Annls Limnol. 29 (3-4) 1993 : 281-293

Accumulation et élimination du ^{106}Ru par *Daphnia magna* Strauss. Etude des voies directe et trophique

F. Vray[1]
M. Švadlenková[2]
J.P. Baudin[1*]

Mots clés : Radioécologie, *Daphnia magna,* ^{106}Ru, transfert direct, transfert trophique.

L'étude des transferts direct et trophique du ^{106}Ru chez *Daphnia magna* Strauss a été conduite dans le cadre d'un programme de recherches visant à expliquer et modéliser la distribution de ce radioélément au sein des écosystèmes d'eau douce. L'accumulation et l'élimination du ^{106}Ru par des populations hétérogènes de daphnies, contaminées par un apport aigu de $RuCl_3$ dans l'eau, se déroulent en deux phases pouvant être décrites à l'aide d'un modèle bicompartimental. Ce transfert est caractérisé par un facteur de concentration de 130, et une élimination très rapide se traduisant par deux périodes biologiques, la première (T_{b1}), de quelques minutes, et la seconde (T_{b2}), de trente heures. La contamination de *Daphnia magna* par voie alimentaire a été effectuée avec deux espèces d'algues unicellulaires planctoniques, *Scenedesmus communis* Hegewald et *Chlorella pyrenoidosa* Chick, distribuées quotidiennement sous forme de rations préalablement contaminées. Dans ce cas, la cinétique d'accumulation du ^{106}Ru ne présente qu'une seule phase. L'analyse des facteurs de transfert trophique obtenus pour les deux espèces d'algues (0,107 et 0,013 respectivement avec *Scenedesmus* et *Chlorella*) montre que la digestion des cellules n'intervient pas dans l'accumulation du radionucléide. L'élimination du ^{106}Ru ainsi accumulé est identique dans son intensité et sa rapidité à celle observée à la suite de la contamination par transfert direct. Les périodes biologiques calculées indiquent que quel que soit le vecteur de son transfert, la présence du ^{106}Ru dans *Daphnia magna* n'est que transitoire.

Accumulation and elimination of ^{106}Ru by *Daphnia magna*. A study of direct and trophic pathways

Keywords : Radioecology, *Daphnia magna,* ^{106}Ru, direct transfer, trophic transfer.

In order to explain and describe ^{106}Ru distribution in freshwater ecosystems, an experimental research programme on this radionuclide was undertaken, including the study of its transfer from water and food to *Daphnia magna*. Uptake and release of ^{106}Ru by an heterogeneous population of daphnids following an acute contamination of the water are two-phase in accordance with a bi-compartmental model. A concentration factor of 130 is reached at accumulation steady state. Elimination of the radionuclide results in two biological half-lives of less than 30 hours. For trophic transfer, previously contaminated food rations constituted by unicellular planktonic algae, *Scenedesmus communis* and *Chlorella pyrenoidosa* were distributed daily. ^{106}Ru accumulation by the trophic route is only one-phase, whereas the corresponding elimination is quite similar to that of direct transfer, as far as intensity and kinetics are concerned. Trophic transfer factor values are 0.107 and 0.013 (w.w.) respectively for *Scenedesmus* and *Chlorella* showing that ^{106}Ru uptake is quite independent from cell digestion.

---

1 . BDCI CEA/COGEMA, Institut de Protection et de Sûreté Nucléaire, Département de Protection de l'Environnement et des Installations, Laboratoire de Radioécologie des Eaux Continentales, IPSN/CEA, 13108 Saint-Paul-Lez-Durance, France.
1*. Centre National de la Recherche Scientifique, IPSN/CEA, 13108 Saint-Paul-lez-Durance, Frnce.
2 . Institute of Landscape Ecology, Czechoslovak Academy of Sciences, 37005 České Budějovice, Czechoslovakia.
Texte d'une communication effectuée dans le cadre du Colloque - *Limmologie appliquée et application de la Limnologie* - Besançon, Franche-Comté, 16-19 Novembre 1992.

Article available at http://www.limnology-journal.org or http://dx.doi.org/10.1051/limn/1993023

1. Introduction

Suite à l'essor de l'industrie nucléaire, notamment en France, est apparue la nécessité d'étudier le devenir des radioéléments artificiels dans l'environnement, ainsi que de comprendre et prévoir leurs transferts au sein des écosystèmes. Les études menées *in situ,* dans les cours d'eau à proximité des installations nucléaires, constituent un moyen d'évaluer cet impact. Elles permettent de détecter et de mesurer le niveau d'éventuelles contaminations radioactives dans certains compartiments des écosystèmes, tels que l'eau, les sédiments, les végétaux ou les poissons. Elles ont, par exemple, révélé la présence des radioisotopes du ruthénium, en quantités significatives, à l'aval de l'usine de retraitement du combustible nucléaire de Marcoule (Foulquier et al. 1987), ce qui est tout à fait cohérent avec les données connues sur les effluents liquides rejetés par ce type d'installation (Foulquier et al. 1992, Lévy et al. 1992). Les études *in situ* ont aussi montré l'apparition de ce radioélément dans tous les compartiments des écosystèmes aquatiques en de nombreux sites d'Europe, suite à l'accident de la centrale de Tchernobyl (Foulquier & Baudin-Jaulent 1989). Ces études permettent donc d'établir des constats, mais ne peuvent guère contribuer à comprendre les mécanismes de transfert, lesquels doivent être approchés par l'expérimentation en laboratoire. De plus, il existe certaines radiocontaminations sur lesquelles les études *in situ* ne peuvent pas fournir d'informations. Dans l'environnement, en situation normale de fonctionnement des installations, les niveaux de radioactivité sont toujours très faibles, et les mesures doivent être effectuées sur de grandes quantités de matériel vivant. Les mesures concernant les organismes de très petite taille comme ceux du benthos ou du plancton sont donc, dans la plupart des cas, impossibles. Or, il est essentiel d'évaluer les possibilités d'accumulation des radioéléments par ces organismes qui constituent les premiers maillons des chaînes trophiques, et qui, par conséquent, sont susceptibles d'influencer fortement la radiocontamination des derniers maillons. Ceci doit donc être effectué expérimentalement. En ce qui concerne le ^{106}Ru, le manque de données sur son transfert en eau douce a motivé la mise en place d'un programme de recherches, comprenant notamment des expériences sur des organismes planctoniques.

Parmi les organismes zooplanctoniques, les daphnies sont les mieux connues, au travers de nombreuses études limnologiques, toxicologiques et écotoxicologiques (Adema 1978, Hessen et al. 1989, Stephenson et al. 1991, Lair 1991). Ces dernières, différentes des tests de toxicité monospécifiques, ne visent pas uniquement à estimer les conséquences biologiques directes de la présence de substances toxiques. Lorsqu'elles s'intéressent aux processus de bioaccumulation et de transferts de contaminants faiblement concentrés dans le milieu (Boudou & Ribeyre 1981), elles sont de nature semblable aux études radioécologiques expérimentales. Pour les écotoxicologistes comme pour les radioécologistes, les daphnies sont particulièrement intéressantes car elles entrent dans le régime alimentaire de la plupart des espèces de poissons d'eau douce (Muus & Dahlstrom 1968). De ce fait, elles constituent un vecteur tout à fait réaliste de contamination. De plus, elles sont essentiellement phytoplanctonophages, et le phytoplancton est bien connu pour sa capacité élevée à accumuler certains micropolluants métalliques (Ting et al. 1989, Ilangovan et al, 1992), et les radioéléments (Nucho 1989, Bruno 1990, Garnier & Baudin 1989). Les daphnies constituent donc un maillon essentiel dans l'étude du transfert d'un radioélément au sein d'une chaîne trophique expérimentale.

Les résultats présentés ici concernent l'étude des deux voies de transfert possibles du ^{106}Ru à *Daphnia magna,* l'eau et la nourriture. Chaque voie a fait l'objet de deux études, menées pour l'accumulation et l'élimination du radioélément. Le transfert direct par l'eau a été suivi pour deux concentrations, ce qui permet de vérifier la répétabilité des expériences, puisqu'il est admis que le transfert des radioéléments est proportionnel à leur concentration dans le milieu (Timofeeva-Rosoveskaya et al. 1960). Le transfert trophique a été étudié avec deux espèces d'algues unicellulaires, *Scenedesmus communis* et *Chlorella pyrenoidosa,* choisies en raison de leur différence de taille et de digestibilité. Il faut souligner que l'utilisation d'algues unicellulaires comme nourriture implique de grandes difficultés dans l'évaluation de leur concentration en radionucléide, ce qui explique en grande partie le fait que ce type de transfert n'a été que très peu étudié. La concentration du ^{106}Ru dans les algues a donc été approchée de manière théorique, par différents calculs, qui incluent des données acquises au cours des travaux menés sur *Scenedesmus* et *Chlorella* dans le cadre du programme de recherches concernant ce radioélément.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. *Espèces étudiées*

L'espèce retenue pour les expériences, *Daphnia magna* présente des caractéristiques intéressantes d'un point de vue radioécologique. C'est l'une des espèces les plus étudiées en raison de sa vaste répartition géographique et de son abondance. Sa nourriture, constituée de détritus organiques divers, bactéries, protozoaires et microalgues, est prélevée dans l'eau par un mécanisme simple de filtration continue non sélective (Pennak 1953). Cette espèce est capable d'ingérer des aliments de taille très variée (Ryther 1954). La souche de *Daphnia magna* utilisée provient d'un élevage maintenu au laboratoire depuis de nombreuses années. Les individus placés dans les bacs d'expérimentation ont été prélevés par tamisage non sélectif, ce sont donc des populations hétérogènes qui ont été étudiées.

Les deux espèces d'algues unicellulaires utilisées au cours des expériences ont déjà été testées comme nourriture pour *Daphnia magna*. Il a été établi que les petites cellules de *Chlorella pyrenoidosa* permettaient un bon développement de cette espèce, alors que les assemblages de quatre grandes cellules de *Scenedesmus communis* constituaient un aliment de qualité médiocre, à cause de certaines propriétés de leurs parois cellulaires, dont leur épaisseur, qui les rend peu digestibles (Lefèvre 1942). De plus ces deux espèces d'algues appartiennent à des genres très répandus dans les eaux douces.

2.1.2. *Elevage des daphnies*

L'eau constituant le milieu d'élevage des daphnies provient du Rhône, dont le débit élevé assure des caractéristiques physico-chimiques stables (Tableau I). Elle est pompée en amont de tout site nucléaire susceptible de rejeter du ^{106}Ru. Les expériences ont été réalisées dans des aquariums en plastique contenant 4 litres d'eau préalablement filtrée à 0,45 μm et aérée. La densité de population était d'environ 500 daphnies par litre, c'est-à-dire du même ordre que celle utilisée au cours d'études écotoxicologiques par Boudou & Ribeyre (1981). La température (20°C), l'éclairement, par lampes fluorescentes, ainsi que la photopériode de 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité ont été choisis pour simuler des conditions estivales en climat tempéré. L'étude de l'accumulation du ^{106}Ru par la voie directe a été effectuée sur une population à laquelle aucune nourriture n'a été apportée et dont la survie était assurée par son maintien dans des conditions non stériles (présence de bactéries). L'étude de la voie trophique a impliqué l'apport quotidien de rations de nourriture constituées de 5×10^8 cellules de *Scenedesmus communis* ou 10^9 cellules de *Chlorella pyrenoidosa*. Les quantités ainsi apportées sont voisines de celles couramment fournies aux daphnies lors des tests de toxicité (Burns 1969, Gliwicz & Sieniawska 1986, Vigano 1991).

Tableau 1. Principales caractéristiques de l'eau utilisée dans les expériences (mg.l^{-1}).

Table 1. Main characteristics of the water used in the experiments (mg.l^{-1}).

pH	7.65
M.E.S.	0.2
Ca^{2+}	97.2
Mg^{2+}	19,5
Na^+	8.9
K^+	0.9
NH_4^+	< 0.1
Fe^{2+}	< 0.02
Mn^{2+}	< 0.002
HCO_3^-	350.0
Cl^-	17.0
SO_4^{2-}	19.0
NO_2^-	<0.005
NO_3^-	8.0
PO_4^{3-}	< 0.1

2.1.3. *Cultures d'algues*

Les algues ont été cultivées en batch avec un apport de CO_2, dans des récipients en verre contenant 3 litres de milieu Bristol modifié, c'est-à-dire enrichi 3 fois en azote (Nichols & Bold 1965). L'homogénéisation du milieu était assurée par agitation magnétique. Les conditions de température, d'éclairement et de photopériode étaient identiques à celles de l'élevage des daphnies. L'ensemble du montage permettait de conserver des conditions de stérilité satisfaisantes. Le milieu a été préparé et stérilisé selon une procédure visant à éviter la formation de précipités. Les composés, phosphatés notamment, susceptibles de précipiter à la chaleur ont été ajoutés de manière aseptique après stérilisation du

milieu à l'autoclave. Ainsi, suite à l'ensemencement, seules les algues étaient isolées lors de la filtration du milieu sur membrane de cellulose à pores de 0,45 μm de diamètre.

Après 14 jours de culture, les algues parvenues en phase exponentielle de croissance, ont été contaminées par un apport de ^{106}Ru. Cette opération est difficilement réalisable de manière aseptique compte tenu des impératifs de sécurité imposés par les normes de radioprotection. A partir de cette étape, les cultures étaient donc monospécifiques mais non-axéniques. Après un temps de contact de 3 à 5 jours avec le milieu contaminé, les cellules étaient séparées du milieu par filtration, puis remises en suspension dans les aquariums contenant les daphnies. Le volume à filtrer était déterminé par des numérations quotidiennes à la cellule de Malassez, méthode la plus adaptée à l'étude de suspensions d'algues radioactives et de cellules associées comme celles de *Scenedesmus* (Nucho 1989).

2.2. Solution contaminante

L'utilisation d'acide nitrique concentré au cours des processus de retraitement conduit généralement à la formation de complexes nitrosyl du Ru, dont les formes nitriques ou nitreuses, toutes peu stables, sont représentées en proportions variables en fonction du type d'installation (Masse 1982). Chaque usine de retraitement produit donc un pool de complexes qui la caractérise, et qui comporte une multitude de formes évoluant au cours du temps. En conséquence, le choix d'un type de complexe de RuNO au cours d'expérimentation dont le but est de donner des résultats généraux est peu judicieux. De plus, lors de leur rejet dans l'environnement, après traitement, ces complexes de RuNO sont très fortement dilués dans le milieu récepteur. Or des recherches récentes sur leur comportement après dilution en eau douce ont montré une nette tendance à l'hydrolyse de ces formes, produisant divers complexes d'ordre inférieur, c'est-à-dire des formes plus simples (Kimura et al. 1989). L'utilisation d'une forme ionique en expérimentation se trouve ainsi parfaitement justifiée. Par ailleurs, les fournisseurs de radionucléides artificiels sont peu nombreux et proposent un nombre restreint de formes chimiques pour chaque radioélément. Compte tenu du raisonnement précédent, parmi les rares formes disponibles de ^{106}Ru, c'est une solution de $RuCl_3$ qui a été retenue préférentiellement aux formes artificielles de complexes de RuNO. Pour l'étude du transfert direct, les deux concentrations du ^{106}Ru dans l'eau étaient de 100 et 500 Bq.ml^{-1}. Pour les expériences de transfert trophique, les milieux de culture des algues ont été contaminés à raison de 500 Bq.ml^{-1}. Ces niveaux de radioactivité correspondent à une concentration d'environ 5×10^{-9}M en Ru. Une telle concentration ne permet pas d'effectuer des calculs réalistes concernant la spéciation prévisible du radioélément, et encore moins de les vérifier. Cependant, la forme chimique employée est l'une des plus simples parmi les formes dissoutes du Ru, et l'une des plus stables après dilution.

2.3. Protocoles expérimentaux et suivi de la distribution du radioélément

Chacune des quatre études a été menée dans deux bacs différents, le premier contenant la population destinée au suivi de l'accumulation du ^{106}Ru, le deuxième contenant celle sur laquelle a été étudiée son élimination. Dans les deux bacs, l'apport de radioélément a été simultané et s'est déroulé dans les mêmes conditions. Après une semaine, les daphnies du deuxième aquarium ont été transférées dans un milieu exempt de radioélément et renouvelé quotidiennement, afin de suivre l'élimination du ^{106}Ru.

Le transfert direct a été étudié pour un apport unique de radioélément, en milieu non renouvelé. L'évolution de la distribution du ^{106}Ru au sein de l'aquarium a été suivie par le prélèvement d'un échantillon de 5 ml d'eau filtrée à 0,45 μm, et de deux échantillons similaires prélevés simultanément, d'environ 75 daphnies, soit deux fois 0,05 à 0,1 g frais. Après leur collecte à l'aide d'un tamis en nylon, les daphnies étaient rincées, séchées sur papier absorbant, pesées, puis conditionnées pour la mesure de leur radioactivité.

Au cours des expériences de transfert trophique, le milieu était renouvelé quotidiennement avant la distribution des rations alimentaires. Ces renouvellements consistaient à rincer l'ensemble de la population de daphnies, débarrasser les parois de l'aquarium des dépôts d'algues et remplir à nouveau le bac avec de l'eau du Rhône filtrée. Ils avaient pour but de limiter l'élévation du niveau de la radioactivité de l'eau, due à un inévitable relargage du ^{106}Ru par les algues, et d'éviter que les daphnies consomment des algues contaminées à des niveaux différents. Les échantillons de daphnies étaient constitués de

manière similaire à ceux prélevés lors du suivi du transfert direct. La concentration du radioélément dans la nourriture a été estimée à l'aide d'échantillons de milieu filtré et non filtré, ainsi que de numérations à la cellule de Malassez. Ces échantillons étaient prélevés d'une part dans les bacs d'expérimentation (deux fois 10 ml), d'autre part dans les milieux de culture (deux fois 5 ml). Les premiers ont permis d'observer la véritable distribution du ^{106}Ru dans les aquariums, après chaque renouvellement du milieu. Néanmoins, le nombre relativement faible de cellules algales présentes dans les bacs risquait de donner aux numérations cellulaires une imprécision dont l'importance était difficile à évaluer. Par conséquent, des mesures effectuées sur les milieux de culture étaient nécessaires pour vérifier la validité des données issues des prélèvements d'eau des aquariums. Cependant, les résultats de ces mesures ne prenaient pas en compte les éventuelles pertes de cellules liées à la procédure d'ajout dans le bac d'expérimentation, ni l'éventuelle désorption du ^{106}Ru par les algues, simultanément à leur remise en suspension dans l'eau non contaminée des aquariums. C'est pourquoi elles n'ont été utilisées qu'à titre de comparaison, et non pas pour estimer la concentration dans les algues.

La radioactivité des échantillons a été mesurée par spectrométrie gamma dans un passeur automatique, équipé d'un cristal-puits d'iodure de sodium activé au thallium. Les résultats des mesures ont été rapportés à la date du début de l'expérience par correction de la décroissance physique de l'élément.

2.4. Traitement des données

2.4.1. *Correction sur les mesures de radioactivité de l'eau filtrée*

Le passage d'une solution radioactive à travers un filtre de cellulose entraîne une diminution de la radioactivité de cette solution, par dépôt des particules dont le diamètre est supérieur à celui des pores de la membrane, ce qui est le but recherché, mais aussi par adsorption des formes dissoutes du radioélément sur la membrane elle-même. Ce phénomène, négligeable pour de grands volumes filtrés et de faibles concentrations en formes dissoutes, devient significatif dans les cas contraires. Il a donc été nécessaire de corriger les concentrations en ^{106}Ru dans l'eau filtrée susceptibles d'avoir été sous-estimées. Cette correction a été effectuée à l'aide de la relation suivante :

$$C_{ef}^* = C_{ef} + 0{,}8447 \times C_{ef}^{0{,}7698} \qquad (1)$$

Celle-ci a été ajustée par régression ($r^2 = 0{,}9914$) sur des données issues de la filtration d'échantillons d'eau distillée contenant du ^{106}Ru, pour des concentrations mesurées dans l'eau filtrée, C_{ef}, variant de 10 à 5 000 Bq.ml^{-1} environ. Elle permet de connaître la concentration C_{ef}^* qui aurait été observée si tout le ^{106}Ru présent sous forme dissoute avait traversé la membrane sans s'y adsorber.

2.4.2. *Estimation de l'évolution de la concentration du ^{106}Ru dans les algues distribuées comme nourriture*

La concentration en ^{106}Ru des algues, C_a, est connue après chaque renouvellement à l'aide des mesures portant sur les échantillons prélevés dans les aquariums. Elle est calculée selon l'expression suivante :

$$C_a = (C_{eb}^* - C_{ef}^*)/N_a \qquad (2)$$

dans laquelle C_{ef}^* et C_{eb} sont les concentrations en ^{106}Ru dans l'eau de l'aquarium, filtrée et non filtrée, et N_a est le nombre de cellules dénombrées dans 1 ml de cette eau. Vingt-quatre heures au moins après chaque renouvellement, et immédiatement avant le suivant, C_{eb}, C_{ef}^* et N_a ont été mesurés de manière identique. Néanmoins, l'équation (2) ne permet plus de connaître la concentration du ^{106}Ru dans les algues, puisque l'eau de l'aquarium contient non seulement les algues non consommées, mais aussi les fécès rejetés par les daphnies, lesquels, constitués d'algues partiellement digérées, ont un diamètre supérieur à 0,45 μm (Kersting & Holterman 1973). Cette concentration ne peut donc être approchée que de manière théorique, à partir des équations relatives à la rétention du ^{106}Ru par les algues dans des conditions similaires, et à leur croissance. Ceci donne lieu au calcul suivant :

$$C_a\,(x + n) = C_a\,(x) \times R_a \,/\, \mathrm{EXP}\,(n\mu) \qquad (3)$$

Ce calcul permet de connaître C_a (x + n), qui est la concentration dans les algues n jours après le précédent renouvellement noté x, à l'aide de la concentration C_a (x) mesurée dans les algues immédiatement après le xième renouvellement. Le terme « EXP($n\mu$) » exprime la multiplication des algues durant n jours, au taux de croissance μ (en j^{-1}). Le terme R_a correspond à l'évolution du facteur de

rétention du ^{106}Ru par les algues, décrit par une équation de la forme :

$$R_a = [E_1 \times EXP(c_1 \times n) + (1-E_1) \times EXP(-c_2 \times n)] \quad (4)$$

Des travaux menés sur les deux espèces d'algues ont permis l'estimation des différents paramètres de ces équations. Pour *Scenedesmus communis,* μ = 0,46, E_1 = 0,073, c_1 = 3,4 et c_2 = 0,010. Les trois derniers de ces paramètres ont été obtenus par régression non linéaire avec un coefficient de détermination de 0,95. Pour *Chlorella pyrenoidosa,* μ = 0,69, E_1 = 0,151, c_1 = 41,2 et c_2 = 0,012, connus avec un coefficient de détermination de 0,99.

2.4.3. *Expression de la concentration du ^{106}Ru dans les algues distribuées comme nourriture*

Les procédures de mesure et de calcul décrites ci-dessus conduisent à l'évaluation des concentrations du ^{106}Ru dans la nourriture, exprimées en Becquerels par cellule. Par souci d'homogénéité dans l'expression des concentrations dans les organismes, et afin de pouvoir calculer certains paramètres radioécologiques, il convient de transformer ces données en $Bq.g^{-1}$ (poids frais). Cette transformation a été réalisée à l'aide de régressions linéaires sur des séries de couples de données issus de numérations et des pesées correspondantes. Pour chaque espèce, la relation entre le poids frais (M_f) et le nombre de cellules (N) pour 1 ml de milieu, s'exprime par une équation du type :

$$M_f = A \times N + B \quad (5)$$

Pour *Scenedesmus communis,* A = 7,604 × 10^{-10}, B = 8,701 × 10^{-4} (r^2 = 0,9667). Pour *Chlorella pyrenoidosa,* A = 6,151 × 10^{-11}, B = 1,558 × 10^{-4} (r^2 = 0,9881). Ces paramètres ont été déterminés sur des intervalles variant de 1,5 × 10^6 à 1,5 × 10^7 pour *Scenedesmus* et de 5 × 10^6 à 5 × 10^7 pour *Chlorella.*

Pour des concentrations cellulaires très inférieures à ces intervalles, ce qui est le cas pour les données issues des mesures faites sur l'eau des bacs d'expérimentation, il convient de se ramener au domaine de validité de l'équation (5). Ceci est réalisé en multipliant le nombre de cellules comptées dans un millilitre, N, par l'inverse d'un facteur de dilution, noté F. Le poids frais M_f' de F × N cellules est ensuite déterminée, à l'aide des relations établies. Celui de N cellules est alors M_f'/F (cette démarche revient à diviser la constante B par F).

2.4.4. *Paramètres radioécologiques calculés*

Les concentrations en ^{106}Ru mesurées dans les différents échantillons sont utilisées pour calculer les paramètres radioécologiques quantifiant les transferts. Ce sont ces paramètres qui permettent de confronter les résultats des expériences en laboratoire aux données de terrain et d'interpréter ces dernières. Le facteur de concentration (FC) mesure le transfert direct, et se définit comme le rapport entre la concentration du radionucléide dans l'organisme et sa concentration dans l'eau, mesurées simultanément. Le facteur de transfert trophique (FTT), qui quantifie la bioaccumulation par la voie alimentaire, est le rapport entre la concentration dans l'organisme consommateur et la concentration dans sa nourriture. Le facteur de rétention (R), grandeur caractéristique de l'élimination, évalue la fraction de radioélément retenue par l'organisme. Lorsque la variation de sa masse est considérée comme négligeable, ce qui est le cas pour l'étude d'une population hétérogène, R est le rapport entre la concentration dans l'organisme en un instant donné de la phase d'élimination et sa concentration initiale. Ce paramètre permet d'exprimer de manière simple la période biologique (T_b), qui est le temps au bout duquel l'organisme a éliminé la moitié de la radioactivité préalablement accumulée.

Comme l'indique la définition des deux premiers de ces paramètres, leur estimation est délicate dans le cas où les concentrations dans l'eau et/ou dans la proie fluctuent très rapidement, ce qui est très souvent vérifié. Dans la mesure où l'accumulation du radioélément est considérée comme un phénomène continu, ce qui est une hypothèse plausible, il est possible d'intégrer les courbes d'évolution des concentrations en fonction du temps. FC et FTT deviennent alors des rapports de surfaces (rapports de deux intégrales) que l'on peut calculer à chaque instant d'une expérience. C'est de cette manière qu'ont été traitées les données de tous les transferts étudiés. La méthode d'intégration numérique utilisée pour les calculs des FC et FTT est celle dite « des trapèzes », qui est très bien adaptée aux données présentées. En effet, elle permet de travailler avec des pas de temps variables, pour des courbes à intégrer susceptibles d'être assimilées à des portions de droites. Considérée comme une méthode assez imprécise, elle est néanmoins tout à fait satisfaisante pour des données expérimentales exposées à de

nombreuses sources de variabilité, telles que les pesées et les mesures de la radioactivité.

3. Résultats et discussion

3.1. Voie directe

Chacune des courbes représentatives de l'évolution de FC et de R décrivant l'accumulation et l'élimination du ^{106}Ru par la voie directe pour les deux concentrations étudiées (Fig. 1 et 2), témoigne d'un phénomène rapide et biphasique (une phase rapide suivie d'une phase lente). Les modèles classiques bicompartimentaux qui, pour décrire des phénomènes identiques, fournissent comme équations des sommes de deux exponentielles dont les paramètres cinétiques sont identiques pour l'accumulation et l'élimination, permettent une bonne description de ces données (Goldstein & Elwood 1971, Aoyama & Inoue 1973). Ils présentent l'avantage d'être les plus utilisés en radioécologie, quel que soit le type d'organisme étudié, ce qui permet de bonnes comparaisons de données (Garnier & Baudin 1989, Garnier-Laplace 1990, Baudin & Nucho 1992). Ils conduisent à décrire l'accumulation et l'élimination du radioélément par des équations de la forme suivante :

$$FC = A_1 \times (1\text{-}EXP(-c_1 \times t)) + A_2 \times (1\text{-}EXP(-c_2 \times t)) \quad (6)$$

$$R = [\, E_1 \times EXP(-c_1 \times t) + (1\text{-}E_1) \times EXP(-c_2 \times t)] \quad (7)$$

dans lesquelles A1 et A2 sont des paramètres caractérisant l'intensité de l'accumulation dans chacun des deux compartiments fonctionnels de l'organisme, E1 et 1-E1 les caractéristiques d'intensité leur correspondant pour l'élimination, et enfin, c1 et c2 des paramètres cinétiques.

L'ajustement non linéaire des paramètres du modèle a été réalisé par la méthode de Marquardt (Vila 1982). Les deux séries de paramètres ainsi obtenues pour les expériences de transfert direct (Tableau 2) ne sont pas significativement différentes ($p = 0{,}05$).

Une superposition exacte des courbes d'évolution du FC en fonction du temps pour deux concentrations du radioélément dans l'eau différant d'un facteur 5 est caractéristique de cinétiques de premier ordre (Barron et al. 1990). Les deux courbes peuvent être considérées comme superposables dans la mesure où les paramètres qui leur ont été ajustés ne sont pas significativement différents. Néanmoins, un ralentissement de la cinétique pour la plus faible des concentrations est perceptible, et indique que des phénomènes de cinétique non linéaire sont susceptibles d'intervenir. Cette tendance reste à confirmer.

Les paramètres des équations permettent de connaître les valeurs des périodes biologiques, qui sont de quelques minutes pour la phase rapide, et de trente heures pour la phase lente. Ils permettent

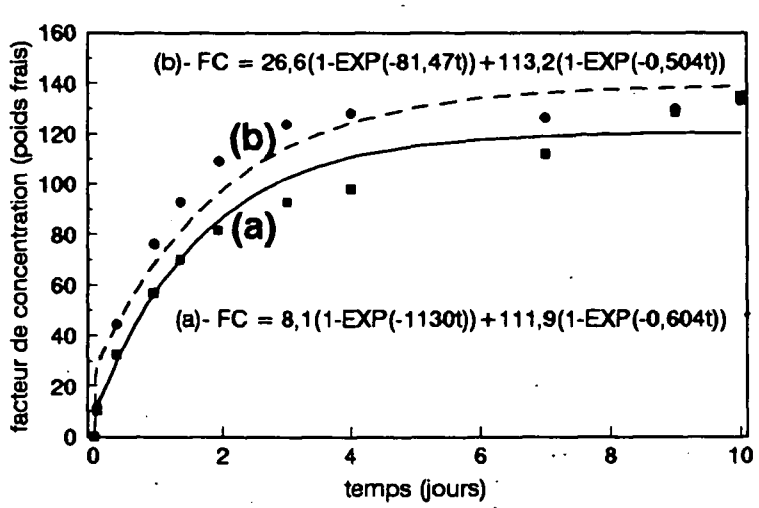

Fig. 1. Evolution temporelle du facteur de concentration du ^{106}Ru par *Daphnia magna,* pour deux concentrations du radioélément dans l'eau. (a) ■ : 100 Bq.ml^{-1} ; (b) ● : 500 Bq.ml^{-1}.

Fig. 1. Temporal echanges in the concentration factor of ^{106}Ru by *Daphnia magna,* for two concentrations of the radionuchide in the water. (a) ■ : 100 Bq.ml^{-1} ; ● : 500 Bq.ml^{-1}.

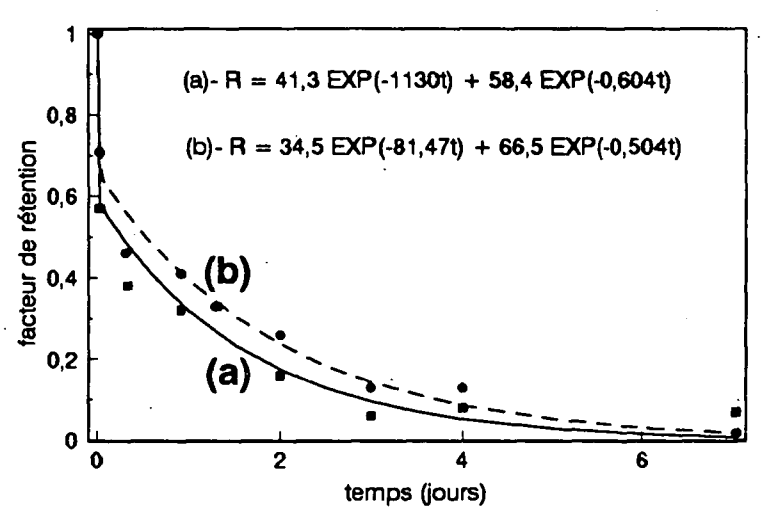

Fig. 2. Evolution temporelle du facteur de rétention du ^{106}Ru par *Daphnia magna,* à la suite d'une accumulation par la voie directe pour deux concentrations du radionucléide dans l'eau. (a) ■ : 100 Bq.ml^{-1} ; (b) ● : 500 Bq.ml^{-1}.

Fig. 2. Temporal changes in the retention factor of ^{106}Ru by *Daphnia magna* following an accumulation by the direct pathway for two concentrations of the radionuchiche in the water. (a) ■ : 100 Bq.ml^{-1} ; (b) ● : 500 Bq.ml^{-1}.

Tableau 2. Valeurs des paramètres du modèle ajusté aux données obtenues pour les différentes expériences (A_1 et A_2 caractérisent l'intensité et c_1 et c_2 la cinétique de l'accumulation du ^{106}Ru, conformément à l'équation (6) ; T_{b1} et T_{b2} sont les périodes biologiques correspondant aux deux phases de l'élimination du radioélément).

Table 2. Parameter values of the model fitted to the data from the different experiments (A_1 and A_2 indicate the intensity and c_1 and c_2 the kinetics of the ^{106}Ru accumulation, in conjunction with equation (6) ; T_{b1} and T_{b2} are the biological half-lives corresponding to the two radionuclide elimination phases.

	Accumulation				Elimination	
	Phase 1		Phase 2		Phase 1	Phase 2
Vecteur de contamination	A_1	c_1	A_2	c_2	T_{b1}	T_{b2} (j)
eau (100 Bq.ml^{-1})	8,1	1130	111,9	0,604	53 min	1,1
eau (500 Bq.ml^{-1})	26,6	81	113,2	0,504	12 s	1,4
Scenedesmus communis	-	-	0,107	0,825	5 s	2,1
Chlorella pyrenoidosa	-	-	0,013	0,632	34 s	1,4

aussi d'extrapoler la courbe d'évolution de FC jusqu'à l'obtention d'un équilibre. Celui-ci est atteint en 11 à 12 jours pour un FC compris entre 120 et 140. Ce chiffre peut être comparé aux données concernant le transfert de différents radionucléides à *Daphnia magna,* obtenues dans des conditions expérimentales tout à fait similaires. Il apparaît ainsi intermédiaire entre les FC du ^{137}Cs et du ^{236}Ra évalués par Lambrechts (1984) et Bruno (1990), qui sont respectivement de 25 et 68, et le FC de 10^3 obtenu par Garnier-Laplace (1990) pour l'^{110m}Ag. La contamination des daphnies par le ^{106}Ru apparaît donc non négligeable, mais très peu durable. C'est en effet la plus éphémère des contaminations évoquées ci-dessus.

3.2. Voie trophique

3.2.1. *Correction due au transfert direct du ^{106}Ru*

Durant la phase d'accumulation du ^{106}Ru par la daphnie à partir des algues, la concentration en radionucléide de l'eau filtrée est à un niveau significatif dans chacun des bacs (Fig. 3). Cette contamination est liée à une désorption du radioélément préalablement fixé par les algues, qui se produit dès leur remise en suspension dans l'eau des aquariums, puis augmente au cours de la journée. La présence de radioélément sous forme dissoute se traduit logiquement par un transfert direct dont il est nécessaire d'estimer le niveau pour connaître avec exactitude la part du ^{106}Ru accumulé par la seule voie trophique. Cette estimation est réalisée à l'aide des mesures de la concentration du ^{106}Ru dans l'eau filtrée et des équations décrivant l'évolution du FC du ^{106}Ru par la daphnie, en effectuant le calcul suivant :

$$\int_0^t C_{ed}(t)dt = \int_0^t C_{ef}^{*}dt \times [111{,}9 \times (1\text{-EXP}(-0{,}604t) + 8{,}1 \times (1\text{-EXP}(-1129t))] \quad (8)$$

dans lequel $C_{ed}(t)$ est la concentration du ^{106}Ru dans les daphnies à l'instant t due au transfert direct et $\int_0^t C_{ef}^{*}dt$ l'intégrale de la concentration dans l'eau de l'aquarium, filtrée à 0,45 μm, calculée par intégration munérique jusqu'à l'instant t. L'expression de FC(t) utilisée dans l'équation (8) est celle ajustée pour le transfert direct du ^{106}Ru présent à 100 Bq.ml^{-1} dans l'eau. En effet, cette concentration est la plus proche des C_{ef}^{*} mesurés dans l'eau des aquariums consacrés à l'étude de la bioaccumulation par voie trophique. De plus l'équation utilisée à tendance à minorer l'intensité et la rapidité du transfert direct, majorant ainsi le transfert à étudier, ce qui est toujours préférable dans le cadre d'études radioécologiques.

L'intégrale de la concentration du ^{106}Ru dans les daphnies due à l'ingestion d'algues contaminées, $\int_0^t C_{ad}(t)dt$ est alors calculée en faisant la différence suivante :

$$\int_0^t C_{ad}(t)dt = \int_0^t C_d(t)dt - \int_0^t c_{ed}(t)dt \quad (9)$$

dans laquelle $\int_0^t C_d(t)dt$ est calculée directement par intégration numérique de la courbe d'évolution des concentrations mesurées dans les daphnies au cours des expériences de transfert trophique.

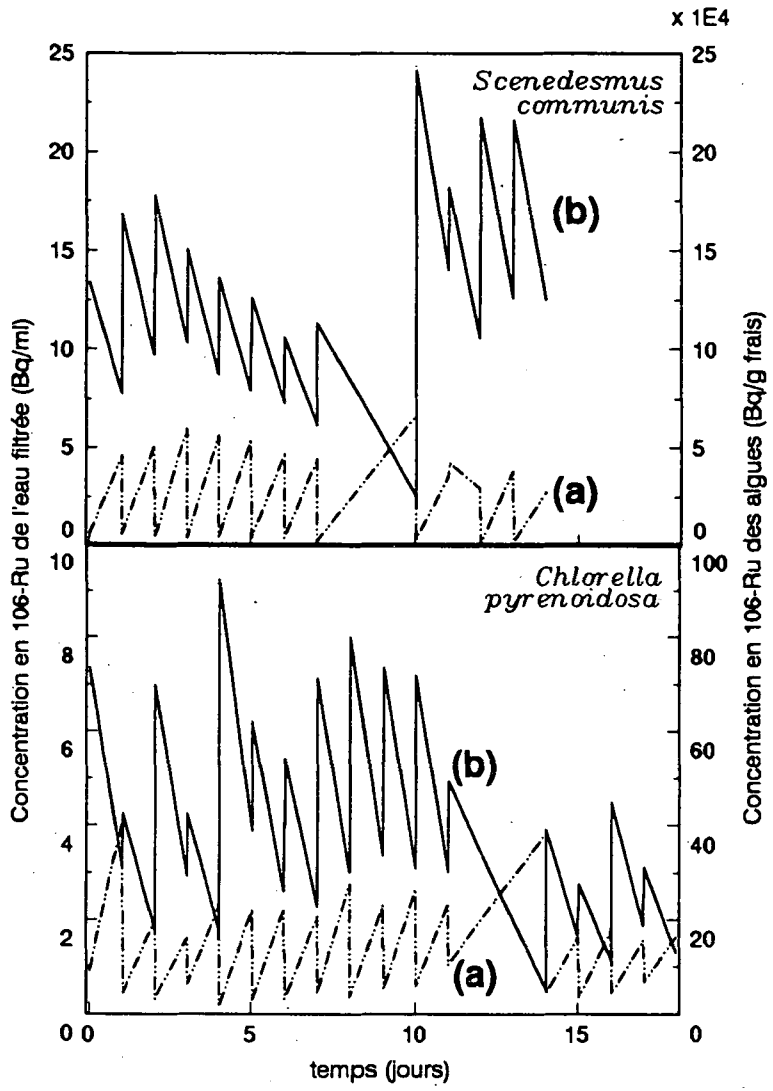

Fig. 3. Evolution temporelle des concentrations du ^{106}Ru dans les deux composantes du milieu, l'eau filtrée (a) et les algues (b), lors de l'étude du transfert trophique à *Daphnia magna,* pour deux espèces d'algues planctoniques, *Scenedesmus communis* et *Chlorella pyrenoidosa.*

Fig. 3. Temporal changes in the concentrations of ^{106}Ru in two components of the environment, fittered water (a) and algal (b) ut the timic of trophic transfer to *D. magna* for two species of planktonic algal, *Scenedesmus communis* and *Chlorella pyrenoidosa.*

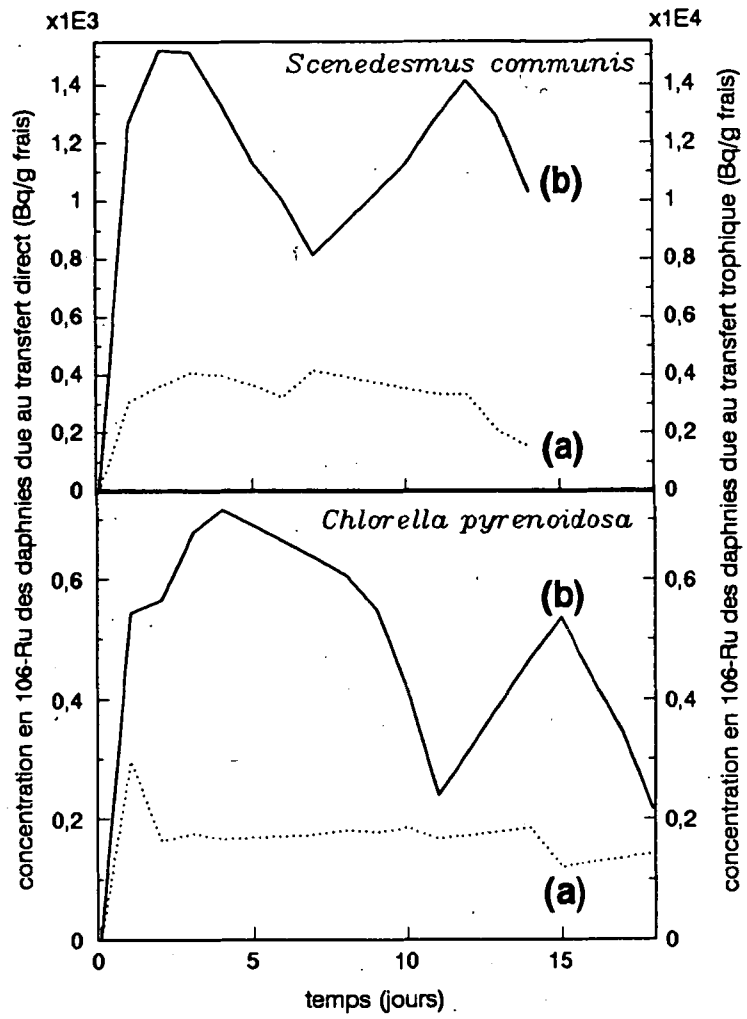

Fig. 4. Evolution temporelle de la concentration en ^{106}Ru de *Daphnia magna,* due au transfert direct (a) du radioélément et à son transfert trophique (b) *via Scenedesmus communis* et *Chlorella pyrenoidosa.*

Fig. 4. Temporal changes in the concentration of ^{106}Ru in *Daphnia magna* due to direct transfer (a) of a radionuclide and to its trophic transfer (b) via *Scenedesmus communis* and *Chlorella pyrenoidosa.*

La quantité de radioélément accumulé par voie directe, estimée sommairement par « décumul » numérique du terme $\int_0^t C_{ed}(t)dt$ apparaît faible dans tous les cas en regard de celle résultant du transfert trophique (Fig. 4).

3.1.2. *Modélisation du transfert trophique*

Les courbes d'élimination du radioélément accumulé par voie alimentaire sont de même forme que celles obtenues lors de l'étude de la voie directe (Fig. 5). Il est donc possible d'y ajuster le même type d'équation (7). En revanche, les courbes décrivant l'évolution des FTT du ^{106}Ru à la daphnie via *Scenedesmus* et *Chlorella* ne permettent pas un bon ajustement de l'équation correspondante imposée par le modèle. L'observation des données (Fig. 6) montre en effet que la phase rapide d'accumulation, si elle existe, intervient en proportion trop faible dans l'élévation du FTT pour être discernable par les méthodes employées. Par conséquent, ce sont des équations correspondant à un modèle monocompartimental qui ont été ajustées aux données de

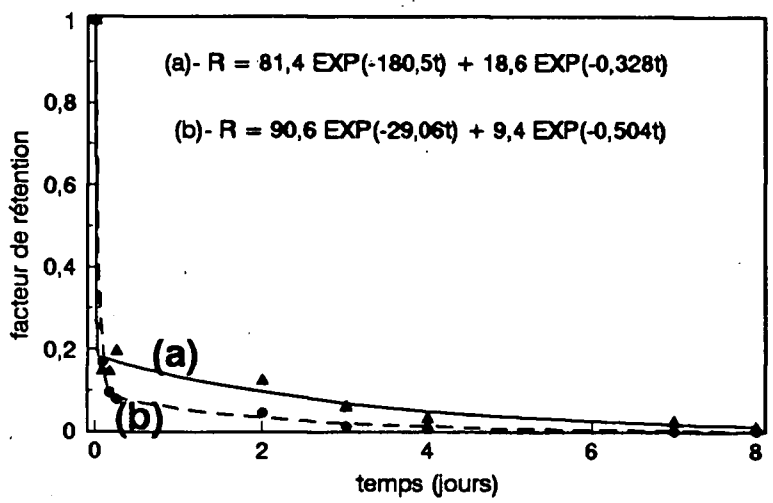

Fig. 5. Evolution temporelle du facteur de rétention du ^{106}Ru par *Daphnia magna,* à la suite de son accumulation par voie alimentaire *via* deux espèces d'algues planctoniques, *Scenedesmus communis* (a) et *Chlorella pyrenoidosa* (b).

Fig. 5. Temporal changes in the retention factor of ^{106}Ru by *D. magna,* following its accumulation through the feeding pathway via two algal species, *Scenedesmus communis* (a) and *Chlorella pyrenoidosa* (b).

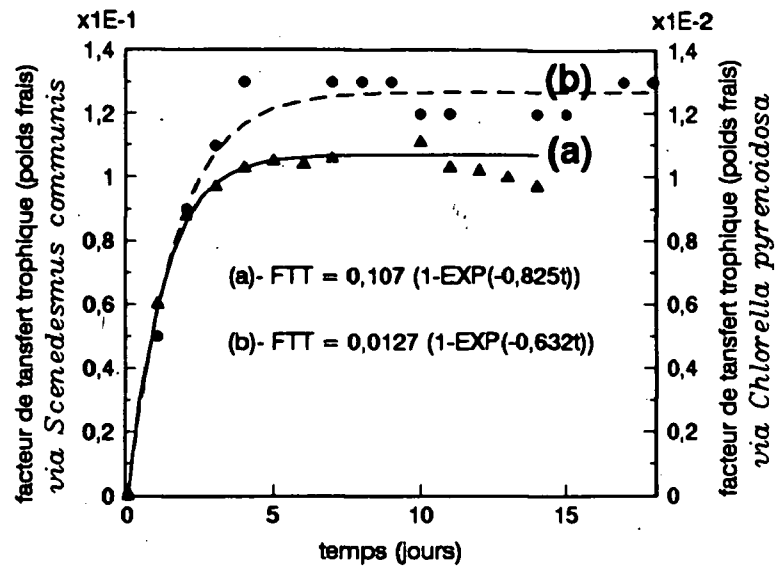

Fig. 6. Evolution temporelle du facteur de transfert trophique du ^{106}Ru à *Daphnia magna, via* deux espèces d'algues planctoniques, *Scenedesmus communis* (a) et *Chlorella pyrenoidosa* (b).

Fig. 6. Temporal changes in the trophic transfer factor of ^{106}Ru to *D. magna,* via two planktonic algal species, *Scenedesmus communis* (a) and *Chlorella pyrenoidosa* (b).

l'accumulation par la voie trophique. Ces équations sont de la forme suivante :

$$FTT = A \times (1\text{-}EXP(-c \times t)) \qquad (10)$$

L'ajustement d'une telle équation aux données de l'étude de l'accumulation par voie alimentaire ne remet pas en cause le modèle. En effet, les valeurs ajustées au paramètre c (Tableau 2) ne sont pas significativement différentes ($p = 0,05$) de celles obtenues pour c_2 paramètre caractéristique de la cinétique de la phase lente de l'élimination correspondante. En ce qui concerne le transfert du ^{106}Ru par la voie trophique, la daphnie peut donc être considérée comme un organisme à deux compartiments, fonctionnant conformément au schéma de la figure 7.

3.1.3. *Comparaison des résultats obtenus pour les deux espèces d'algues*

Les cinétiques d'accumulation et d'élimination du ^{106}Ru à partir des deux espèces d'algues, répondent au même schéma. Les périodes biologiques du radionucléide accumulé par voie alimentaire, sont aussi courtes que celles consécutives à une contamination par la voie directe. Il apparaît donc que ce radioélément, bien que susceptible d'être accumulé par les crustacés zooplanctoniques, ne reste présent dans ces organismes que de façon transitoire.

Les niveaux de contamination des daphnies diffèrent notablement pour les deux espèces d'algues (Fig. 6). Exprimés sur la base du poids frais, le FTT *via Scenedesmus* est 8 fois supérieur au FTT *via Chlorella* (0,11 contre 0,013 à l'équilibre, c'est-à-dire après 5,6 jours et 7,3 jours respectivement). Ce résultat peut paraître assez paradoxal compte tenu du fait que la digestibilité des cellules de *Chlorella* est nettement supérieure à celle de *Scenedesmus.* Il tend à indiquer que le transfert trophique du ^{106}Ru aux daphnies est régi par un mécanisme indépendant de la digestion des cellules. La digestibilité des algues ne constituant pas un facteur explicatif satisfaisant, il convient de rechercher une autre explication, qui peut être d'ordre morphologique. Ceci peut être réalisé en exprimant la concentration du ^{106}Ru dans les algues dans une autre unité. En effet, dans la mesure où la fixation des radioéléments par les algues unicellulaires peut s'effectuer massivement par adsorption, (Nucho & Baudin 1989, Garnier & Baudin 1989), il est intéressant d'exprimer cette concentration en Bq.cell^{-1}, par exemple. L'établissement des relations entre le nombre de cellules et le poids frais montre que 1 mg de *Scenedesmus* correspond à

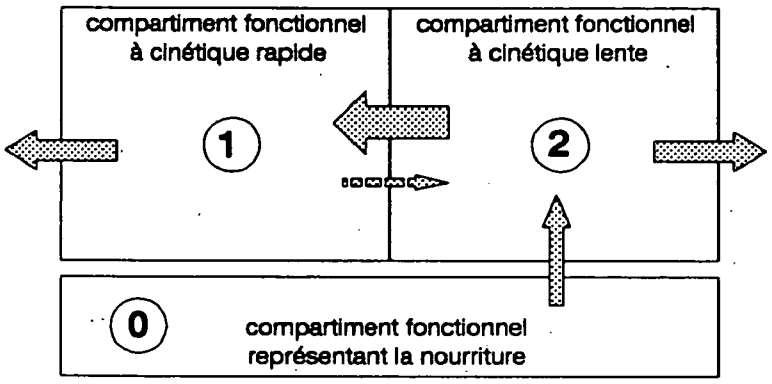

Fig. 7. Schéma fonctionnel de l'organisme à deux compartiments adapté à la représentation du transfert trophique du ^{106}Ru à *Daphnia magna via Scenedesmus communis* et *Chlorella pyrenoidosa.*

Fig. 7. Functional diagram of the organism with two compartments adapted to represent the trophic transfer of ^{106}Ru to *D. magna* via *Scenedesmus communis* and *Chlorella pyrenoidosa.*

1,1 × 10^6 cellules, alors que la même masse de *Chlorella* correspond à 1,3 × 10^7 cellules. Lorsque la concentration du radioélément dans les algues est exprimée en Bq.cell^{-1}, le rapport entre les concentrations du ^{106}Ru dans les daphnies et dans les algues est de 1,2.10^8 avec *Scenedesmus* et de 1,7.10^8 avec *Chlorella.* Cette similitude signifie que le ^{106}Ru fixé à une cellule algale, quel que soit son genre, conduit à une contamination quantitativement semblable des daphnies. Cette donnée confirme le rôle négligeable de la digestion des algues, et, associée à la faible valeur des périodes biologiques, tend à démontrer que l'accumulation du ^{106}Ru par *Daphnia magna* est due essentiellement au simple remplissage du tube digestif par la nourriture contaminée. La faible proportion du radioélément restant dans la daphnie après la vidange de son tube digestif, aurait donc pour origine une simple désorption partielle du ^{106}Ru adsorbé sur les parois des algues consommées.

3.3. Importance relative des deux voies de transfert

La comparaison de la contamination des daphnies par les deux voies de transfert nécessite de connaître le facteur de concentration du ^{106}Ru par les algues. L'évolution de ce facteur en fonction du temps est décrite par une expression mathématique identique à celle de l'équation (6).

Les valeurs des différents paramètres de cette équation ont été ajustées au cours des expériences portant sur *Scenedesmus* et *Chlorella* (cf. § 2.4). A l'aide de cette expression ainsi que de celles relatives aux FC et FTT concernant les daphnies, il est possible de déduire le pourcentage du ^{106}Ru accumulé par voie alimentaire par des daphnies placées dans un milieu où le radioélément est présent de façon chronique (à concentration constante) sous forme dissoute, et dans lequel se produit un bloom phytoplanctonique monospécifique. Dans un tel milieu, au bout de 40 jours, durée moyenne de la vie des daphnies, celles-ci sont contaminées à 70 % par voie alimentaire lorsque les algues présentes appartiennent à l'espèce *Scenedesmus communis* et à 15 % dans le cas de la présence de *Chlorella pyrenoidosa.* La différence notable entre ces deux valeurs est à relier à une plus forte accumulation du ^{106}Ru par *Scenedesmus* que par *Chlorella,* ainsi qu'au mode de contamination de la daphnie par la voie trophique, qui consiste essentiellement en un remplissage du tube digestif par les algues contaminées.

4. Conclusion

La contamination de *Daphnia magna* par le ^{106}Ru présent sous forme dissoute représente, au bout de 12 jours, environ 130 fois celle de l'eau. Cette valeur de facteur de concentration se situe entre celles obtenues pour le ^{226}Ra et le ^{137}Cs, qui sont de l'ordre de 10^1 et celle de l'^{110m}Ag, qui est de l'ordre 10^3. L'accumulation du ^{106}Ru chez *Daphnia magna* par la voie alimentaire, se traduit par un facteur de transfert trophique de 0,013 lors de l'ingestion de chlorelles contaminées, et de 0,11 dans le cas de la consommation de cellules de *Scenedesmus.* Cette dernière valeur est du même ordre de grandeur que celle indiquée par Garnier-Laplace (1990) concernant l'^{110m}Ag pour le même transfert. La différence d'un facteur 10, notée dans les valeurs du FTT *via* les deux espèces d'algues n'est pas liée à leur digestibilité, puisque la valeur la plus élevée est obtenue pour *Scenedesmus,* qui est l'espèce la moins digestible. La digestion des cellules n'intervient donc pas en proportion significative dans la contamination des daphnies. L'écart observé entre les FTT résulte plutôt des différences morphologiques existant entre les deux espèces d'algues. En effet, la contamination des cellules s'effectuant essentiellement par adsorption, le rapport existant entre la surface externe et le nombre de cellules détermine la contamination du « bol alimentaire » des daphnies. Le rapport existant entre le nombre

de cellules et leur masse détermine ensuite la valeur du FTT, laquelle diffère donc très largement selon l'espèce considérée.

Une des principales caractéristiques du radioélément est représentée par la rapidité des processus conduisant à son élimination presque totale par la daphnie, quel que soit le vecteur de la contamination préalable. Aussi, les périodes biologiques sont de quelques minutes pour la phase rapide (T_{b1}), et de 1 à 2 jours pour la phase lente (T_{b2}). Les très rares études radioécologiques relatives à *Daphnia magna,* ont montré que, d'une manière générale, cet organisme éliminait rapidement les radioéléments. Cependant, Garnier-Laplace (1990) note qu'à la suite d'un transfert direct de l'^{110m}Ag, la phase lente concerne 27 % du radionucléide accumulé, et que la période biologique correspondante (T_{b2}) est supérieure à la durée de vie de l'organisme. Pour le ^{226}Ra, Bruno (1990) indique, pour la phase rapide de l'élimination, une période biologique (T_{b1}) assez supérieure à celle observée pour le ^{106}Ru (2 heures au lieu de quelques minutes). La rapidité systématique de l'élimination du ^{106}Ru, qui donne des périodes biologiques similaires quel que soit le vecteur de contamination, indique que ce radioélément n'est jamais réellement métabolisé par *Daphnia magna.* La contamination résultant d'un transfert direct s'effectue probablement par adsorption. Celle résultant d'un transfert trophique est essentiellement due à une accumulation de cellules algales contaminées dans l'appareil digestif, mais aussi, partiellement, à une désorption du ^{106}Ru fixé sur les algues.

Par la place qu'il occupe dans les réseaux trophiques, le zooplancton constitue un élément essentiel des écosystèmes aquatiques. A cet égard, les résultats expérimentaux présentés, qui concernent un organisme très représentatif des crustacés planctoniques, permettent d'avancer quelques hypothèses quant aux conséquences radioécologiques d'une contamination par le ^{106}Ru dans un écosystème. La daphnie est susceptible de transférer ce radioélément à ses prédateurs, tant que du ^{106}Ru est présent dans le milieu, soit sous forme dissoute, soit fixé au phytoplancton. Le développement d'un bloom phytoplanctonique au moment de la contamination du milieu est susceptible d'augmenter cette possibilité, mais de manière variable en fonction de l'espèce algale qui y prédomine. Par exemple, cette augmentation peut aller de 20 à 200 % selon que l'espèce est *Scenedesmus* ou *Chlorella.* Dans tous les cas, les possibilités de transfert sont très éphémères en raison notamment de la rapidité de l'élimination du ^{106}Ru par *Daphnia magna.* L'ensemble des données radioécologiques concernant cette espèce peut constituer un premier élément d'explication à la très forte variabilité interindividuelle observée chez les poissons prélevés *in situ* en aval de l'usine de retraitement du combustible de Marcoule, ou dans des écosystèmes contaminés à la suite de l'accident de Tchernobyl.

La formulation mathématique des résultats obtenus rend possible leur intégration dans un modèle global de simulation de la distribution du radioélément au sein d'un écosystème. Un tel modèle a déjà été conçu au cours des travaux de Garnier-Laplace (1990) sur l'^{110m}Ag, et sa structure autorise un élargissement des simulations possibles à d'autres radioéléments, comme le ^{106}Ru, et la prise en compte d'espèces n'ayant pas encore été étudiées, comme *Chlorella pyrenoidosa.* Les connaissances acquises sur cette espèce, qui ont montré l'importance de la nature de la proie sur la contamination du prédateur, permettent donc d'enrichir la diversité spécifique de l'écosystème simplifié sur lequel porte la simulation, et donc d'accroître son réalisme.

Travaux cités

Adema D.M.M. 1978. — *Daphnia magna* as a test animal in acute chronic toxicity tests. *Hydrobiologia,* 59 : 125-134.

Aoyama I. & Inoue Y. 1973. — Estimation and evaluation of radioactive contamination through a food web in an aquatic ecosystem. An application of the compartmental model to transfer of radioactive substance through a food chain. *J. Rad. Res.,* 14 : 375-381.

Baudin J.P. & Nucho R. 1992. — ^{60}Co accumulation from sediment and planktonic algae by midge larvae (*Chironomus luridus*). *Environ. Pollut.,* 76 : 133-140.

Barron M.G., Stehly G.R. & Hayton W.L. 1990. — Pharmacokinetic modeling in aquatic animals. I. Models and concepts. *Aquatic Toxicology,* 17 : 187-212.

Boudou A. & Ribeyre F. 1981. — Bioaccumulation de deux dérivés du mercure par un consommateur primaire : *Daphnia magna.* Importance des voies de contamination et du facteur température. *Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique.* INSERM, 106 : 347-358.

Bruno V. 1990. — Etude expérimentale et modélisation du transfert du radium dans un écosystème aquatique simplifié. Thèse de Dr Sciences de l'eau et aménagement, Univ. Montpellier II : 159 p.

Burns C.W. 1969. — Relation between filtering rate, temperature and body size in four species of *Daphnia. Limnol. Oceanogr.,* 14 : 693-700.

Foulquier L., Lambrechts A. & Pally M. 1987. — Impact radioécologique d'une usine de retraitement de combustible nucléaire sur un fleuve : le Rhône. *Proc. Int. Conf. Nuclear Fuel Reprocessing and Waste Management,* Paris, 1987, RECOD, 3 : 1063-1071.

Foulquier L. & Baudin-Jaulent Y. 1989. — Impact radioécologique de l'accident de Tchernobyl sur les écosystèmes aquatiques. Rapport XI-3522/90 FR, *Radioprotection-50,* Commission des Communautés Européennes, D.G. XI : 222 p.

Foulquier L., Garnier-Laplace J., Lambrechts A., Charmasson S. & Pally M. 1992. — The impact of nuclear power stations and a fuel reprocessing plant on the Rhone river and its prodelta. *Communication au Séminaire Impact des installations nucléaires sur l'Environnement,* Université Fribourg, Suisse, SFRP/FS, 15-18 septembre 1992.

Garnier J. & Baudin J.P. 1989. — Accumulation and depuration of ^{110m}Ag by a planktonic alga, *Scenedesmus obliquus. Water. Air. Soil. Pollut.,* 45 : 287-299.

Garnier-Laplace J. 1990. — Etude des mécanismes de transfert de l'^{110m}Ag en eau douce. Thèse de Dr Energétique, Univ. Montpellier II : 198 p.

Gliwicz M. & Sieniawska A. 1986. — Filtering activity of *Daphnia* in low concentrations of a pesticide. *Limnol. Oceanogr.,* 31 : 1132-1138.

Goldstein R.A. & Elwood J.W. — A two-compartment, three parameters model for the comparison absorption and retention of ingested elements by animals. *Ecology,* 52 : 935-939.

Hessen D.O., Andersen T. & Lyche A. 1989. — Differentiel grazing and resource utilisation of zooplankton in a humic lake. *Arch. Hydrobiol.,* 114, 321-347.

Ilangovan K., Salazar M., Sudhakar dash, Monroy O.H. & Ramos C.A. 1992. — Interaction of cadmium, copper and zinc in *Chlorella pyrenoidosa* Chick. *Environ. Technol.,* 13 : 195-199.

Kersting K. & Holterman W. 1973. — The feeding behaviour of *Daphnia magna,* studied with the counter coulter. *Verh. Internat. Verein. Limnol.,* 18 : 1344-1440.

Kimura Y., Ogawa Y., Fukui M., Tsujimoto T., Honda Y. & Katsurayama K. 1989. — Studies of the physico-chemical behaviour of the ^{60}Co, ^{106}Ce in freshwater. *Hoken Butsuri,* 24 : 237-247.

Lair N. 1991. — Grazing and assimilation rates of natural populations of planktonic cladocerans in a eutrophic lake. *Hydrobiologia,* 215 : 51-61.

Lambrechts A. 1984. — Essai de modélisation du transfert du cesium 137 dans les compartiments d'un écosystème d'eau douce simplifié. Thèse de Dr d'Université, Univ. Aix-Marseille I : 181 p.

Lefèvre M. 1942. — L'utilisation des algues d'eau douce par les cladocères. *Bull. Biol. France Belgique,* 76 : 250-270.

Lévy F., Clech A. Giordani J.M. & Mistral J.P. 1992. — Control and discharge of radioactive liquid effluents from the Marcoule complex. *Communication au Séminaire Impact des installations nucléaires sur l'Environnement,* Université Fribourg, Suisse, SFRP/FS, 15-18 septembre 1992.

Masse R. 1982. — Le ruthénium, les métaux activés. In : Galle P., *Toxiques nucléaires.* Masson ed., Paris : 112-124.

Muus B.J. & Dahlström P. 1968. — *Guide des poissons d'eau douce et pêche.* Delachaux et Niestlé SA ed., Neufchâtel, Suisse : 136 p.

Nichols H.W. & Bold H.C. 1965. — *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *J. Phycol.,* 1 : 34-38.

Nucho R. 1989. — Modalité de la fixation et de la désorption du ^{60}Co par *Scenedesmus obliquus* et transfert du radioélément vers deux organismes benthiques. Thèse de Dr Sciences biologiques, Univ. Montpellier I : 309 p.

Nucho R. & Baudin J.P. 1989. — ^{60}Co retention by a frehwater planktonic alga *Scenedesmus obliquus. Environ. Pollut.,* 62 : 265-279.

Pennak R.W. 1953 — *Freshwater invertebrates of the United States.* The Ronald Press Company, New York : 769 p.

Ryther J.H. 1954. — Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of *Daphia magna* with reference to growth, reproduction, and survival. *Ecology,* 35 : 522-533.

Stephenson G.L., Kaushik N.K. & Solomon K.R. 1991. — Chronic toxicity of a pure and technical grade pentachlophenol to *Daphnia magna. Arch. Environ. Contam. Toxicol.,* 21 : 388-394.

Timofeeva-Resovskaia E.A., Timofeev-Resovskii N.V., Getsova A.B., Gileva E.A., Jarova T.V., Koulikova G.M. & Milioutina G.A. 1960. — Au sujet des coefficients d'accumulation des radioisotopes du Sr, du Ru, du Cs et du Ce dans les organismes aquatiques. *Zoologich. Zh.,* 39 : 1449-1453.

Ting Y.P., Lawson F. & Prince I.G. 1989. — Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris.* I. Individual ion species. *Biotechnol. Bioeng.,* 34 : 990-999.

Vigano L. 1991. — Suitability of commercially available spring waters as standard medium for culturing *Daphnia magna. Bull. Environ. Contam. Toxicol.,* 47 : 775-782.

Vila A. 1982. — Méthode d'identification des modèles dynamiques. In : Lebreton J.D. & Millier C., *Modèles dynamiques déterministes en biologie.* Masson ed., Paris : 171-195.