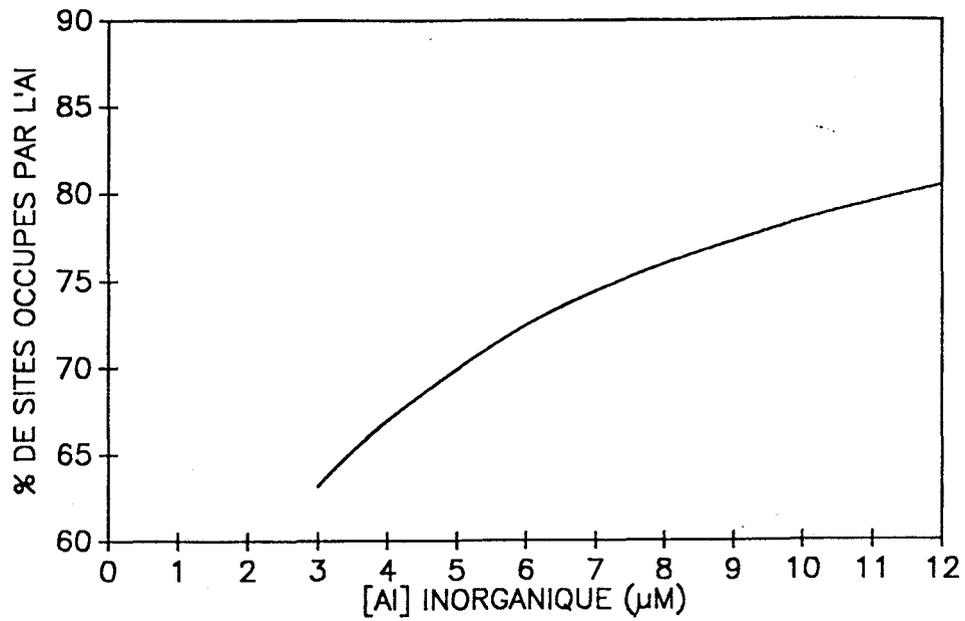


Figure 27 % de sites occupés par l'Al: effet d'une augmentation de la concentration en aluminium en tenant compte d'un complexe mixte {F-Al-L-branchie} ($K=10^{18}$).

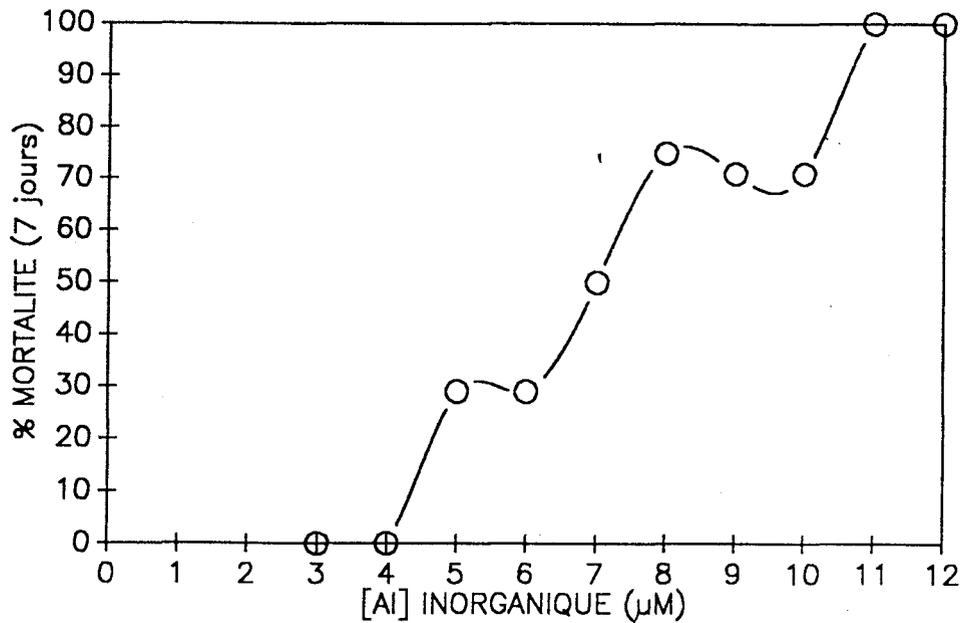


Figure 28 Pourcentage de mortalité (7 j) en fonction d'une concentration croissante d'aluminium inorganique pour l'expérience F.

D'autres simulations du pourcentage de sites occupés par l'aluminium, cette fois en fonction d'une concentration croissante de F^- , sont présentées aux figures 29 et 30. En ne tenant pas compte des complexes mixtes (X-Al-L-branchie), on produit une courbe à l'allure de la figure 29. Dans la figure 30, on inclut la formation de (F-Al-L-branchie). Finalement, dans la figure 31, on présente les résultats de mortalité de l'expérience A. La concordance entre ces simulations, et les données de toxicité, indiquent que la formation d'un fluoro-complexe d'aluminium à la surface branchiale peut expliquer la réponse biologique observée chez le saumon en présence d'aluminium et de fluorures.

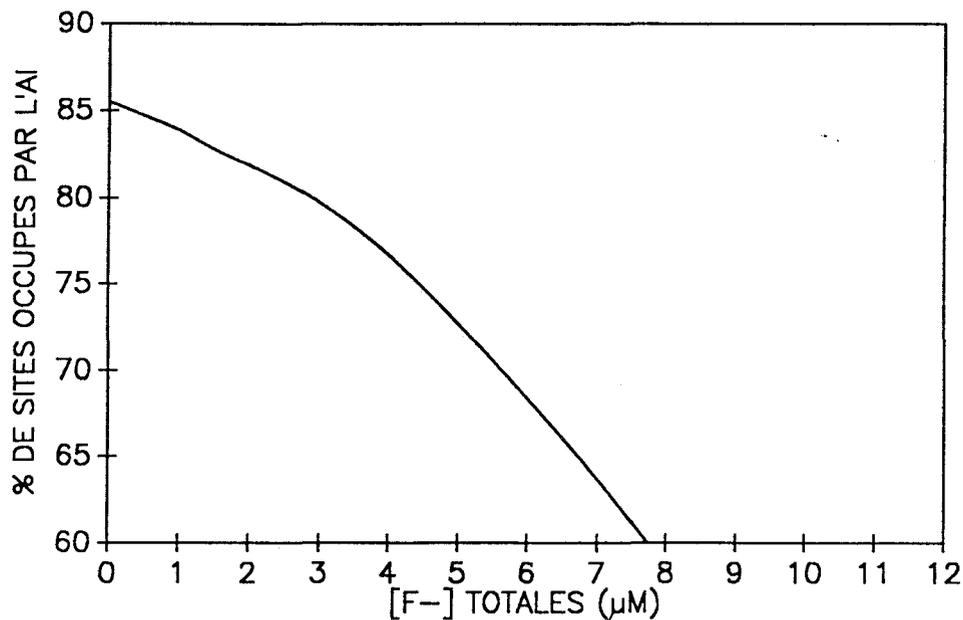


Figure 29 % de sites occupés par l'Al: effet d'une augmentation de la concentration de fluorures en ne pas tenant compte d'un complexe mixte (F-Al-L-branchie).

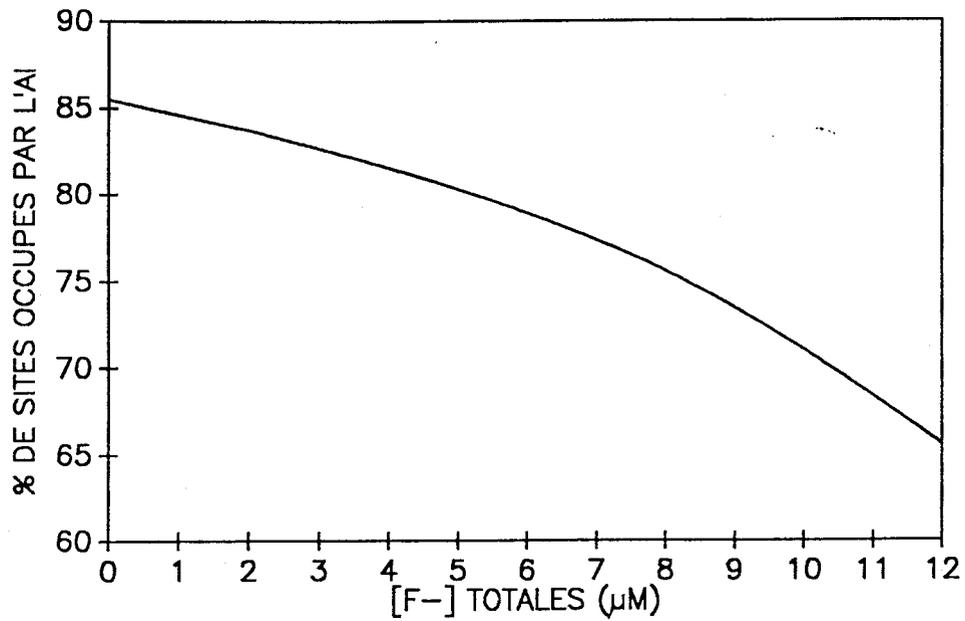


Figure 30 % de sites occupés par l'Al: effet d'une augmentation de la concentration en fluorures en tenant compte d'un complexe mixte (F-Al-L-branchie) ($K=10^{18}$).

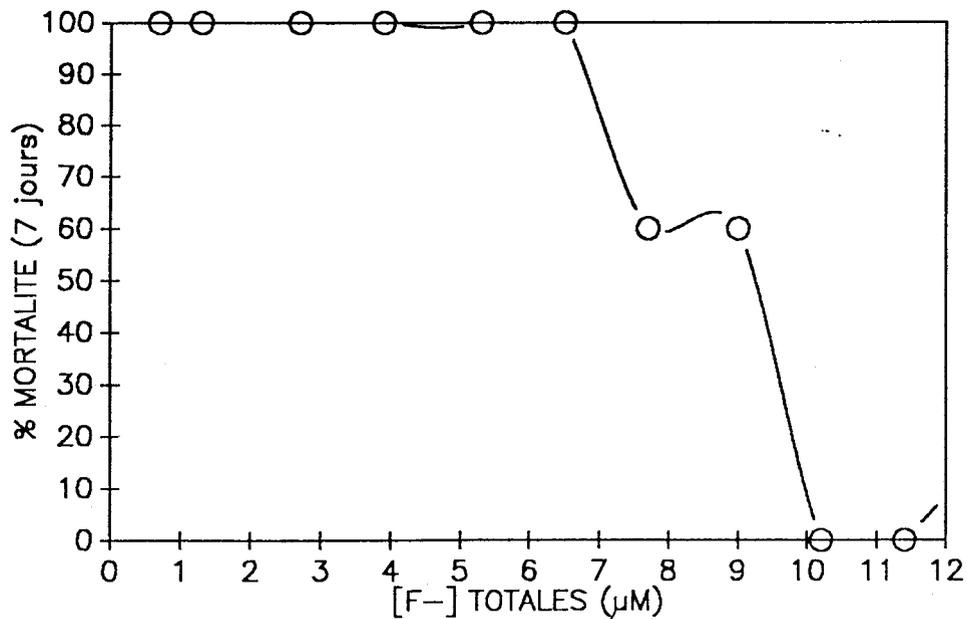


Figure 31 Pourcentage de mortalité (7 j) en fonction de concentrations croissantes en fluorures pour l'expérience A.

5.2.5 Bioaccumulation de l'aluminium.

L'évidence apportée par les concentrations en Al dans les branchies porte à croire que la réponse biologique dépend de la concentration en aluminium «absorbé» (i.e., Al non-extractible à l'EDTA, 10^{-3} M). Dans l'expérience B, on a déterminé une concentration moyenne en aluminium absorbé de $260 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie (écart-type = $160 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie; $n=46$) chez les poissons morts. Avec ajout de fluorures ($18 \mu\text{M}$), bien que le nombre de poissons morts ait diminué de façon significative, ceux qui sont morts avaient des concentrations en aluminium branchial de $270 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie (écart-type = $170 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie; $n=17$). Il semble donc que la mortalité serait liée au fait que le poisson accumulait une «teneur critique d'aluminium dans les branchies» à l'intérieur d'un temps donné.

Dans plusieurs cas, pour un même bassin, les concentrations en aluminium absorbé et adsorbé étaient plus importantes chez les survivants que pour les poissons qui sont morts au cours de l'expérience. Chez les alevins non-vésiculés de Salmo gairdneri, Orr et al. (1986) ont observé une acclimatation aux concentrations sous-létales d'aluminium après une exposition préalable d'une ou deux semaines. Il est possible que dans le cas des tacons (1+) de saumon atlantique ce même processus d'acclimatation se produise. Une telle augmentation de tolérance expliquerait comment certains poissons vivants supportaient des concentrations «absorbées» de $1000 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie tandis que la

teneur branchiale critique ($\approx 260 \mu\text{g Al g}^{-1}$ branchie) se situe à une concentration significativement plus basse.

Dans l'expérience B, les concentrations en aluminium lié aux branchies des poissons exposés à l'aluminium inorganique dépassent celles des poissons de l'expérience C ($+18 \mu\text{M F}^-$). D'après notre modèle adapté, l'ajout d'un grand excès de fluorures adoucira l'effet toxique à cause de la compétition pour l'aluminium entre les sites de surface et l'excès de fluorures en solution.

5.3 Tests sous-létaux

5.3.1 ATP dans le muscle squelettique.

Blaise et al. (1983) ont pu évaluer la toxicité sous-létale d'une série d'effluents industriels en mesurant les concentrations en ATP du muscle squelettique de Salmo gairdneri. On a vérifié si les mêmes tendances de variation d'ATP pouvaient survenir après une exposition de Salmo salar à des concentrations sous-létales d'aluminium, de fluorures et d'acide (H^+). En conditions de stress, il y a souvent une diminution des quantités d'oxygène qui diffusent à travers les branchies, ce qui pourrait entraîner une diminution de la production d'ATP. Wood et al. (1988) ont démontré une telle diminution de la diffusion d'oxygène chez des spécimens de Salvelinus fontinalis en présence d'Al et de conditions acides. On pourrait donc prédire une chute des concentrations en ATP suite à une stimulation de la sécrétion de mucus et à une séparation des

couches épithéliales (augmentation de la distance de diffusion) induite par ces conditions toxiques.

Selon les résultats présentés aux tableaux 8 à 11, les valeurs d'ATP ne semblent pas refléter l'état métabolique des tacons exposés aux conditions variables d'acidité, d'aluminium et de fluorures. Dans la majorité des expériences, il s'est avéré impossible de déceler des différences sous-létales significatives entre les bassins. Pour les expériences B et C, il y avait une tendance vers des valeurs en ATP plus élevées à mesure que le pourcentage de mortalité augmentait, ce qui suggérerait que les poissons augmentaient leur consommation d'oxygène (i.e., $\uparrow O_2$, $\uparrow ATP$). Dans les autres expériences, l'évolution des concentrations en ATP ne montrait pas de tendance évidente sauf dans l'expérience H, où il y avait une diminution de l'ATP en fonction de la concentration d'aluminium en solution. Cette absence de tendances reproductibles provient vraisemblablement des limitations apparentes de la méthode analytique elle-même (coefficient de variation de 10-20%) ainsi que des effets induits par la grande variabilité biologique inhérente aux mesures. De nombreux facteurs abiotiques et biotiques s'avèrent difficilement contrôlables au cours de la procédure de dosage (e.g. $[O_2]_{\text{dissous}}$, durée de l'isolation du poisson, poids du poisson, durée de l'anesthésie, pH, etc.). Néanmoins, il est difficile d'expliquer comment, en exposant les poissons aux conditions de stress (H^+ , Al^{3+}), les niveaux d'ATP dans le muscle squelettique augmenteraient (expériences B et C).

5.4.2 Na plasmatique

Dans des conditions acides et à des concentrations élevées en aluminium, on s'attendrait à une diminution de la concentration en sodium dans le plasma du sang des poissons (Leivestad 1982; Wood et McDonald 1982; Neville, 1985). D'après les graphiques 17 à 19, l'aluminium seul, tout comme l'aluminium et les fluorures, provoque une diminution du Na plasmatique, même à des concentrations sous-létales. Apparemment, le mécanisme toxique est identique dans les deux cas: une perte d'ions plasmatiques qui mène à la mort des poissons. Signalons que les poissons exposés aux concentrations sous-létales en aluminium ou en aluminium + fluorures ont été affectés par des concentrations aussi faibles que 1 ou 2 μM d'aluminium inorganique. L'ion hydrogène a lui aussi un effet important sur l'osmorégulation du Salmo salar; ceci est mis en évidence par les différences entre les expériences F et G. En examinant les résultats obtenus pour le Na plasmatique, on ne voit pas d'évidence d'une protection réciproque des ions H^+ et Al^{3+} ; les concentrations en sodium dans le plasma des témoins (H^+ seul) sont toujours plus fortes que celles dans les poissons des bassins expérimentaux (Al^{3+} , F^- ajoutés).

6. CONCLUSION

La complexation de l'aluminium inorganique par les fluorures réduit sa toxicité. Cependant, cette atténuation s'avère moins importante que celle prédite; en effet, la toxicité résiduelle de l'aluminium en présence de fluorures dépasse de beaucoup celle qui aurait été anticipée en fonction des concentrations de l'ion libre, $[Al^{3+}]$, et de ses hydroxo-complexes, $[Al(OH)_n]$. Selon les résultats de la présente étude, l'aluminium ne se conforme donc pas au modèle général de toxicité des métaux traces (le "modèle d'ion libre"). En effet, on ne peut utiliser les concentrations en Al^{3+} pour prédire l'effet biologique de l'aluminium vis-à-vis du Salmo salar. La meilleure relation prédictive est plutôt celle obtenue en exprimant le pourcentage de mortalité en fonction de Al^{3+} (ou $Al(OH)_x$) et $Al(F)^{2+}$. Comme démontré dans la section 5.2, cette corrélation n'implique pas que les espèces (Al^{3+} , $Al(OH)_x$, $Al(F)_y$) sont les «espèces toxiques»; au contraire, elle suggère plutôt la formation d'espèces mixtes {X-Al-L-branchie} à la surface des branchies.

Pour tester la validité physique de notre modèle, et améliorer sa capacité prédictive, il faudrait préciser les conditions physicochimiques qui prévalent près des branchies et démontrer l'existence physique de complexes mixtes {X-Al-L-branchie}. Dans des conditions acides, les poissons augmentent le pH près de leurs branchies par des échanges ioniques (Neville et Campbell, 1988; Playle et Wood, 1989), influençant ainsi la spéciation de l'aluminium dans la

couche de solution près des branchies. Il serait alors intéressant et important de connaître le pH près de la surface de la membrane biologique. De plus, nos mesures d'aluminium branchial ne tiennent pas compte des variations de la superficie spécifique des branchies, ni des concentrations importantes de mucus qui se trouvent à leurs surfaces. Une meilleure appréciation de ces aspects permettrait de raffiner le modèle des interactions aluminium + branchies. Il faudrait également vérifier une des hypothèses clés du modèle, à savoir que la vitesse de complexation à la surface des branchies, dans une solution prédominante de Al^{3+} , de $Al(OH)_x$ ou de $Al(F)_y$, est plus rapide que l'expression de la réponse biologique à l'aluminium.

L'étude de la bioaccumulation de l'aluminium dans les branchies suggère que la réponse biologique dépend de la concentration en aluminium «absorbé» (i.e., Al non-extractible à l'EDTA, 10^{-3} M). Il semble que la mortalité soit liée au fait que le poisson accumule une «teneur critique d'aluminium dans les branchies» à l'intérieur d'un temps donné. Par ailleurs, dans plusieurs cas, pour un même bassin, les concentrations en aluminium absorbé et adsorbé sont plus importantes chez les survivants que chez les poissons qui sont morts au cours de l'expérience. Ceci laisse croire que les poissons exposés aux concentrations sous-létales en aluminium peuvent s'acclimater et accumuler dans leurs branchies des concentrations en aluminium plus élevées que la «teneur critique». Démontrer sur le terrain l'acquisition d'une telle tolérance à des concentrations létales en aluminium revêtirait une grande importance.

L'aluminium seul, tout comme la combinaison aluminium + fluorures, provoque une diminution du Na plasmatique, même à des conditions sous-létales. L'action toxique serait liée à une perturbation de l'osmorégulation: une perte d'ions plasmatiques qui mène à la mort des poissons. Signalons que les poissons exposés à des concentrations sous-létales en aluminium ou en aluminium + fluorures ont été affectés par des concentrations aussi faibles que 1 ou 2 μM d'aluminium inorganique.

7. REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier toutes les personnes qui ont collaboré à la réalisation de cette étude.

Nous exprimons une gratitude particulière à nos agents de liaisons scientifiques, Gordon Walsh (Pêches et Océans Canada) et Christian Blaise (Environnement Canada). Il faut souligner le travail de Mlle Sylvie Thorne (EC) qui a assuré une collaboration irremplaçable au laboratoire. Du côté technique, messieurs I. Jobin (EC) et B. Dubreuil (INRS-Eau) ont facilité la résolution de tous les petits problèmes journaliers. Nos remerciements s'adressent aussi à M. René Rodrigue, responsable des digestions acides des branchies.

Cette étude fut réalisée grâce au support financier de Pêches et Océans Canada (Programme de Subventions de recherche 1987-88 et contrat MAS no. FP707-7-236/01-XSK), du Conseil de recherches de sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), et du Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR). Enfin, notre reconnaissance s'adresse à Environnement Canada (SPE) qui a défrayé les coûts des tests d'ATP de même que certains autres frais de laboratoire.

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

Baker, J.P. et C.L. Schofield. 1980. Aluminum toxicity to fish as related to acid precipitation and Adirondack surface water quality. Proc. Int. Conf. Ecological Impact Acid Precipitation, Norway. Edité par D. Drablos et A. Tollan. SNSF Project. pp. 292-293

Baker, J.P. 1981. Aluminum toxicity to fish as related to acid precipitation and Adirondack surface water chemistry. Thèse de doctorat, Université de Cornell, Ithaca, New York.

Bates, S.S., Tessier, A., Campbell, P.G.C., Buffle, J. 1982. Zinc adsorption and transport by Chlamydomonas variabilis and Scenedesmus chlorophyceae grown in semi-continuous culture. J. Phycol. pp. 521-529.

Blaise, C., Trottier, B., Van Coillie, R. et P. Couture. 1986. Evaluation de la toxicité sub létale des effluents industriels vis-à-vis du poisson en mesurant l'ATP du muscle squelettique. Water Poll. Res. J. Canada 21(1). 71-90.

Burrows, W.D. 1977. Aquatic Aluminum: Chemistry, Toxicology, and Environmental Prevalence. CRC, Crit. Rev. Environ. Control, 7 (2). pp 167-216.

Cameron, R.C., G.S.P. Ritchie et A.D. Robson. 1986. Relative toxicities of inorganic aluminum complexes to barley. Soil Sci. Soc. Am. J. 50: 1231-1236.

Campbell, P.G.C., Dubreuil, B. et H.J. Hansen. 1989. Comportement géochimique de l'aluminium dans quelques rivières à saumons de la Côte-Nord (golfe du Saint-Laurent). Rapport Technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques no. 1697. 80p.

Clark, K.L. et B.D. LaZerte. 1985. A laboratory study of the effects of aluminum and pH on amphibian eggs and tadpoles. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 1544-1551.

Cronan, C.S et Schofield, C.L. 1979. Aluminum leaching response to acid precipitation: effects on high-elevation watersheds in the Northeast. Science 204: 304-306.

Dickson, W. Liming-toxicity of aluminum of fish. 1982. Vatten, 34, 400-404.

Driscoll, C.T., Baker, J.P., Bisogni, J.J., et C.L. Schofield. 1980. Effect of aluminum speciation on fish in acidified waters. Nature 284: 161-4.

Fivelstad, S. et H. Leivestad. 1984. Aluminium toxicity to Atlantic Salmon (Salmo salar L.) and Brown Trout (Salmo trutta L.): Mortality and Physiological Response. Inst. Freswat. Res. Drottningham 61: 69-77.

Gunn, A.M., Hunt D.T.E. et D.A. Winnard. 1986. Aluminium speciation and its effect on toxicity in a Bacterial assay. WRC Environment report.

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

Hansen, H.J. et P.G.C. Campbell. 1987. Aluminum speciation in rivers on the Canadian Precambrian Shield (Côte-Nord du St-Laurent, Québec) during snowmelt. Dans: Acid Rain: Scientific and Technical Advances. Edité par R. Perry, R.M. Harrison, J.N.B. Bell, et J.N. Lester. Selper Ltd.

Helliwell, S. 1983. Speciation and toxicity of aluminium in a model fresh water. Environ. Technol. Lett. 4(3): 141-4.

Hem, J.D. 1968. Dans: R.A. Baker (ed.), Trace Inorganics in Water, ACS Advances in Chemistry Series, No. 73, Am. Chem. Soc., Washington, D.C. pp. 87.

Henriksen, A., Skogheim, O.K. et B.O. Rosseland. 1984. Episodic changes in pH and aluminium speciation kill fish in a Norwegian salmon river. Vatten 40: 255-260.

Jensen, K.W. et E. Snekvik. Low pH wipe out salmon and trout populations in Southernmost Norway. Ambio 1: 223-226.

Johannes, A.H., Galloway, J.N. et D.E. Troutman. 1980. Snowpack storage and ion release. Dans: Ecological impact of acidic precipitation. Proc. Int. Conference, Sandefjord, Norway, mars 1980, D. Drablos et A. Tollan (eds). SNSF Project, pp. 260-261.

Johannesen, M. et A. Henriksen. 1978. Chemistry of snow meltwater: changes in concentration during melting. Water Resour. Res. 14: 615-619.

Kinraide, T.B., Arnold, R.C., et V.C. Baligar. 1985. A rapid assay for aluminium phytotoxicity at submicromolar concentrations. Physiol. Plantarum. 65: 245-250.

Kinraide, T.B., et D.R. Parker. Nonphytotoxicity of the aluminum sulphate ion, $AlSO_4^+$. Physiol. Plantarum 71: 207-212.

Kramer, J.R. et J. Hummel. 1985. Acute effect of aluminium to shiner minnows. Poster, Int. Symp. Acidic Precipitation, le 15-20 septembre, Muskoka, Ontario.

- Lachance, M., Brouard, D., Van Coillie, R. et J.D. Dutil. 1983. Composition chimique des eaux de la rivière Sainte-Marguerite en période de fonte. *Water Pollut. Res. J. Can.* 18: 85-102.
- Malte, H. 1986. Effects of aluminium in hard, acid water on metabolic rate, blood gas tensions and ionic status in the rainbow trout. *J. Fish Biol.* 29: 187-198
- Marklund, E., Sjöberg, S. et L.-O. Ohman. 1986. Equilibrium and structural studies of silicon (IV) and aluminium (III) in aqueous solution. 14. Speciation and equilibria in the aluminium (III)-lactic acid-OH⁻ system. *Acta Chem. Scand.*, A40, 367-373.
- McDonald, D.G., Hobe, H. et C.M. Wood. 1980. The influence of calcium on the physiological responses of the rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 88: 123-140.
- McDonald, D.G., Walker, R.L. et P.R.H. Wilkes. 1983a. The interaction of environmental calcium and low pH on the physiology of the Rainbow Trout, Salmo gairdneri, I. Branchial and renal net ion and H⁺ fluxes. *J. Exp. Biol.* 102: 123-140.
- McDonald, D.G., Walker, R.L. et P.R.H. Wilkes. 1983b. The interaction of environmental calcium and low pH on the physiology of the Rainbow Trout, Salmo gairdneri, II. Branchial ionoregulatory mechanisms. *J. Exp. Biol.* 102: 141-155.
- Morel, F.M.M. 1983. *Principles of Aquatic Chemistry*. Wiley International, Toronto (Can).
- Morel, F.M.M. et N.M.L. Morel-Laurens. 1983. Trace metals and plankton in the oceans: facts and speculations. In: *Trace metals in sea water*, édité par C.S. Wong, E. Boyle, K.W. Bruland, J.D. Burton et E.D. Goldberg, Plenum Press, New York, N.Y., pp. 841-869.
- Nelson, P.O., A.K. Chung et M.C. Hudson. 1981. Factors affecting the fate of heavy metals in the activated sludge process. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53, 1323-1333.
- Neville, C.M. 1985. Physiological reponse of juvenile rainbow trout, Salmo gairdneri, to acid and aluminium-predication of field responses from laboratory data. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 2004-2019.
- Neville, C.M. et Campbell, P.G.C. 1988. Possible mechanisms of aluminum toxicity in a dilute, acidic environment to fingerlings and older life stages of salmonids. *Water, Air and Soil Pollution* 42: 311-327.
- Orion Research Incorporated. 1983. *Instruction manual fluoride electrodes: model 94-09-00, model 96-09-00.*

Orr, P.L., R.W. Bradley, J.B. Sprague et N.J. Hutchinson. 1986. Acclimation-induced change in toxicity of aluminum to rainbow trout (Salmo gairdneri). Can. J. Fish Aquat. Sci. 43: 243-246.

Pagenkopf, G.K. 1983. Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH, and water hardness. Environ. Sci. Technol., 17, 342-347.

Petersen, R. 1982. Influence of copper and zinc on the growth of a freshwater alga, Scenedesmus quadricauda: the significance of chemical speciation. Environ. Sci. Technol., 16, 443-447.

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

Røyset, O. 1986. Flow injection spectrophotometric determination of aluminium in water with pyrocatechol violet. Analytica Chimica Acta, 185, 75-81.

Schofield, C.L. et J.R. Trojnar. 1980. Aluminum toxicity to brook trout, (Salvelinus fontinalis) in acidified waters. Dans: Polluted Rain, édité par T. Toribara, M. Miller et P. Morrow, Plenum Press, New York, N.Y., pp. 341-346.

Smith, R.M. et A.E. Martell. 1976. Critical Stability Constants. Volumes 1-3, Plenum Press, New York, N.Y.

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.

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. techn. can. sci. halieut. et aquat. no 1237: ix + 88 p.

Watt, W.D., C.D. Scott et W.J. White. 1983. Evidence of acidification of some Nova Scotian rivers and its impact on Atlantic salmon, Salmo salar. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40: 462-473.

Westall, J.C., J.L. Zachary and F.M.M. Morel. 1976. MINEQL, a Computer Program for the Calculation of the Chemical Equilibrium Composition of Aqueous Systems, Massachusetts Institute of Technology, Dept. Civil Eng., Tech. Report No. 18, 91 p.

Wood, C.M., R.C. Playle, B.P. Simons, G.G. Goss et D.G. McDonald. 1988. Blood gases, acid-base status, ions, and hematology in adult brook trout (Salvelinus fontinalis) under acid/aluminum exposure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45: 1575-1586.

REFERENCES	pH	[Al] _T (uM)	[F] ⁻ (uM)	ESPECE	COMMENTAIRES	EFFETS ¹ (AlF _x)	SPECIATION (%) ²					
							Al ³⁺	Al(OH) _x	AlF ₂ ⁺	AlF ₂ ⁺	AlF ₃	Al(SO ₄) ⁺
Cameron et coll. (1986)	4.5	0-16	0-10	<u>Hordeum</u> <u>vulgare</u>	eau synthétique [Ca] _T = 3.33mM	pas toxique						
Kinraide et coll. (1985)	4.5	1-2	2-3	<u>Hordeum</u> <u>vulgare</u>	eau synthétique 0.2 mM CaSO ₄	pas toxique						
Helliwell et coll. (1983)	5.2	1	53	<u>Chlorella</u> <u>pyrenoidosa</u>	eau synthétique 192 mgL ⁻¹ NaHCO ₃ 120 mgL ⁻¹ MgSO ₄ 120 mgL ⁻¹ CaSO ₄ ·2H ₂ O 8 mgL ⁻¹ KCl	moins toxique		5.0	65.9	28.7		
Gunn et coll. (1986)	5.5	4	47	<u>Photobacterium</u> <u>phosphoreum</u>	eau salée I très élevée	moins toxique						
	5.5	4	95	"	"	"						
	5.5	9	47	"	"	"						
	5.5	9	95	"	"	"						
	5.5	18	47	"	"	"						
	5.5	18	95	"	"	"						

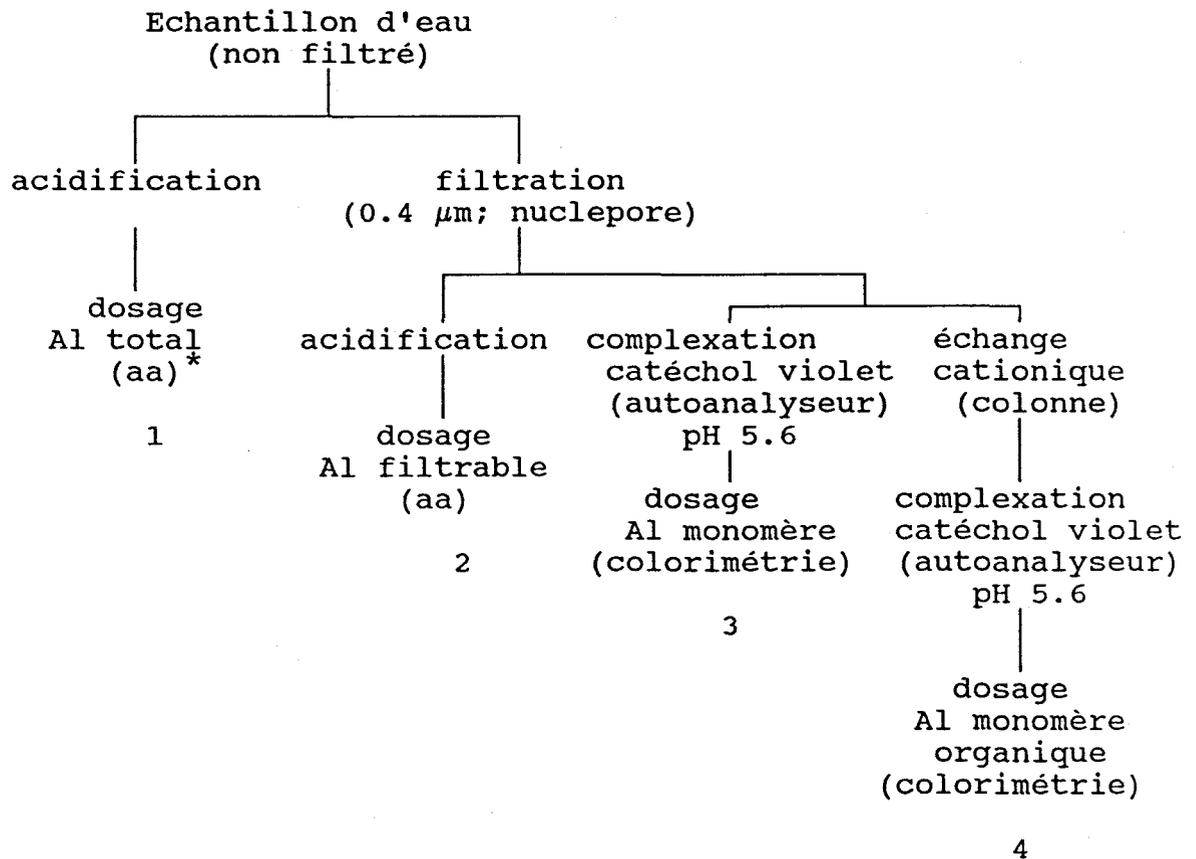
1. Effets comparés aux effets de l'aluminium inorganique

2. Spéciation estimée par les auteurs de cette étude avec MINEQL

REFERENCES	pH	[Al] _T (µM)	[F] ⁻ (µM)	ESPECE	COMMENTAIRES	EFFETS ¹ (AlF _x)	SPECIATION (%) ²					
							Al ³⁺	Al(OH) _x	AlF ₂ ⁺	AlF ₂ ⁺	AlF ₃	Al(SO ₄) ⁺
Clark et LaZerte (1985)	4.1	0.37	5.3	<u>Bufo</u> <u>americanus</u>	eau synthétique T varie	aussi toxique			36.1	59.9	2.8	
	4.1	0.74	5.3	"	1.9 mg Ca L ⁻¹	"	1.2		39.2	57.0	2.3	
	4.1	1.85	5.3	"	0.74 mg Mg L ⁻¹	"	2.5		50.0	46.0	1.2	
	4.1	3.70	5.3	"	1.0 mg Na L ⁻¹	"	8.3		66.2	24.2		
					0.42 mg K L ⁻¹	"						
					1.2 mg L ⁻¹ NO ₃ -N	"						
	4.8	0.37	5.3	<u>Bufo</u> <u>americanus</u>	eau synthétique T varie	Al ³⁺ / AlF _x pas toxique			34.6	60.7	3.0	
	4.8	0.74	5.3	"	1.9 mg Ca L ⁻¹	"	1.1		37.6	57.8	2.5	
	4.8	1.85	5.3	"	0.74 mg Mg L ⁻¹	"	2.2	1.3	47.8	46.8	1.3	
	4.8	3.70	5.3	"	1.0 mg Na L ⁻¹	"	6.8	5.8	61.6	25.5		
				0.42 mg K L ⁻¹	"							
				1.2 mg L ⁻¹ NO ₃ -N "	"							
Baker et coll. (1980)	5.2	18.5	26.3	<u>Salvelinus</u> <u>fontinalis</u>	eau synthétique	moins toxique	2.7	8.4	48.3	39.7		
				&	2.0-4.0 mg Ca L ⁻¹							
					0.4-0.7 mg Mg L ⁻¹							
Driscoll et coll. (1980)	4.4	18.5	26.3	<u>Catostomus</u> <u>commersoni</u>	1.2-1.5 mg Na L ⁻¹	moins toxique	4.1		57.4	36.7		
					0.2-0.4 mg K L ⁻¹							
Kramer et Hummel (1985)	5.0	10	10	<u>Notropis</u> <u>cornutus</u>	eau synthétique	aussi toxique		7.5	11.7	54.4	18.1	7.8
	5.0	10	35	"	2.0 mg Ca L ⁻¹	moins toxique		13.2	74.4	11.9		
	5.0	10	50	"	1.0 mg Mg L ⁻¹	pas toxique		6.8	71.5	21.5		
					0.7 mg Na L ⁻¹							
					0.45 mg K L ⁻¹							

1. Effets comparés aux effets de l'aluminium inorganique

2. Spéciation estimée par les auteurs de cette étude avec MINEQL

ANNEXE 2:**A2.1 SCHEMA ANALYTIQUE POUR DETERMINER LA SPECIATION DE L'ALUMINIUM**
(adapté de Rogeberg et Henriksen, 1985)Déductions possibles:

- 1 Al total
- 2 Al filtrable = Al «dissous»
- 1-2 Al particulaire
- 3 Al monomère
- 4 Al monomère organique
- 2-3 Al polynucléaire
- 3-4 Al monomère inorganique

* déterminé par l'absorption atomique au four de graphite

A2.2 METHODOLOGIE DE DIGESTION DES BRANCHIES POUR DETERMINATION DE [Al] (Bastille et al., 1989)

Des tests ont révélés que certains métaux ne peuvent être dissociés de la matière organique qu'à très haute température. Cela signifie aussi une pression de vapeur plus élevée pour atteindre cette température. Il faut donc être très prudent lors de l'utilisation de cet équipement et bien lire les instructions ci-jointes et celles du fabricant.

Afin de mieux se protéger, le manipulateur doit porter un sarreau, des lunettes ou une visière, des gants propres et des chaussures fermées. L'acide est un puissant corrosif lorsque chauffé.

PROCEDURE DE DIGESTION:

1. Nettoyer la table de travail et y déposer du papier propre.
2. Placer l'échantillon séché dans le contenant de téflon propre et sec (voir lavage des contenants).
3. Ajouter les volumes d'acide nitrique et d'eau requis (voir Tableau 1-1).
4. Placer le couvercle et transférer le contenant de téflon dans la bombe. Fermer ensuite le couvercle de la bombe de 1/8 de tour après un contact ferme.
5. Déposer la bombe au centre du plateau du four micro-ondes.
6. Digérer ensuite à 360 Watts (med-low) pendant 30 secondes et vérifier la pression interne (1/64 de pouce vaut 250 psi ou 0,015 po.). Il ne faut pas dépasser 1000 psi. Si la pression n'est pas assez haute, l'on peut ajouter des séquences de 20 secondes supplémentaires tout en vérifiant la pression après chacune d'elles. Ne pas chauffer plus de 2 minutes consécutives puisqu'une déformation du téflon pourrait s'en suivre.
7. Sortir avec précaution la bombe et la déposer sur la table une dizaine de minutes puis environ 15 minutes dans l'eau froide afin d'abaisser la température du liquide.
8. Ouvrir sous la hotte et manipuler avec précaution la bombe. Sortir le téflon en poussant dessous la bombe avec un doigt. Ouvrir ensuite le téflon et vérifier la digestion par la présence d'une couleur jaune pâle à limpide. Si elle n'est pas complète, passer à l'étape 10.
9. Diluer le liquide avec de l'eau Millipore et le transférer dans une bouteille de plastique.

10. Si le fond du téflon n'est pas recouvert de liquide et que l'on peut apercevoir de petites particules, l'on pourra ajouter autant d'eau Millipore que d'acide requis au départ. Bien mélanger et recommencer à l'étape 4.

LAVAGE DES CONTENANTS:

Bien rincer à l'eau Millipore tout le matériel et contenants nécessaires. Les déposer ensuite dans un bain d'eau renfermant 0,5% HNO₃ conc. Aristar pendant 24 heures avant de s'en servir.

Tableau A2.2.1

Quantités requises d'acide nitrique et d'eau pour effectuer une digestion.

Masse (mg)	Volume HNO ₃ (uL)	Volume H ₂ O (uL)	Facteur (mL/mg)
0.03-0.29	50	50	13-1.3
0.3-0.9	100	100	2.7-0.8
1.0-1.9	150	100	1.2-0.6
2.0-2.9	200	-	0.8-0.6
3.0-4.9	400	-	1.1-0.6
5.0-7.9	600	-	1.0-0.6
8.0-10.0	800	-	1.0-0.6

- A2.3 METHODOLOGIE POUR LA DETERMINATION DE L'ATP DU MUSCLE SQUELETTIQUE (cf. Environnement Canada, 1989)
1. Sept jours après le début du biotest (CL50), une sélection aléatoire de 5 poissons est faite dans les concentrations du bioessai qui n'avaient causés aucune mortalité.
 2. Chaque poisson est individualisé dans un béccher de 5 litres.
 3. Chaque béccher de 5 L constitue un modèle réduit des réservoirs d'essai de 60 L et est doublé d'un sac de polyéthylène transparent.
 4. Au moyen d'une seringue dont l'extrémité est prolongée par un tube en plastique souple de 60 cm (tygon), introduire 30 mL d'une solution de MS-222 (Sandoz, 25 g/L) dans un des bécchers. L'anesthésie prend en général de 30 à 60 secondes.
 5. Placer le poisson sur une planche à dissection et l'épingler.
 6. Prélever 1 cm de muscle blanc dorso-latéral sur le côté droit de chaque poisson.
 7. Laver immédiatement l'échantillon dans une solution physiologique refroidie sur glace (0.85 % NaCl).
 8. Eponger rapidement l'échantillon.
 9. Envelopper dans une pellicule plastique de type saran (5 x 5 cm) identifiée.
 10. Placer dans une pince à congélation préalablement refroidie à -180 °C au moyen d'azote liquide.
 11. Tous les échantillons sont ensuite temporairement conservés dans un récipient Dewar de 2 litres contenant de l'azote liquide.
 12. Préparer une série de tubes à centrifugation de 15 mL dans lesquels on introduit 2 mL de DMSO.
 13. Tout en gardant l'échantillon à -180 °C, pulvériser-le en une fine poudre à l'aide d'un pilon.
 14. Introduire l'échantillon pulvérisé dans le tube (prépesé).
 15. Agiter au vortex (15 sec.)
 16. Peser le tube avec son échantillon.
 17. Une première dilution est effectuée en introduisant 8 mL de tampon MOPS dans chaque tube.

18. Lorsque le dosage de l'ATP ne peut être effectué le même jour, les tubes sont entreposés dans un congélateur (-20°C)
19. Au moment du dosage, les tubes sont dégelés et centrifugés à $3000\text{ g} \times 20\text{ min}$.
20. Effectuer une deuxième dilution en introduisant $25\ \mu\text{L}$ de l'échantillon dans 10 mL de tampon MOPS.
21. Le luminomètre Lumac/3M est utilisé pour doser l'ATP à l'aide d'une standardization interne.

ANNEXE 3:

A3.1 CONCENTRATIONS CALCULEES D'ALUMINIUM INORGANIQUE, DE FLUORURES ET DE L'ION HYDROGENE (PH)

Tableau A3.1.1 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience A.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totales ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0	6.4 (1.9)	0.7 (1.4)	4.52
1	7.7 (1.3)	1.3 (0.5)	4.51
2	8.8 (1.4)	2.7 (0.6)	4.43
3	8.9 (0.8)	3.9 (0.8)	4.46
4	9.4 (1.0)	5.3 (0.9)	4.54
5	9.2 (0.9)	6.5 (1.0)	4.55
6	9.1 (0.9)	7.7 (1.1)	4.56
7	8.9 (0.8)	9.0 (1.2)	4.54
8	8.9 (0.9)	10.2 (1.1)	4.56
9	9.0 (0.9)	11.4 (1.2)	4.52
10	8.7 (1.0)	12.1 (1.4)	4.56

Tableau A3.1.2 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience B.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0	0.5 (0.3)	ND	4.53
1	1.9 (0.6)	ND	4.52
2	2.6 (0.5)	ND	4.53
3	3.4 (0.5)	ND	4.51
4	4.2 (0.6)	ND	4.52
5	5.1 (0.6)	ND	4.51
6	6.0 (0.9)	ND	4.50
7	6.7 (0.9)	ND	4.51
8	7.3 (1.2)	ND	4.52
9	8.2 (1.5)	ND	4.50
10	10.1 (1.2)	ND	4.53

Tableau A3.1.3 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience C.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0	0.4 (0.3)	18.1 (3.4)	4.49
1	1.7 (0.3)	18.0 (3.2)	4.48
2	2.5 (0.3)	18.1 (3.2)	4.49
3	3.3 (0.3)	18.3 (3.2)	4.48
4	4.1 (0.3)	18.2 (3.2)	4.48
5	4.9 (0.3)	18.4 (3.2)	4.48
6	5.7 (0.3)	18.0 (2.9)	4.48
7	6.2 (0.7)	18.5 (3.1)	4.47
8	7.0 (0.7)	18.4 (3.0)	4.49
9	7.9 (0.8)	18.3 (3.2)	4.49
10	9.0 (1.1)	18.1 (2.9)	4.48

Tableau A3.1.4 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience D.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0	0.9 (0.5)	5.0 (1.2)	4.51
1	2.1 (0.5)	5.0 (1.0)	4.50
2	2.9 (0.6)	4.8 (1.0)	4.50
3	3.4 (0.9)	4.7 (1.0)	4.50
4	4.4 (0.8)	4.7 (1.0)	4.50
5	5.2 (0.8)	4.6 (0.9)	4.51
6	5.6 (1.0)	4.6 (0.8)	4.50
7	6.4 (1.1)	4.6 (0.8)	4.50
8	7.0 (1.4)	4.5 (0.9)	4.52
9	7.9 (1.4)	4.7 (0.9)	4.50
10	9.2 (1.5)	4.5 (0.9)	4.50

Tableau A3.1.5 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience E.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0	0.5 (0.2)	0.7 (0.5)	4.48
1	2.2 (0.5)	0.6 (0.5)	4.48
2	3.3 (0.3)	1.3 (0.4)	4.49
3	4.4 (0.3)	2.2 (0.3)	4.48
4	5.3 (0.4)	3.2 (0.4)	4.48
5	7.2 (1.0)	4.5 (0.9)	4.49
6	7.9 (0.9)	5.4 (0.8)	4.48
7	8.7 (1.0)	6.7 (0.8)	4.49
8	9.7 (1.0)	7.9 (0.9)	4.48
9	10.5 (0.7)	8.6 (0.5)	4.51
10	11.4 (0.9)	10.1 (0.7)	4.48

Tableau A3.1.6 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience F.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0A	0.3 (0.2)	1.1 (0.3)	6.3
0	0.2 (0.2)	0.9 (0.2)	4.87
1	1.5 (0.4)	0.9 (0.2)	4.85
2	2.2 (0.5)	1.4 (0.2)	4.88
3	3.0 (0.6)	2.0 (0.2)	4.88
4	3.8 (0.6)	2.9 (0.4)	4.88
5	5.3 (0.8)	4.1 (0.4)	4.84
6	5.8 (0.6)	5.5 (0.5)	4.84
7	6.6 (0.8)	6.8 (0.5)	4.87
8	7.4 (0.7)	8.0 (0.5)	4.87
9	8.4 (0.7)	9.6 (0.6)	4.82
10	9.4 (1.1)	11.2 (0.6)	4.77

Tableau A3.1.7 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience G.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0A	0.3 (0.2)	1.0 (0.4)	6.2
0	0.3 (0.2)	0.9 (0.4)	4.49
1	1.8 (0.4)	0.8 (0.3)	4.50
2	2.6 (0.5)	2.0 (0.5)	4.51
3	3.6 (0.5)	3.0 (0.4)	4.52
4	4.6 (0.5)	3.9 (0.4)	4.51
5	6.0 (0.9)	5.0 (0.4)	4.51
6	7.0 (1.0)	6.0 (0.8)	4.49
7	7.9 (0.8)	7.6 (0.7)	4.48
8	9.0 (0.9)	9.0 (0.5)	4.49
9	9.8 (1.0)	10.6 (0.7)	4.50
10	11.3 (0.7)	12.0 (0.7)	4.50

Tableau A3.1.8 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience H.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0A	0.6 (0.4)	0.9 (0.3)	4.49
0	0.8 (0.4)	6.2 (0.6)	4.49
1	1.8 (0.3)	6.4 (0.5)	4.49
2	2.4 (0.2)	6.5 (0.5)	4.50
3	3.1 (0.3)	6.5 (0.4)	4.50
4	3.9 (0.4)	6.5 (0.4)	4.52
5	5.5 (0.8)	6.5 (0.4)	4.51
6	6.1 (0.7)	6.5 (0.5)	4.49
7	6.6 (0.9)	6.5 (0.4)	4.49
8	7.3 (0.9)	6.6 (0.4)	4.49
9	8.6 (0.9)	6.9 (0.4)	4.48
10	9.3 (0.7)	6.9 (0.3)	4.48

Tableau A3.1.9 Concentrations calculées d'aluminium inorganique, de fluorures et de l'ion hydrogène (pH) pour l'expérience I.

Bassin	[Al] inorganique ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	[F ⁻] totaux ($\mu\text{M} \pm \text{écart-type}$)	pH
0A	0.4 (0.3)	ND	4.50
0	0.9 (0.5)	ND	4.48
1	2.0 (0.6)	ND	4.50
2	2.5 (0.6)	ND	4.50
3	3.3 (0.6)	ND	4.50
4	3.9 (0.6)	ND	4.50
5	5.5 (1.1)	ND	4.50
6	6.1 (1.0)	ND	4.48
7	6.7 (1.0)	ND	4.48
8	7.7 (0.9)	ND	4.48
9	8.2 (0.9)	ND	4.49
10	9.4 (1.4)	ND	4.49

A3.2 SPECIATION CALCULEE DES SOLUTIONS EXPERIMENTALES

Tableau A3.2.1 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience A.

Bassin	$[Al^{3+}]$ (μM)	$[Al(OH)^{2+}]$ (μM)	$[Al(OH)_2^+]$ (μM)	$[Al(F)^{2+}]$ (μm)	$[Al(F)_2^+]$ (μM)
0	3.9	1.1	0.3	0.7	0.01
1	4.4	1.3	0.3	1.2	0.02
2	4.3	1.2	0.3	2.5	0.01
3	3.6	1.0	0.2	3.5	0.2
4	3.1	0.9	0.2	4.5	0.3
5	2.4	0.7	0.2	5.2	0.5
6	1.8	0.5	0.1	5.7	0.8
7	1.2	0.4	0.08	5.8	1.3
8	1.1	0.3	0.07	6.2	1.6
9	0.7	0.2	0.04	5.7	2.3
10	0.5	0.1	0.03	5.3	2.7

Tableau A3.2.2 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience B*.

Bassin	$[Al^{3+}]$ (μM)	$[Al(OH)^{2+}]$ (μM)	$[Al(OH)_2^+]$ (μM)	$[Al(F)^{2+}]$ (μm)	$[Al(F)_2^+]$ (μM)
0	0.2	0.04	ND	0.25	0.02
1	1.1	0.3	0.07	0.4	0.01
2	1.5	0.4	0.1	0.5	ND
3	2.0	0.6	0.1	0.5	ND
4	2.6	0.8	0.2	0.5	ND
5	3.1	0.9	0.2	0.5	ND
6	3.8	1.1	0.2	0.5	ND
7	4.2	1.3	0.3	0.5	ND
8	4.7	1.4	0.3	0.5	ND
9	5.3	1.6	0.3	0.5	ND
10	6.6	1.9	0.4	0.5	ND

* Pour ces calculs d'équilibre, on a assigné $[F^-] = 0.5 \mu M$; soit la moitié de la limite de détection.

Tableau A3.2.3 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience C.

Bassin	$[Al^{3+}]$ (μM)	$[Al(OH)^{2+}]$ (μM)	$[Al(OH)_2^+]$ (μM)	$[Al(F)^{2+}]$ (μm)	$[Al(F)_2^+]$ (μM)
0	ND	ND	ND	0.05	0.3
1	ND	ND	ND	0.2	1.3
2	ND	ND	ND	0.4	1.9
3	ND	ND	ND	0.6	2.4
4	ND	ND	ND	0.8	3.0
5	0.01	ND	ND	1.0	3.5
6	0.02	ND	ND	1.4	4.0
7	0.03	ND	ND	1.6	4.2
8	0.04	0.01	ND	2.0	4.6
9	0.06	0.02	ND	2.6	4.9
10	0.1	0.03	0.01	3.5	5.1

Tableau A3.2.4 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience F.

Bassin	$[Al^{3+}]$ (μM)	$[Al(OH)^{2+}]$ (μM)	$[Al(OH)_2^+]$ (μM)	$[Al(F)^{2+}]$ (μm)	$[Al(F)_2^+]$ (μM)
0	0.02	0.02	0.01	0.12	0.03
1	0.4	0.5	0.3	0.6	0.05
2	0.5	0.4	0.2	1.0	0.09
3	0.6	0.5	0.3	1.4	0.2
4	0.7	0.5	0.3	2.0	0.3
5	0.9	0.7	0.4	2.9	0.4
6	0.7	0.5	0.3	3.4	0.7
7	0.7	0.5	0.3	4.0	1.1
8	0.7	0.5	0.3	4.5	1.3
9	0.7	0.5	0.3	5.1	1.8
10	0.7	0.5	0.3	5.7	2.2

Tableau A3.2.5 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience G.

Bassin	[Al ³⁺] (μ M)	[Al(OH) ²⁺] (μ M)	[Al(OH) ₂ ⁺] (μ M)	[Al(F) ²⁺] (μ m)	[Al(F) ₂ ⁺] (μ M)
0	0.02	0.01	ND	0.1	0.03
1	0.8	0.2	0.05	0.7	0.03
2	0.7	0.2	0.04	1.5	0.1
3	0.8	0.2	0.05	2.2	0.3
4	1.0	0.3	0.06	2.8	0.4
5	1.3	0.4	0.08	3.7	0.5
6	1.4	0.4	0.09	4.4	0.6
7	1.2	0.4	0.08	5.1	1.0
8	1.3	0.4	0.08	5.9	1.3
9	1.1	0.3	0.07	6.5	1.7
10	1.3	0.4	0.09	7.4	1.9

Tableau A3.2.6 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience H.

Bassin	[Al ³⁺] (μ M)	[Al(OH) ²⁺] (μ M)	[Al(OH) ₂ ⁺] (μ M)	[Al(F) ²⁺] (μ m)	[Al(F) ₂ ⁺] (μ M)
0	0.3	0.07	0.02	0.4	0.03
1	0.03	ND	ND	0.7	1.0
2	0.05	0.01	ND	1.1	1.2
3	0.1	0.03	ND	1.6	1.3
4	0.2	0.05	0.01	2.3	1.3
5	0.6	0.2	0.04	3.6	1.0
6	0.8	0.2	0.05	4.0	0.9
7	1.0	0.3	0.06	4.3	0.8
8	1.3	0.4	0.08	4.6	0.8
9	1.9	0.5	0.12	5.2	0.7
10	2.3	0.7	0.1	5.4	0.6

Tableau A3.2.7 Spéciation calculée des solutions expérimentales de l'expérience I*.

Bassin	[Al ³⁺] (μM)	[Al(OH) ²⁺] (μM)	[Al(OH) ₂ ⁺] (μM)	[Al(F) ²⁺] (μM)	[Al(F) ₂ ⁺] (μM)
0	0.4	0.1	0.02	0.4	0.02
1	1.0	0.3	0.06	0.4	0.01
2	1.4	0.4	0.09	0.5	0.01
3	2.0	0.6	0.1	0.5	ND
4	2.4	0.7	0.2	0.5	ND
5	3.4	1.0	0.2	0.5	ND
6	3.8	1.1	0.3	0.5	ND
7	4.2	1.3	0.3	0.5	ND
8	4.9	1.5	0.3	0.5	ND
9	5.3	1.6	0.3	0.5	ND
10	6.1	1.8	0.4	0.5	ND

* Pour ces calculs d'équilibre, on a assigné $[\text{F}^-] = 0.5 \mu\text{M}$; soit la moitié de la limite de détection.

A3.3 POURCENTAGE DE MORTALITE DES SAUMONS

Tableau A3.3.1 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes de fluorures pour $[Al] = 9 \mu M$ (Expérience A).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0	90	100
1	100	100
2	100	100
3	100	100
4	90	100
5	80	100
6	10	60
7	30	60
8	0	0
9	0	0
10	0	10

Tableau A3.3.2 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium pour $[F^-]_{ajoutée} = 0$ (Expérience B).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	0	22
4	33	44
5	33	44
6	56	89
7	78	89
8	44	78
9	78	78
10	100	100

Tableau A3.3.3 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium pour [F-] = 18 μ M (Expérience C).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	11	11
8	56	56
9	22	33
10	67	89

Tableau A3.3.4 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium pour [F-] = 5 μ M (Expérience D).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0	11	44
1	11	44
2	0	44
3	11	67
4	0	33
5	11	78
6	22	67
7	11	33
8	56	100
9	22	67
10	78	89

Tableau A3.3.5 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium et de fluorures (Expérience E).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0	22	56
1	0	0
2	0	0
3	20	40
4	0	11
5	30	30
6	40	80
7	60	100
8	40	60
9	44	100
10	67	89

Tableau A3.3.6 Pourcentage mortalité du saumon à pH 4.9 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium et de fluorures (Expérience F).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0A	0	0
0	0	0
1	0	0
2	0	13
3	0	13
4	14	63
5	50	50
6	75	88
7	63	100
8	88	100
9	88	88
10	100	100

Tableau A3.3.7 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium et de fluorures (Expérience G).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0A	0	0
0	0	0
1	29	29
2	0	0
3	0	29
4	0	29
5	13	50
6	38	75
7	43	71
8	57	71
9	88	100
10	86	100

Tableau A3.3.8 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium pour [F⁻] = 6.5 μM (Expérience H).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0A	25	25
0	0	0
1	0	38
2	0	13
3	0	0
4	0	13
5	0	25
6	13	50
7	13	88
8	88	100
9	71	100
10	100	100

Tableau A3.3.9 Pourcentage de mortalité du saumon à pH 4.5 soumis à des concentrations croissantes d'aluminium pour [F⁻]ajoutée = 0 (Expérience I).

Bassin	% mortalité (96 heures)	% mortalité (7 jours)
0A	0	0
0	0	0
1	29	43
2	0	0
3	0	25
4	0	25
5	13	50
6	38	88
7	38	75
8	63	88
9	75	100
10	88	100

A3.4 CONCENTRATIONS D'ALUMINIUM BRANCHIAL

Tableau A3.4.1a Concentrations d'aluminium obtenues lors d'une digestion acide des branchies du Salmo salar (Traitement létal) EXPERIENCE B (n≥3).

Bassin	Al _{total} (µg/g ± écart-type)	Al _{absorbé} (µg/g ± écart-type)	Al _{adsorbé} (µg/g ± écart-type)
4	448 (242)	256 (204)	192 (446)
5	574 (273)	241 (73)	333 (346)
6	808 (674)	246 (223)	562 (897)
7	642 (356)	302 (191)	340 (547)
8	892 (409)	289 (122)	603 (531)
9	716 (567)	226 (192)	490 (759)
10	648 (416)	266 (160)	382 (576)

Tableau A3.4.1b Concentrations d'aluminium obtenues lors d'une digestion acide des branchies du Salmo salar (Traitement sous-létal) EXPERIENCE B (n≥3).

Bassin	Al _{total} (µg/g ± écart-type)	Al _{absorbé} (µg/g ± écart-type)	Al _{adsorbé} (µg/g ± écart-type)
0	46 (16)	38 (19)	8 (35)
1	286 (152)	143 (49)	143 (201)
2	517 (256)	325 (155)	192 (411)
3	1011 (289)	592 (228)	419 (517)
4	1509 (1133)	1037 (690)	472 (1823)
5	2280 (764)	1030 (413)	1250 (1177)

Tableau A3.4.2a Concentrations d'aluminium obtenues lors d'une digestion acide des branchies du Salmo salar (Traitement létal) EXPERIENCE C (n≥3).

Bassin	Al _{total} (µg/g ± écart-type)	Al _{absorbé} (µg/g ± écart-type)	Al _{adsorbé} (µg/g ± écart-type)
8	419 (196)	253 (261)	166 (457)
9	583 (92)	282 (121)	307 (213)
10	489 (212)	262 (157)	227 (369)

Tableau A3.4.2b Concentrations d'aluminium obtenues lors d'une digestion acide des branchies du Salmo salar (Traitement sous-létal) EXPERIENCE C (n≥3).

Bassin	Al _{total} (µg/g ± écart-type)		Al _{absorbé} (µg/g ± écart-type)		Al _{adsorbé} (µg/g ± écart-type)	
0	90	(14)	81	(24)	9	(38)
1	95	(34)	92	(25)	3	(64)
2	147	(41)	104	(44)	43	(85)
3	206	(27)	128	(27)	78	(54)
4	238	(99)	156	(46)	82	(145)
5	409	(224)	207	(146)	202	(370)
6	423	(166)	178	(96)	245	(262)
7	486	(241)	236	(54)	250	(295)
8	999	(605)	258	(136)	741	(741)
9	822	(610)	666	(249)	156	(859)

A3.5 CONCENTRATIONS DE SODIUM plasmatique

Tableau A3.5.1 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience B.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0	6.4	2.8 a	0.5	5
1	7.7	2.5 ab	0.4	3
2	8.8	2.5 ab	0.4	5
3	8.9	2.4 ab	0.3	5
4	9.4	2.3 ab	0.4	5
5	9.2	1.6 b	0.5	4

a,b Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau A3.5.2 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience C.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0	0.5	2.4 a	0.6	9
1	1.9	2.2 ab	0.3	8
2	2.6	2.2 abc	0.3	7
4	4.2	2.0 abcd	0.3	9
7	6.7	2.0 bcd	0.4	5
8	7.3	1.8 bcd	0.1	3
9	8.2	1.5 bd	0.3	6

a,b,c,d Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau A3.5.3 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience F.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0A*	0.3	3.8 a	0.4	8
0	0.2	3.3 b	0.3	8
1	1.5	3.0 bc	0.2	7
2	2.2	2.8 bc	0.3	6
3	3.0	2.6 c	0.1	4
5	5.3	2.7 bc	0.3	3

* témoin aluminium et acide (pH=6.3)
 a,b,c Les lettres identiques représentent des groupes égaux
 (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau A3.5.4 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience G.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0A*	0.3	3.4 a	0.1	7
0	0.3	3.0 ab	0.3	7
1	1.8	2.6 bc	0.2	5
2	2.6	2.5 cd	0.3	7
3	3.6	2.1 d	0.3	4
4	4.6	2.1 d	0.2	3
5	6.0	2.0 d	0.3	4

* témoin aluminium et acide (pH=6.3)
 a,b,c,d Les lettres identiques représentent des groupes égaux
 (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau A3.5.5 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience H.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0A*	0.6	2.5 a	0.3	6
0	0.8	2.4 a	0.2	7
1	1.8	2.6 a	0.2	5
2	2.4	2.6 a	0.3	7
3	3.1	2.5 a	0.3	10

* témoin aluminium et acide (pH=6.3)

a Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

Tableau A3.5.6 Concentrations de Na plasmatique pour l'expérience I.

Bassin	[Al] _{inorg} (μM)	[Na] ($\mu\text{g/g}$)	écart-type ($\mu\text{g/g}$)	n
0A*	0.4	3.3 a	0.3	8
0	0.9	2.3 b	0.2	8
1	2.0	1.9 b	0.4	3
2	2.5	2.3 b	0.3	8
3	3.3	2.2 b	0.2	6
4	3.9	2.0 b	0.4	3
5	5.5	2.0 b	0.3	4

* témoin aluminium et acide (pH=6.3)

a,b Les lettres identiques représentent des groupes égaux (ANOVA; test de Tukey, intervalle de confiance à 95%).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES (ANNEXE):

Bastille, C., S. St-Pierre et B. Dubreuil. 1989. Digestion de matière biologique par four à micro-ondes, méthode DIG 050.1, Manuel des méthodes de laboratoire, INRS-Eau. Disponible d'INRS-Eau, C.P. 7500, Ste-Foy, QC, G1V 4C7.

Environnement Canada. 1989. Protocole du dosage d'ATP dans le muscle squelettique de la truite arc-en-ciel, Salmo gairdneri. Sous presse.

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