Étude expérimentale du transfert du ^{65}Zn à un poisson d'eau douce avec référence particulière aux deux voies d'absorption et au métabolisme de l'élément stable (*)

A. BERG, A. BRAZZELLI (**)

(Manuscrit reçu le 23 avril 1975)

RÉSUMÉ

L'utilisation de ^{65}Zn comme traceur permet la détermination d'importants paramètres du métabolisme du zinc (taux de rétention directe et intestinale, coefficient de renouvellement). Étant donné la très faible valeur de ce dernier paramètre (environ 0,3 p. cent par jour), l'état d'équilibre ne peut être déterminé à partir d'un essai de courte durée.

Chez l'espèce de poisson étudiée (*Carassius auratus* L.), l'absorption directe contribue plus que l'absorption intestinale au taux de rétention total et peut probablement satisfaire à elle seule les besoins physiologiques du poisson en zinc. Le taux de rétention total, tout comme la teneur totale en zinc, fait l'objet d'une régulation homéostatique, ce qui indique le rôle métabolique de l'élément zinc. Il en découle que l'accumulation directe du radiozinc est inversement proportionnelle à la concentration de zinc dans l'eau (en tant qu'ion Zn^{++}) et que l'accumulation intestinale du radiozinc est inversement proportionnelle à la dose de zinc ingérée. Le faible coefficient de renouvellement entraîne une excrétion très lente du radiozinc préalablement absorbé.

Sont soulignées les implications radiologiques de cette étude du métabolisme du zinc. Le danger de concentration cumulative de radioactivité est neutralisé par les processus de régulation métabolique. Les prévisions concernant le niveau de radioactivité à l'équilibre doivent tenir compte du faible coefficient de renouvellement de l'élément.

(*) Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un sous-contrat avec l'Association EURATOM-CEA « Niveaux de Contamination du milieu ambiant ». Contribution n° 982 du Programme de Biologie, D. G. XII de la commission des Communautés Européennes.

(**) Groupe de Biologie, D. G. Recherche, Science, Education; CCR-EURATOM, 21020 Ispra (Italie).

ABSTRACT

The use of ^{65}Zn as a tracer allows the determination of important parameters of zinc metabolism (rates of direct and intestinal retention, turnover coefficient). Because of the very low value of the latter parameter (around 0.3 p. cent/day), the equilibrium state cannot be estimated from a short term experiment.

In the fish species studied (*Carassius auratus* L.), direct absorption contributes more than intestinal absorption in the total retention rate and can probably alone fulfill the total zinc requirements of the fish. The total retention rate, together with the total Zn content, are subject to homeostatic regulation, thus indicating the metabolic role of the element zinc. It follows that direct accumulation of radiozinc is inversely proportional to zinc concentration in water (as the ion Zn^{++}). Similarly the intestinal accumulation of radiozinc is inversely proportional to the dose of ingested zinc. The low turnover coefficient is responsible for the very slow rate of excretion of previously absorbed radiozinc.

The radioecological implications of this study of zinc metabolism are underlined. The danger of cumulative concentration of radioactivity through ingestion of highly radioactive food is neutralized by the processes of metabolic regulation. One must be particularly careful in drawing conclusions about the equilibrium level of radioaccumulation because of the low turnover of the element.

INTRODUCTION

Dans différents domaines de la recherche scientifique fondamentale et appliquée, s'est manifesté ces dernières années un intérêt particulier vis-à-vis du rôle biologique du zinc et de ses incidences diverses.

Parmi ces domaines, il convient de citer en premier lieu la radioécologie et la radioprotection sanitaire. En effet, de nombreux travaux, notamment en radioécologie aquatique, ont permis de déceler l'intense capacité d'accumulation du radionucléide d'activation ^{65}Zn que présentent les organismes vivants [1-3]. Cette accumulation du radionucléide n'est, elle-même, que la manifestation de la capacité d'accumulation de l'élément stable [4-6]. L'importance radioécologique du ^{65}Zn a été particulièrement mise en relief sur le site nucléaire de Hanford, U.S.A., par la contamination du fleuve Columbia et des eaux adjacentes du Pacifique, contamination qui a fait l'objet de toute une série de travaux portant sur les différentes composantes des écosystèmes aquatiques considérés.

Le rôle physiologique du zinc a, par ailleurs, fait l'objet de nombreuses études enzymologiques, endocrinologiques et nutritionnelles. Après que le zinc fût reconnu pour la première fois comme l'élément essentiel à une croissance normale chez la souris [7], son rôle comme élément constitutif de plus de 25 métalloenzymes a été mis en évidence dans les trente dernières années, notamment en ce qui concerne l'anhydrase carbonique, des peptidases, des déshydrogénases et la phosphatase alcaline [8].

Du point de vue endocrinologique, on a tenté de préciser le rôle du zinc dans la synthèse de l'insuline et, par voie de conséquence, dans le métabolisme des glucides et des lipides [9]. Par ailleurs, son rôle dans la croissance osseuse,

par le truchement de la phosphatase alcaline, a été étudié chez les ovins tandis que la carence alimentaire en zinc dans le bétail était mise en relation avec des troubles métaboliques divers pouvant se traduire par des pertes considérables dans la production animale [8].

Micro-élément essentiel à faible concentration, le zinc devient à doses plus fortes un élément polluant de grande importance dans les eaux douces, aussi bien par son effet toxicologique aigu au niveau de la membrane branchiale des poissons [10] que par son effet toxicologique subléta, pouvant inhiber complètement la reproduction à des concentrations encore relativement basses [3].

Cette revue sommaire des différents aspects du rôle biologique du zinc met en lumière l'intérêt d'une étude portant sur le métabolisme de l'élément chez les poissons d'eau douce. Dans le domaine particulier de la radioécologie aquatique, si les travaux précédemment cités fournissent des informations partielles sur les facteurs de concentration du radiozinc, une lacune subsiste en ce qui concerne la détermination expérimentale des paramètres cinétiques (taux de rétention, demi-vie biologique) intervenant dans l'accumulation ou l'excrétion du radionucléide. Manquent plus particulièrement des données portant conjointement sur le radio-isotope et l'isotope stable de manière à permettre une interprétation, en termes de cinétique, de l'élément stable par le biais de la radioactivité spécifique, ainsi que des données, capitales pour des organismes aquatiques, sur l'importance relative des deux voies d'absorption (par l'eau et par la nourriture).

L'objet du présent travail est de combler partiellement ces lacunes. Par ailleurs, il a paru nécessaire de déterminer les paramètres de l'accumulation dans une vaste gamme de conditions expérimentales, en faisant varier la composition de la nourriture et de l'eau, notamment du point de vue des concentrations de l'élément stable.

TERMINOLOGIE

Il serait hautement souhaitable, dans l'étude cinétique d'un élément, de pouvoir accéder, grâce à la technique de traçage radio-isotopique, à la mesure des flux d'entrée (f_e) et de sortie (f_s) de l'élément stable correspondant. Cette technique est utilisée couramment dans l'étude du métabolisme du sodium [11] en admettant que le poisson constitue vis-à-vis de cet élément un seul compartiment en échange cinétique par rapport au compartiment externe (eau).

Dans le cas d'un élément comme le zinc, le problème est beaucoup plus complexe, le poisson devant être considéré comme un système pluricompartimental dans lequel le compartiment sanguin représente la voie de transport vers les tissus alors que le milieu extérieur lui-même est un système à deux compartiments distincts (eau, nourriture), auxquels correspondent des sites d'échange spécifiques (branchies, intestin) avec le compartiment sanguin, sièges des voies d'*absorption branchiale* (à partir de l'eau) et d'*absorption intestinale* (à partir de la nourriture) (fig. 1). Dans ces conditions, la mesure de la variation, en fonction du temps, de la concentration dans l'organisme

entier du traceur radioactif (*phase d'accumulation* du traceur), ne fournit d'indications quantitatives que sur les processus d'échange entre le sang et les tissus et non sur les processus d'absorption branchiale ou intestinale. En d'autres termes, la technique de traçage ne permet pas la mesure des *taux d'absorption* mais du *taux de rétention* par les tissus. Suivant que le traceur sera administré par l'eau ou par la nourriture, on pourra distinguer un taux de rétention partiel à partir de l'eau (TRD, *taux de rétention directe*) ou à partir de la nourriture (TRI, *taux de rétention intestinale*).

FIG. 1. — Schéma des échanges de zinc entre le poisson et le milieu.

Dans le cas où le pool de zinc du poisson peut être considéré comme constant (état stationnaire en zinc), on peut admettre qu'il y a égalité, d'une part, entre le taux d'absorption et d'excrétion total, d'autre part, entre le taux de rétention et d'excrétion des tissus. Dans ces conditions, le taux de rétention des tissus pourrait être appelé également *taux d'échange*.

Dans la mesure où le traceur retenu fait l'objet d'une réexcrétion négligeable (ce qui entraîne, à radioactivité constante dans le milieu, une accumulation linéaire dans le temps), les taux de rétention TRD et TRI peuvent être calculés par les formules suivantes :

$$\text{TRD} = \frac{\text{dpm/g poisson}}{R_{s_e}} \times \frac{1}{t} \text{ (en } \mu\text{g/g poisson/j)}$$

ou

$$\text{TRI} = \frac{\text{dpm/g poisson}}{\text{Rs}_n} \times \frac{1}{t} \text{ (en } \mu\text{g/g poisson/j)},$$

où dpm/g poisson est la radioactivité accumulée (en désintégrations par minute) par le poisson au temps t (n jours) par gramme de poids frais et Rs_e ou Rs_n la radioactivité spécifique (dpm/ μg) dans le compartiment (eau ou nourriture) marqué à l'aide du traceur.

Il convient de préciser que l'application de ces formules présuppose que le radio-isotope et l'élément stable sont présents dans le milieu sous les mêmes formes physico-chimiques, ce qui pourrait ne pas toujours être vérifié en fait, dans les conditions expérimentales utilisées.

En ce qui concerne le radionucléide, sa rétention à partir de l'eau et à partir de la nourriture est exprimée respectivement par le facteur de concentration (FC) et le coefficient de rétention intestinale (CR_i), définis de la manière suivante :

$$\text{FC} = \frac{\text{dpm/g poisson}}{\text{dpm/g eau}},$$

$$\text{CR}_i = \frac{\text{dpm/g poisson}}{\text{dpm ingérés/g poisson}}.$$

CONDITIONS EXPÉRIMENTALES GÉNÉRALES

— *Traceur* : l'émetteur gamma ^{65}Zn , de haute activité spécifique, additionné à l'eau ($1.3 \mu\text{Ci/l}$) ou à la nourriture ($1 \mu\text{Ci/g}$) et mesuré sur les poissons entiers dans un compteur « whole body » à scintillation liquide (Armac Packard), pour une fenêtre de 80 keV, avec une efficacité globale (cpm/dpm) de $4.4 \cdot 10^{-3}$ et avec un effet négligeable de la géométrie, tout au moins pour des objets de petites dimensions.

Les comptages des tissus après dissection ont été réalisés avec un spectromètre gamma à puits et à cristal NaI (TI) 3×3 in (efficacité globale cpm/dpm = 0,078) en tenant compte évidemment de la géométrie et de la décroissance du radionucléide.

— *Espèce* : carassin doré (*Carassius auratus* L.), de 7 à 12 cm de longueur, pesant de 5 à 20 g suivant les essais (variation de poids limitée à ± 20 p. cent à l'intérieur de chaque essai).

Les individus sont placés isolément dans un aquarium en PVC de 10 l et acclimatés à ces conditions expérimentales et à la nourriture durant une semaine, préalablement à l'essai.

— *Nourriture* ; synthétique, à base de gélatine - caséine - dextrine + vitamines (voir annexe) ou telle que spécifiée plus loin, à raison de 20 cal/g poisson/jour, administrée en deux repas.

— *Eau* : du Lac Majeur, filtrée sur laine de verre. Composition cationique : Ca 19-23; Mg 3,0-3,8; Na 2; K 1,5; Zn 0,02-0,04 mg/l. Renouvellement de l'eau de l'aquarium tous les trois jours ou à chaque mesure de radioactivité des poissons. Contrôle de la radioactivité de l'eau au début et à la fin de chaque période. Température de l'eau : $19 \pm 1^\circ\text{C}$, pH expérimental 7,0-7,5.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. ESSAI PRÉLIMINAIRE

Il a été procédé à un essai préliminaire dans le but de dégager l'allure générale de la courbe d'accumulation du ^{65}Zn et la distribution du radioisotope dans les tissus après une certaine période d'accumulation directe. Certaines conditions expérimentales ayant dû être modifiées en cours d'essai, il ne sera tiré de cet essai préliminaire que les conclusions utiles pour la poursuite de la recherche.

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

L'accumulation directe du zinc a été suivie pendant vingt-six jours sur dix individus nourris en subsistance (20 mg nourriture/g poisson/jour, concentration de zinc 20 ppm), par mesures toutes les vingt-quatre heures durant les quinze premiers jours et ensuite tous les trois jours.

DISCUSSION DES RÉSULTATS OBTENUS

1° On observe une courbe d'accumulation croissante très irrégulière avec même quelques cas de diminution de radioactivité lorsque les poissons sont mesurés tous les jours. Le taux d'accumulation augmente sensiblement, tout en présentant une variabilité moindre, lorsqu'on passe à des mesures plus espacées (trois jours), pour se stabiliser ensuite. On doit conclure à une accumulation grossièrement linéaire dans le temps, sans manifestation d'une tendance à l'asymptote, et à un dérangement du métabolisme minéral provoqué par des mesures rapprochées, comme mis en évidence par d'autres auteurs en ce qui concerne l'osmorégulation [11].

2° Le facteur de concentration en ^{65}Zn du poisson par rapport à l'eau s'élève après vingt-six jours d'accumulation directe à une valeur d'environ 60. Si l'on considère que la concentration en zinc du poisson total est de quelque 60 ppm et que la concentration du zinc dans l'eau est au maximum de 0,03-0,04 ppm, le facteur de concentration en zinc stable qui en découle s'élève à quelque 1 500-2 000.

Il convient de rechercher les causes de cette discordance entre les facteurs de concentration respectifs des deux isotopes du zinc.

— Comme l'essai ne concerne que l'accumulation directe du ^{65}Zn à partir de l'eau, on pourrait supposer que la discordance est due à une dilution isotopique très importante par la voie d'absorption intestinale. Mais les résultats exposés plus loin infirment nettement cette hypothèse.

— L'accumulation du ^{65}Zn exigerait, pour atteindre l'équilibre, un temps extrêmement long par suite d'un coefficient de renouvellement très faible du zinc. Cette hypothèse est confirmée par l'allure linéaire dans le temps de l'accumulation du ^{65}Zn , ainsi que par les données d'excrétion très faible présentées plus loin.

La plus grande circonspection s'impose par conséquent dans l'application qui serait faite de données expérimentales d'accumulation du ^{65}Zn pour en déduire des valeurs de facteurs de concentration à des fins de protection sanitaire. Il sera du plus grand intérêt de rechercher parmi les tissus ou organes du poisson, celui qui se mettrait rapidement en équilibre avec la radioactivité spécifique du milieu ambiant et qui pourrait, de ce fait, servir d'indicateur pour la prévision de facteurs de concentration à l'équilibre du poisson entier.

3° *Distribution de la radioactivité accumulée.* Une fraction très importante de la radioactivité du poisson se trouve dans le contenu des segments moyen et postérieur du tube digestif (46 p. cent) et dans les parois du tube digestif lui-même (19 p. cent). Cette forte rétention dans le tube digestif a été décrite pour la truite recevant une seule dose orale de ^{65}Zn [12]. Des autres parties du corps, la tête, les branchies, les parties externes (peau, écailles, nageoires) et le muscle interviennent le plus dans l'accumulation. La contribution des os, du rein, du foie et du sang est minime.

La détermination simultanée du zinc stable a permis de calculer la radioactivité spécifique des différentes parties par rapport à celle de l'eau. On note, pour toutes les parties, des valeurs faibles de l'ordre de 1 à 8 p. cent, avec un maximum observé pour le foie, rein et tube digestif postérieur, et avec un minimum pour les os et la peau, ordre comparable à celui décrit pour les poissons de la Columbia River [13]. Seul le contenu du tube digestif moyen et postérieur atteint des valeurs relatives de 25 à 50 p. cent. Dans ce dernier cas, on pourrait avancer l'hypothèse d'un équilibre isotopique avec le milieu externe.

Les faits observés appellent les remarques suivantes :

— La faible radioactivité spécifique des parties disséquées indique qu'elles sont le siège d'un *turnover* limité. Dans le cas de parties qui, de par la nature des échanges qui y prennent place, devraient se mettre rapidement en équilibre avec le milieu (telles que branchies, sang, tube digestif, rein et foie), leur faible radioactivité spécifique pourrait indiquer que leur pool de zinc stable ne s'échange que pour une faible part avec le milieu extérieur (marqué) et pour une part plus importante avec le milieu intérieur (non marqué).

— La forte radioactivité spécifique du contenu du tube digestif ne peut s'expliquer que sur la base d'un rôle important joué par cet organe dans

l'absorption ou dans l'excrétion de la radioactivité due au ^{65}Zn . On serait tenté d'assigner au tube digestif un rôle dans l'absorption du ^{65}Zn en admettant que le poisson ingère de l'eau marquée. Mais cette hypothèse va à l'encontre des mécanismes osmorégulateurs reconnus pour les poissons d'eau douce (en opposition aux poissons marins) et qui présupposent une forte excrétion urinaire d'eau et une absorption active de sels par les branchies. L'hypothèse d'ingestion d'eau marquée peut être d'autant moins retenue qu'il faudrait une ingestion journalière de quelque vingt à trente fois le poids du poisson pour justifier la radioactivité présente dans le contenu du tube digestif, alors qu'un taux d'ingestion d'eau de l'ordre de 6 p. cent par jour est mentionné pour *Tilapia mossambica* en eau douce [14].

Dès lors, il convient d'interpréter la forte radioactivité spécifique de ce contenu comme le résultat d'une excrétion, par cette voie, du zinc préalablement absorbé au niveau branchial. Cette interprétation sur la base de la fonction d'excrétion de l'intestin est confirmée par le fait que la radioactivité du contenu intestinal se maintient relativement élevée au cours des premiers jours de la phase d'excrétion, en absence de radioactivité dans l'eau baignant les poissons (données non publiées).

Le rôle prépondérant de l'excrétion intestinale du zinc par rapport à l'excrétion urinaire est d'ailleurs signalé chez les mammifères par plusieurs auteurs [15, 16]. Dans cette excrétion endogène, sur la base d'un schéma du métabolisme calcique appliqué au porc [17], on peut distinguer les fractions de zinc réexcrété avant et après fixation par les tissus [8], ces deux fractions pouvant correspondre grossièrement dans nos essais à la radioactivité du contenu intestinal durant les vingt-quatre heures de rinçage et au cours des premiers jours d'excrétion (à la différence près que l'absorption et l'excrétion concernent ici des organes différents, branchies et intestin).

Il conviendra de vérifier si le contenu intestinal peut effectivement être considéré comme étant en équilibre avec la radioactivité spécifique du milieu externe. Dans ce cas, il pourrait servir d'indicateur dans la prévision de la radioactivité spécifique du poisson en conditions d'équilibre, sans devoir recourir à des essais de longue durée.

2. IMPORTANCE RELATIVE DES DEUX VOIES D'ABSORPTION BRANCHIALE ET INTESTINALE

Dispositif expérimental (tableau I)

Dans deux traitements de conditions identiques en ce qui concerne les concentrations de zinc dans l'eau (0,046 ppm) et dans la nourriture (20 ppm), on procède au traçage par ^{65}Zn respectivement de l'eau et de la nourriture (distribuée à raison de 20 mg/g poisson/jour). Pour des raisons précisées plus loin, un troisième traitement est adopté, comportant le traçage de l'eau (à 0,046 ppm Zn) et l'administration d'une nourriture ne contenant que les traces de zinc présentes dans les constituants de la nourriture synthétique (4 ppm Zn). La radioactivité des poissons est mesurée aux jours 4,9,13,18 et

TABLEAU I

IMPORTANCE RELATIVE DES DEUX VOIES D'ABSORPTION DU ZINC

 $(\pm s_m \text{ ou erreur standard} = s/\sqrt{n})$.

Trait.	ppmZn		Rs dpm $\times 10^{-3}/\mu\text{g Zn}$		dpm $\times 10^{-3}/\text{g}_p$ au 25 $^{\circ}$ j	Taux rét. $\mu\text{g Zn}/\text{g}_p/\text{j}$	
	Eau	Nour.	Eau	Nour.		TRD	TRI
1	0,046*	20	124,2	—	$332,8 \pm 50,1$	$0,107 \pm 0,016$	—
2	0,046	20*	—	106,6	$217,6 \pm 8,8$	—	$0,082 \pm 0,003$
3	0,046*	4	124,2	—	$452,9 \pm 48,0$	$0,146 \pm 0,015$	—

25 de la phase d'accumulation, après un jour de rinçage en absence de traceur, puis après un à trente-trois jours d'excrétion.

Discussion des résultats

La figure 2 rapporte les variations dans le temps des valeurs de radioactivité accumulée par gramme de poisson durant les vingt-cinq jours de la phase d'accumulation et durant les trente-trois jours de la phase d'excrétion subséquente.

FIG. 2. — Évolution de la radioactivité au cours d'une période d'accumulation de 25 jours suivie d'une période de 33 jours d'excrétion (point γ 1 = radioactivité au jour n d'accumulation, ramenée au point correspondant de la courbe indiquée 1, après 24 heures de rinçage; les courbes 1, 2, 3 correspondent aux traitements décrits dans le tableau I).

Cette figure met en évidence :

— la part importante, surtout dans les traitements à eau marquée, de la radioactivité perdue en vingt-quatre heures de rinçage, excrétée en grande partie par le tube digestif; de ce fait, cette fraction n'est pas considérée comme accumulée;

— l'augmentation continue et pratiquement linéaire de la radioactivité au cours du temps;

— l'excrétion très faible de la radioactivité, si ce n'est après une très courte phase initiale (rétention relative de quelque 90 p. cent après trente-trois jours d'excrétion).

A partir des données de radioactivité accumulée par les poissons, on peut calculer les taux de rétention directe et intestinale (TRD et TRI) suivant les formules exposées précédemment et sur la base d'une accumulation linéaire dans le temps (tableau I).

Les données des traitements 1 et 2 permettent de calculer aisément les contributions relatives des deux voies d'absorption.

— Taux de rétention total,

$$TR_{\text{tot}} = TRD + TRI = 0,107 + 0,082 = 0,189.$$

— Contribution relative de l'absorption branchiale = $0,107/0,189 = 0,566$.

— Contribution relative de l'absorption intestinale = $0,082/0,189 = 0,434$.

— Rapport entre l'absorption branchiale et intestinale = $0,107/0,082 = 1,305$.

Ces chiffres mettent clairement en évidence le rôle important joué par les branchies dans l'absorption du zinc : alors que $0,400 \mu\text{g}$ de l'élément sont ingérés par gramme de poisson et par jour ($20 \text{ mg nour. } g_p/j \times 20 \text{ ppm Zn}$), dose qui dépasse largement les besoins métaboliques (exprimés par le taux de rétention total = $0,189 \mu\text{g}/g_p/j$), la fraction d'absorption branchiale reste prépondérante.

La figure 3 tente d'illustrer graphiquement la relation entre les deux voies d'absorption. Il est supposé que le rapport existant entre les taux de rétention directe et intestinale (TRD et TRI) est identique à celui existant au niveau des flux d'entrée (ou flux absorbés) correspondants (branchial, $f_{e, br}$ et intestinal $f_{e, int}$), par suite de l'homogénéisation rapide intervenant dans le compartiment sanguin. De ce fait, la figure 3 représente ces taux de rétention et flux d'entrée sous la forme de vecteurs verticaux superposés, constituant des côtés homologues de triangles semblables, à sommet commun convergent, et situés de part et d'autre d'une droite oblique séparant la voie d'absorption branchiale (en bas de la figure) de la voie d'absorption intestinale (en haut de la figure).

On peut situer sur la figure ainsi esquissée les taux de rétention directement mesurés (pour une dose journalière de zinc ingéré, $Zn_{ing} = 0,400 \mu\text{g}/g/j$; $TRD = 0,107$ et $TRI = 0,082 \mu\text{g}/g/j$). Par contre, l'emplacement des flux d'entrée correspondants ne peut être déduit d'une mesure directe. Cependant,

étant donné que la valeur du flux intestinal est fonction de la dose ingérée et de la digestibilité ($f_{e, \text{int}} = \text{Zn}_{\text{ing}} \times D$), on a représenté sur la figure 3 un $f_{e, \text{int}}$ correspondant à une digestibilité en zinc légèrement inférieure à 50 p. cent, ce vecteur vertical étant superposé (pour la raison de proportionalité avec les taux de rétention indiquée plus haut) au flux d'entrée branchial $f_{e, \text{br}}$. Dans

FIG. 3. — Contribution relative de l'absorption branchiale et intestinale au taux de rétention totale.

ces conditions, on voit que le flux branchial est plus élevé que le taux de rétention total. Si ce dernier taux, qui devrait exprimer le niveau des besoins physiologiques du poisson en zinc, est un paramètre soumis à régulation homéostatique, il est clair, comme l'indique le graphique, que cette même valeur du taux de rétention total peut être obtenue par le seul paramètre TRD en absence de zinc alimentaire.

C'est dans le but de vérifier le bien-fondé des considérations précédentes que l'essai discuté ici a comporté un traitement sans addition de zinc à la nourriture (traitement 3). A cause des traces présentes dans les constituants de la nourriture synthétique administrée, la dose journalière de zinc ingéré dans ces conditions est encore loin d'être négligeable (0,080 $\mu\text{g/g/j}$).

On peut remarquer que le taux TRD qui en découle (0,146) est en fait nettement supérieur au TRD du traitement 1 (0,107; niveau de probabilité de la différence : P 0,10), tout en n'atteignant pas la valeur de TR_{tot} . Ce résultat expérimental est représenté sur la figure 3 (condition b, $\text{Zn}_{\text{ing}} = 0,080 \mu\text{g/g/j}$).

De l'ensemble des résultats expérimentaux et des considérations précédemment exposées, il est donc permis de tirer les conclusions suivantes :

1° La radioactivité accumulée par la voie d'absorption branchiale varie en fonction inverse de la dose de zinc stable ingéré, ceci n'étant que la conséquence de la dilution isotopique du ^{65}Zn provenant de l'eau par le zinc stable provenant de la nourriture, en conditions de régulation homéostatique de la rétention de l'élément.

2° Par voie de conséquence, le taux de rétention à partir de l'eau varie, lui aussi, en fonction inverse de la quantité de zinc ingéré.

3° Le taux de rétention total ($\text{TR}_{\text{tot}} = \text{TRD} + \text{TRI}$) exprimant les besoins physiologiques du poisson en zinc, est soumis à une régulation homéostatique.

4° Le flux d'entrée branchial de zinc est supérieur aux besoins physiologiques, ce qui permet au poisson de satisfaire ces besoins par la seule voie d'absorption directe.

5° Le coefficient de renouvellement (taux de rétention total/teneur totale en zinc = $0,189/60 = 0,3$ p. cent par jour) est très faible correspondant à une demie-vie biologique de 231 jours.

3. DISTRIBUTION DANS L'ORGANISME DU ZINC STABLE ET DU RADIOZINC ACCUMULÉ

Cette distribution a été déterminée sur dix-huit poissons au terme d'un essai d'accumulation directe d'une durée de dix jours, en absence de zinc ajouté à la nourriture synthétique. Pour caractériser cette distribution, les paramètres suivants ont été retenus :

— % Pf = contribution du tissu considéré au poids frais total. Ce paramètre est aléatoire et n'est fourni qu'à titre indicatif étant donné la dessiccation des parties au cours de la dissection.

— % Ps = contribution du tissu considéré au poids sec total.

— $\mu\text{g Zn/g sec}$ = concentration en zinc dans le poids sec.

— % Zn = contribution du tissu considéré au contenu total en zinc.

— $R_1 = \% \text{Zn} / \% \text{Ps}$: ce paramètre exprime la concentration relative des différentes parties en zinc stable. Il est équivalent au paramètre [$\mu\text{g Zn/g sec}$ partie : $\mu\text{g Zn/g sec}$ poisson entier].

— % ^{65}Zn = contribution du tissu considéré à la radioactivité totale accumulée par le poisson.

— $R_2 = \%^{65}\text{Zn} / \% \text{Zn}$: ce paramètre exprime la différence de distribution entre le radiozinc et le zinc stable. Comme, par ailleurs, la radioactivité accumulée est fonction de l'intensité de l'échange, les valeurs du paramètre R_2 expriment la capacité plus ou moins grande d'échange du pool de zinc des différentes parties, les valeurs supérieures à l'unité indiquant que l'échange du zinc par la partie considérée est, par rapport au poisson entier, *relativement* plus intense que ne le laisserait prévoir sa concentration en zinc stable.

— R_3 = activité spécifique *relative* (en p. cent) du tissu considéré par rapport à celle de l'eau utilisée au cours de l'essai (activités spécifiques calculées chacune en dpm/ μg Zn) : ce paramètre exprime la proportion du pool échangeable de zinc de la partie considérée qui s'est échangée au cours de l'essai.

Les valeurs moyennes des paramètres mentionnés (et le cas échéant leur erreur standard) sont reportées au tableau II.

TABLEAU II
DISTRIBUTION DU ZINC STABLE ET DU RADIOZINC
(pour la signification des paramètres, voir texte en 3).

TISSU	% Pf	% Ps	$\mu\text{gZn/g sec}$ $\pm s_m$	% Zn $\pm s_m$	R_1	% ^{65}Zn $\pm s_m$	R_2	R_3 (%)
SANG	1,55	0,91	222 $\pm$ 33	0,55 $\pm$ 0,08	10,60	0,52 $\pm$ 0,08	0,94	1,76
ÉCAILLES	6,11	10,52	133 $\pm$ 5	3,95 $\pm$ 0,19	0,37	4,05 $\pm$ 0,30	1,02	1,73
INT. ANT.	0,52	0,43	4110 $\pm$ 300	4,88 $\pm$ 0,53	11,35	5,18 $\pm$ 1,45	1,06	1,56
INT. POST.	0,49	0,38	3700 $\pm$ 260	3,70 $\pm$ 0,53	9,74	3,70 $\pm$ 0,66	1,00	1,77
CONT. INT. A.	0,51	0,33	2180 $\pm$ 250	2,03 $\pm$ 0,40	6,15	5,07 $\pm$ 2,40	2,50	3,93
CONT. INT. P.	0,55	0,38	1850 $\pm$ 290	1,90 $\pm$ 0,41	5,00	3,64 $\pm$ 1,86	1,91	4,06
FOIE + VES. B.	2,20	1,80	461 $\pm$ 49	2,03 $\pm$ 0,20	1,13	3,35 $\pm$ 0,39	1,65	2,68
REIN	0,73	0,54	759 $\pm$ 71	1,11 $\pm$ 0,09	2,05	1,70 $\pm$ 0,26	1,53	2,54
ORG. INT.	10,62	9,87	844 $\pm$ 76	21,64 $\pm$ 1,28	2,19	20,84 $\pm$ 2,12	0,96	1,62
TETE	19,63	18,38	429 $\pm$ 39	20,02 $\pm$ 1,04	1,09	18,06 $\pm$ 1,16	0,90	1,47
YEUX	2,18	1,25	1590 $\pm$ 110	5,23 $\pm$ 0,28	4,18	2,83 $\pm$ 0,25	0,54	0,87
BRANCHIES	4,26	3,23	826 $\pm$ 96	7,12 $\pm$ 0,52	2,20	8,42 $\pm$ 0,85	1,18	1,89
MUSCLE	38,20	35,92	141 $\pm$ 11	14,24 $\pm$ 1,14	0,40	14,06 $\pm$ 1,25	0,99	1,58
SQUELETTE (+ NAGEOIRES)	10,21	16,04	240 $\pm$ 16	10,66 $\pm$ 0,82	0,66	9,46 $\pm$ 1,19	0,89	1,40
- Parties	100	100	369 $\pm$ 18 $\mu\text{gZn/gfr. poisson entier}$ $= 68,9 \pm 3,5$	100	1,00	100	1,00	1,64 1,62 (p. entier)

Discussion

1° On note (paramètre R_1) une concentration relative très élevée de l'intestin et de son contenu (5 à 11) ainsi que des yeux (4,18), des organes internes (2,19) et des organes d'excrétion (rein et branchies, $R_1 = 2$). La concentration relative est, par contre, faible dans les écailles, le muscle, le sang et le squelette (0,37 à 0,66).

2° La plupart des valeurs de R_2 se situent aux environs de l'unité, ce qui signifie que l'échange du zinc est, pour ces parties, proportionnel à leur concentration respective en zinc. Présentent, par contre, des valeurs supérieures à l'unité le contenu intestinal (1,9 à 2,5) et des organes intervenant dans l'accumulation ou l'excrétion (foie 1,65; reins 1,53; branchies 1,18).

Les yeux (0,54) et, dans une mesure moindre, le squelette (0,89) manifestent la tendance opposée, c'est-à-dire d'un échange relativement moins intense que ne laisserait prévoir la concentration en zinc stable (faible capacité d'échange du pool de zinc).

3° La radioactivité spécifique relative (paramètre R_3) est toujours très faible (1-3 p. cent) sauf pour le contenu intestinal (4-6 p. cent). Ceci indique clairement que tous les organes considérés n'ont échangé qu'une faible proportion de leur pool de zinc et qu'ils sont donc très éloignés de la situation d'équilibre.

4° La distribution de la radioactivité préalablement accumulée ne se modifie pas considérablement au cours de sept jours d'excrétion en milieu non contaminé (données non incluses dans le tableau II). Bien que les différences observées entre le début et la fin de cette période d'excrétion ne soient pas significatives, il semble, cependant, que l'excrétion entraîne une baisse de la radioactivité spécifique du contenu de l'intestin antérieur et du foie (radioactivité spécifique abaissée à quelque 40 et 70 p. cent de sa valeur après la période d'accumulation) et une translocation de radioactivité vers les yeux (radioactivité spécifique augmentée de quelque 75 p. cent).

4. ACCUMULATION INTESTINALE

Dispositif expérimental

L'essai comporte le marquage de différents types de nourriture (nourriture synthétique avec 10 p. cent de gélatine, nourriture à base de Tubifex homogénéisé et additionné de gélatine à raison de 12 p. cent, nourriture à base d'aliment pour truite, voir annexe), distribuée en ration de subsistance sur base calorique identique et après avoir ajusté les concentrations de zinc pour que les doses journalières ingérées de zinc soient comparables.

La radioactivité des poissons a été mesurée aux jours 6 et 10, vingt heures après la distribution du dernier repas radioactif, de manière à limiter la part de radioactivité non digérée du contenu intestinal, en voie d'évacuation par les fèces. Après dix jours d'accumulation, les poissons sont nourris pendant vingt-quatre heures avec la même nourriture expérimentale mais sans traceur, puis, à nouveau, mesurés au jour 11 de manière à obtenir une radioactivité « nette » à considérer comme effectivement accumulée.

Discussion des résultats (tableau III)

1° *Évolution de la radioactivité dans le temps*

La courbe d'accumulation apparaît comme non linéaire, probablement du fait que les données d'accumulation brute incluent des fractions, variables d'une mesure à l'autre, de radioactivité non effectivement accumulée : fraction ingérée mais non digérée et en voie d'élimination par les fèces, fraction d'absorption labile sur la paroi du tube digestif, fraction d'excrétion rapide via le tube digestif d'une fraction de la radioactivité préalablement absorbée. De ce fait, il convient de considérer comme donnée d'accumulation nette la radioactivité obtenue après un jour de « rinçage » (au jour 10 + 1). La perte de radioactivité au cours de ces vingt-quatre heures varie de 10 à 25 p. cent suivant les traitements.

TABLEAU III

COEFFICIENT ET TAUX DE RÉTENTION INTESTINALE
APRÈS DIX JOURS D'ACCUMULATION DE ^{65}Zn

Trait.	Type de nourriture	$\mu\text{g Zn ing./g}_p/\text{j}$	Coeff. rétention % j. 10 + 1	Taux rét. intestinale (TRI) $\mu\text{gZ/g}_p/\text{j}$
1	Tubifex	0,990	$5,3 \pm 0,8$	$0,054 \pm 0,008$
2	Synthétique	0,990	$11,1 \pm 3,0$	$0,109 \pm 0,030$
3	Aliment pour truite	0,395	$7,9 \pm 3,6$	$0,032 \pm 0,015$
4	Synthétique	0,395	$10,2 \pm 1,8$	$0,040 \pm 0,007$

2° A dose journalière égale de zinc ingéré, le *coefficient de rétention* varie suivant le type de nourriture dans le sens d'une rétention plus faible en nourriture naturelle (Tubifex) ou composite (aliment pour truite) qu'en nourriture synthétique (bien que les différences observées soient peu significatives mais varient dans le même sens). On peut conclure que le zinc alimentaire se trouve combiné à des composés organiques qui conditionnent l'absorption intestinale (digestibilité) et/ou l'échange au niveau des organes. Plusieurs auteurs soulignent, dans le bétail, une disponibilité plus ou moins grande du zinc intestinal et la mettent en relation avec la nature du régime alimentaire : indisponibilité du complexe phytate-Ca-Mg-Zn [8, 19], disponibilité augmentée par l'addition de protéinates [20].

3° Le taux de rétention intestinale de zinc stable peut se calculer sur la base des données au jour 10 + 1 en supposant une rétention linéaire en fonction du temps ($\text{TRI} = \text{coefficient de rétention} \times \mu\text{g Zn}_{\text{ing}}/\text{g poisson}/\text{j}$).

On note que le taux de rétention varie en fonction de la dose journalière de zinc ingéré et du type de nourriture, avec un maximum de $0,11 \mu\text{g Zn/g poisson/j}$. Comme le taux de rétention total de zinc est de l'ordre de 0,19 (voir en 2), on voit que les contributions respectives de l'absorption intestinale et de l'absorption branchiale peuvent varier considérablement en fonction du type de nourriture et de leur concentration en zinc.

5. RÉSULTATS SUCCINCTS OBTENUS EN CONDITIONS PARTICULIÈRES

5.1. Effet du jeûne

L'absence de nourriture n'entraîne pas seulement l'annulation de l'accumulation intestinale, mais vient déprimer considérablement l'accumulation directe du radiozinc (à environ 1/5 d'un témoin nourri, en quinze jours de jeûne).

Cet effet dépressif pourrait être la conséquence d'une adaptation du métabolisme du zinc à un apport énergétique réduit ou d'une inhibition passive de la rétention du zinc par suite de l'absence de transporteurs alimentaires. Le fait que le phénomène n'apparaît qu'après une période de plusieurs jours d'adaptation aux conditions expérimentales de jeûne semble appuyer la première hypothèse.

5.2. Effet du type d'eau et de sa concentration en zinc

La comparaison de résultats d'accumulation directe obtenus avec de l'eau du Lac Majeur (zinc total $\approx 0,025$ ppm) et avec de l'eau artificielle de composition minérale identique et à diverses concentrations de zinc ($Zn^{++} \approx 0,031$ et $0,052$ ppm), fournit essentiellement un taux de rétention directe identique pour les trois traitements. Ceci confirme l'existence d'une régulation homéostatique du zinc, tout en indiquant que la forme ionique du zinc peut assurer, à elle seule, les besoins physiologiques du poisson en cet élément.

5.3. Accumulation intestinale en l'absence de zinc dans l'eau

Un essai d'accumulation intestinale à partir d'une nourriture à trois concentrations croissantes en zinc et en conditions de flux continu d'eau artificielle exempte de zinc ($0,01$ ppm dans les aquariums), indique que le taux de rétention intestinale plafonne à une valeur maximale de $0,14$ à $0,17$ $\mu\text{g/g}$ poisson/jour pour une ingestion journalière de $0,96$ à $1,44$ $\mu\text{g Zn/g}$ poisson. Ce plafonnement à une valeur voisine (seulement légèrement plus faible à cause de l'interférence des traces de zinc dans l'eau) du taux de rétention total (voir en 2 ci-dessus : $TR_{\text{tot}} \approx 0,189$) confirme encore une fois l'existence d'une régulation homéostatique de l'élément.

Par ailleurs, une dose journalière ingérée de $0,48$ $\mu\text{g Zn/g}$ poisson fournit un taux de rétention intestinale de $0,10$ $\mu\text{g/g}$ poisson/jour, insuffisant pour combler les exigences physiologiques en zinc si l'apport branchial est lui-même limité par une concentration très faible de zinc dans l'eau. Dans ces conditions d'apport insuffisant de zinc aux tissus, il est probable que le coefficient de rétention intervenant au niveau de l'échange sang/tissus est maximal et que le coefficient de rétention observé soit essentiellement conditionné par l'échange au niveau intestin/sang (digestibilité). En d'autres termes, le coefficient de digestibilité du zinc pour un apport journalier de $0,48$ $\mu\text{g/g}$ poisson/j. dans la nourriture, serait voisin du coefficient de rétention de 21 p. cent observé dans ce traitement.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Une fraction importante du radiozinc absorbé par *Carassius auratus* fait l'objet d'une réexcrétion rapide par les fèces via l'intestin moyen postérieur, avant ou après sa fixation par les tissus.

Ce rôle de l'intestin dans l'excrétion du zinc est prépondérant par rapport à l'excrétion urinaire, parallèlement à ce qu'on trouve chez les mammifères.

Pour éviter d'inclure dans le bilan de l'échange de zinc la part, non préalablement fixée par les tissus, de cette fraction en voie de réexcrétion rapide *via* l'intestin, il convient d'effectuer les comptages du traceur sur les poissons après rinçage, sans traceur, d'une durée de vingt-quatre heures.

2° L'accumulation du radiozinc dans l'organisme entier présente chez *Carassius auratus* une allure linéaire dans le temps sur une période dépassant trente jours. Cette accumulation linéaire indique que le taux de rétention (ou d'échange) de l'élément stable est petit par rapport au pool de l'organisme entier, en d'autres termes que le coefficient de renouvellement (*turnover coefficient*) est faible (de l'ordre de 0,3 p. cent/jour, correspondant à une demi-vie biologique de 231 jours).

Différents auteurs, travaillant notamment sur des poissons de la Columbia River, ont fait état d'une longue demi-vie biologique du Zn, de l'ordre de 135 à 140 jours [13, 26, 27].

Le faible coefficient de renouvellement est indiqué également par un coefficient d'excrétion très faible de la radioactivité, si ce n'est après une phase initiale de vingt-quatre à quarante-huit heures. Cette faible excrétion est mentionnée pour des carpes tenues en étang à basse température [28].

3° Le faible coefficient de renouvellement a pour conséquence que l'on ne peut tirer de conclusion immédiate concernant la situation d'équilibre, de résultats expérimentaux obtenus au cours d'essais de durée limitée. Dans de telles conditions expérimentales, le facteur de concentration du radiozinc reste nécessairement très inférieur au facteur de concentration du zinc stable et la radioactivité spécifique du poisson reste faible par rapport à celle de l'eau. Une observation identique a d'ailleurs été faite pour le poisson marin [6].

Il convient de remarquer que la discordance entre les facteurs de concentration du radiozinc et du zinc stable (ou de la radioactivité spécifique du poisson par rapport à celle de l'eau) apparaît même pour des organes à échange rapide tels que branchies, sang, tube digestif, rein et foie. On est donc amené à supposer l'existence, dans ces organes, d'un pool de zinc stable qui ne s'échange que pour une faible part avec le milieu extérieur et pour une part plus importante avec le milieu intérieur. Une autre hypothèse serait l'existence conjointe, dans ces organes, d'un pool restreint rapidement échangeable et d'un pool plus important, mais peu échangeable, de zinc stable, situation décrite pour un mollusque du genre *Anodonta* [29]. Seul, le contenu du tube digestif moyen et postérieur, prélevé immédiatement après une période d'accumulation (sans phase de rinçage) semble s'équilibrer rapidement avec la radioactivité spécifique du milieu ambiant et pourrait, de ce fait, servir d'indicateur dans la prévision de la radioactivité spécifique du poisson en conditions d'équilibre.

4° Le taux de rétention total de zinc est la somme des deux taux de rétention partiel directe (à partir de l'eau) et intestinale (à partir de la nourriture). A concentration de zinc respectivement de 0,046 et de 20 ppm dans l'eau et dans la nourriture, alors que le taux d'ingestion de zinc alimentaire est, dans ces conditions, supérieur au taux de rétention total, la contribution de l'absorp-

tion directe reste prépondérante par rapport à l'absorption intestinale. A la même concentration de 0,046 ppm de zinc dans l'eau, mais en présence de traces de zinc dans la nourriture (4 ppm), le flux d'entrée branchial de zinc est supérieur au taux de rétention total, ce qui permet au poisson de satisfaire ses besoins physiologiques en zinc par la seule voie d'absorption directe.

Il s'avère, par conséquent, que les branchies jouent chez le poisson un rôle important, aussi bien dans l'absorption de métaux présents à concentrations relativement élevées dans les eaux et intervenant surtout comme éléments de structure de tissus (tels que le calcium dans les tissus osseux [30]) que dans l'absorption de micro-éléments tels que le zinc, intervenant comme catalyseurs dans les mécanismes physiologiques.

Il est clair, cependant, que la contribution de l'absorption directe de zinc peut varier considérablement selon l'espèce. C'est ainsi que les données expérimentales sur le centrarchide *Lepomis gibbosus* [31] qui relèvent une forte diminution de l'accumulation de ^{65}Zn par addition de 16 ppm de zinc stable dans la nourriture, indiquent, chez cette espèce, une contribution prépondérante de l'absorption intestinale du zinc, comparablement à ce qu'on trouve chez la même espèce pour le calcium (données non publiées d'un des auteurs). Des différences spécifiques de perméabilité branchiale pourraient ainsi expliquer que la nourriture est considérée par certains auteurs comme la voie la plus importante de l'absorption du zinc chez les poissons [32, 33] alors que d'autres auteurs accordent une plus grande importance à l'absorption branchiale [34, 35].

5° Le taux de rétention total du zinc fait l'objet chez *Carassius auratus* d'une régulation homéostatique. Cette régulation se manifeste expérimentalement par une relation inverse, par le jeu de la dilution isotopique, entre l'accumulation du radiozinc et l'apport au poisson de zinc stable par une des deux voies d'absorption. L'existence chez les poissons d'une régulation homéostatique du taux de rétention total du zinc implique la constance du pool de zinc des tissus et par conséquent l'absence d'un pool de stockage de l'élément, contrairement à ce qui est observé pour les oiseaux [36] où le squelette constituerait un tissu de stockage du zinc, à concentration variable suivant la disponibilité du zinc alimentaire.

Un examen de la littérature concernant la régulation des échanges de zinc dans différents groupes animaux, fait apparaître que cette régulation revêt des modalités différentes suivant les groupes. Chez le crabe, on observe une teneur constante en zinc bien que l'échange soit proportionnel à la concentration en zinc de l'eau; dans ce cas, la régulation de la teneur en zinc est obtenue par un taux d'excrétion lui-même proportionnel à la concentration en zinc du milieu extérieur [37]. Chez un copépode marin du genre *Euterpina* [38], on observe suivant les concentrations en zinc, une constance de l'échange de l'élément à partir de l'eau ou une constance de la teneur en zinc de l'organisme entier.

Chez le porc, il y a régulation homéostatique de l'échange de zinc en dessous d'une certaine dose de zinc ingéré au-delà de laquelle les mécanismes homéostatiques sont dépassés et où intervient un stockage de zinc dans certains organes non saturés [39]. Un contrôle homéostatique est indiqué éga-

lement chez le poulet [40] ainsi que chez un cyprinide américain en ce qui concerne la rétention à partir de l'eau [35].

Si on peut conclure de l'ensemble des considérations précédentes à l'existence d'une régulation homéostatique de l'échange du zinc chez les poissons, il n'en est pas moins vrai que cette régulation pourrait ne pas être rigoureuse. Elle n'est d'ailleurs mise en évidence dans les essais mentionnés que dans un intervalle « physiologique » de concentration de zinc dans l'eau (0,01 à 0,05 ppm).

L'effet toxique du zinc à concentration relativement faible serait à interpréter comme une conséquence de la rupture des mécanismes régulateurs entraînant une absorption excessive de l'élément par les tissus.

6° Sans préjuger de la présence de différentes formes physico-chimiques du zinc dans l'eau douce, on doit admettre que le zinc sous sa forme cationique (Zn^{++}) intervient dans les processus d'absorption branchiale et peut assurer, à lui seul, les besoins physiologiques du poisson. Il est probable que cette forme cationique soit la forme prépondérante dans l'eau douce utilisée dans nos essais (eau du Lac Majeur à pH 7,0-7,5 [41]), en l'absence de formes organiques chélatées.

7° Le taux de rétention directe du zinc est fortement diminué en conditions de jeûne prolongé (plus d'une semaine), probablement par suite d'une adaptation du métabolisme du zinc à un apport énergétique réduit. Il convient de tenir compte de cette observation dans l'interprétation, à des fins de protection sanitaire, de données d'accumulation du radiozinc qui seraient obtenues sur des poissons non nourris.

IMPLICATIONS RADIOÉCOLOGIQUES

L'expérimentation sur les radionucléides d'intérêt radioécologique comme le ^{65}Zn a, comme objectif fondamental, de permettre des prévisions valables sur les niveaux d'accumulation à escompter en milieu naturel. Il apparaît donc utile, au terme d'une étude sur le métabolisme du zinc stable, de souligner les implications radioécologiques qui en découlent :

1° La régulation homéostatique à laquelle est soumis le métabolisme du zinc implique, comme nous l'avons vu, la constance de la teneur en zinc et du taux de rétention total, indépendamment des apports de l'élément par l'eau ou la nourriture (même si les flux d'entrée et de sortie peuvent varier avec ces mêmes apports). En termes de radionucléide, cette constance entraîne une accumulation de ^{65}Zn qui, pour une radioactivité donnée dans le milieu, est inversement proportionnelle à la teneur en zinc du milieu, de par le mécanisme de la dilution isotopique du radionucléide par l'élément stable.

Une difficulté surgit, cependant, dans la relation énoncée ci-dessus, du fait que le « milieu » concerné est composé de deux compartiments, eau et nourriture, intervenant dans le taux de rétention total, respectivement en fonction des paramètres CAB et CAI (contributions relatives de l'absorption branchiale et de l'absorption intestinale). Il est aisé de démontrer que, dans

la mesure où la radioactivité spécifique de l'eau et de la nourriture (organismes alimentaires) est identique, condition qui apparaît plausible, la radioactivité accumulée n'est, en fait, pas influencée par les quantités respectives de zinc et de radiozinc pénétrant par les deux voies. En effet, en supposant le taux de rétention total $TR_{tot} = 0,20 \mu\text{g/g poisson/jour}$ et $Rs = Rs_e = Rs_n$ (radioactivité spécifique de l'eau et de la nourriture), la radioactivité retenue dans l'hypothèse $CAB = 0,90$ et $CAI = 0,10$, et dans l'hypothèse alternative $CAB = 0,10$ et $CAI = 0,90$ sera respectivement :

$$0,90 \times 0,20 \times Rs_e + 0,10 \times 0,20 \times Rs_n = 0,20 \times Rs$$

et

$$0,10 \times 0,20 \times Rs_e + 0,90 \times 0,20 \times Rs_n = 0,20 \times Rs.$$

On voit donc que, dans le cas d'un élément soumis à régulation homéostatique comme le zinc, le danger de concentration cumulative de la radioactivité par une voie alimentaire qui concentrerait fortement le radionucléide en même temps que l'élément stable, est, en fait, neutralisé par les mécanismes régulateurs eux-mêmes. Ce danger ne subsisterait que dans le cas où la radioactivité spécifique de la nourriture serait supérieure à celle de l'eau.

2° A cause du faible coefficient de renouvellement, la situation d'équilibre de l'accumulation du radiozinc ne peut être obtenue que lors d'un essai de longue durée ou d'un essai où une forte croissance viendrait accélérer l'équilibre de la radioactivité des tissus par rapport à celle du milieu. En l'absence de données expérimentales recueillies dans de telles conditions, on peut, en première approximation, escompter qu'à l'équilibre, la radioactivité spécifique du poisson devient égale à celle de l'eau, ou en termes équivalents, que le facteur de concentration, par rapport à l'eau, du radiozinc devient égal au facteur de concentration du zinc stable, suivant les formules suivantes :

— Égalité des radioactivités spécifiques :

$$\frac{{}^{65}\text{Zn poisson}}{\text{Zn poisson}} = \frac{{}^{65}\text{Zn eau}}{\text{Zn eau}}.$$

— Égalité des facteurs de concentration :

$$\frac{{}^{65}\text{Zn poisson}}{{}^{65}\text{Zn eau}} = \frac{\text{Zn poisson}}{\text{Zn eau}}.$$

3° Pour un poisson en conditions de subsistance (sans croissance), non radioactif, qui serait placé en milieu contaminé en ${}^{65}\text{Zn}$ (dans le cas d'un accident nucléaire par exemple) de radioactivité initiale Rs_0 , diminuant seulement par décroissance physique, l'évolution de la radioactivité spécifique (pour un échange suivant la relation $dy/y = -kdt$), est donnée par la formule :

$$Rs_p = Rs_0 e^{-kt} (1 - e^{-kt}),$$

où λ représente la constante de décroissance physique et k le coefficient de renouvellement du zinc stable, défini par le rapport entre le taux de rétention total du zinc et la teneur totale du poisson en zinc.

Pour $k = 0,003/\text{jour}$, Rs_p atteint environ $1/4$ de Rs_0 en 231 jours par effet compensateur de l'accumulation biologique (demi-vie biologique : 231 jours) et de la décroissance physique (demi-vie physique : 245 jours).

4° De manière analogue, la radioactivité spécifique résiduelle d'un poisson placé en conditions de décontamination, est donnée par la formule :

$$\text{Rs}_p \text{ rés.} = \text{Rs}_{p0} e^{-(\lambda+k)t},$$

où Rs_{p0} = radioactivité spécifique du poisson au départ. Pour $k = 0,003/\text{jour}$, la radioactivité spécifique résiduelle serait abaissée à environ $1/4$ de Rs_{p0} en 231 jours, par effet cumulatif de la décroissance biologique (excrétion) et de la décroissance physique.

5° Toutes les considérations précédentes n'ont de valeur qu'à des concentrations « physiologiques » de zinc dans le milieu, c'est-à-dire à des concentrations qui n'exercent aucun effet perturbateur sur les fonctions physiologiques normales. Il est certain, en effet, que la fonction branchiale est perturbée à des teneurs encore faibles de zinc, ce qui devrait entraîner une modification considérable des processus d'accumulation du radiozinc.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment à M^{lle} Verheyden et à MM. Mertens et Pozzi leurs vifs remerciements pour le bienveillant concours qu'ils ont prêté dans la réalisation d'une certaine partie du travail expérimental, ainsi qu'à MM. Falciola et Oregioni pour leur précieuse assistance technique.

ANNEXE

PRÉPARATION DE LA NOURRITURE SYNTHÉTIQUE

Il s'agit d'une formule à base de gélatine, dextrine et caséine, semblable à celle décrite par Wolf [42].

On prépare préalablement les mélanges minéraux et vitaminiques suivants :

Mélange minéral A. 1,812 g KH_2PO_4 + 0,385 g K_2SO_4 + 0,155 g NaCl + 0,089 g $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 1,093 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 5,502 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Mélange minéral B. 75 mg $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ + 10 mg CuCl + 90 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 15 mg KI + 183 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 906 mg $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. Dissoudre dans volume final de 100 cm^3 .

Mélange vitaminique A. Chlorure de choline 500 mg + inositol 200 mg + acide ascorbique 100 mg + niacine 75 mg + pantothénate de calcium 50 mg + riboflavine 20 mg + thiamine (HCl) 5 mg + pyridoxine (HCl) 5 mg.

Mélange vitaminique B. Acide folique 15 mg + biotine 0,5 mg + vitamine B 12 0,01 mg. Dissoudre dans quelques centimètres cubes d'eau.

Mélange vitaminique C. Ménadione 4 mg + acétate d' α tocophérol 40 mg (en poudre ou en solution alcoolique) + β carotène 2 mg. Dissoudre dans 7 g d'huile de maïs et 2 g d'huile de foie de morue. Ajouter 0,05 cm³ d'une solution 7-déhydrocholestérol dans l'huile de maïs 1 p. cent.

MODE DE PRÉPARATION

— *Nourriture de stock* 12 g de gélatine sont dissous dans ≈ 70 cm³ d'eau chauffée lentement au bain-marie jusqu'à 80°C. Retirer du bain et ajouter successivement 28 g de dextrine, 38 g de caséine, le mélange minéral A, 4 cm³ du mélange minéral B, 8 g de cellulose, en réchauffant si nécessaire pour maintenir une température d'environ 50°C. Finalement, quand la température s'est abaissée à 30-40°C, ajouter les mélanges vitaminiques A, B et C. Porter à poids total de $(300 \times F)$ grammes (F voisin de 0,5).

— *Nourriture finale.* Prélever $(F \times n)$ grammes de la nourriture de stock et porter à n grammes en ajustant la concentration en zinc (avec solution 1 000 ppm Zn sous forme de sulfate). Verser la nourriture en plaques rectangulaires de 6 g, laisser durcir à froid et couper en petits cubes égaux.

Préparation de la nourriture composite (à base de nourriture pour l'élevage de truite, firme SOIMA, Italie, sous licence Sterling H. Nelson, U.S.A.).

20 g de nourriture pour truite + 7 g de gélatine, portés à chaud au bain-marie à 100 g et versés dans des plaques de 6 g.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ICHIKAWA R. On the concentration factors of some important radionuclides in the marine food organisms. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.*, 1961, **27**, 66-74.
- [2] HARVEY R. S. Uptake of radionuclides by freshwater algae and fish. DPSPU-63-30-3, 1963, 11 p.
- [3] BRUNGS W. A. Chronic toxicity of zinc to the fathead minnow. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1969, **98**, 272-279.
- [4] MERLINI M., BERG A., GAGLIONE G., RAVERA O. Lo studio degli elementi stabili e radioattivi in due ecosistemi acquatici (Novellino, Lago Maggiore). *G. Fis. Sanit. e Prot. Radiaz.*, 1967, **11**, 156-158.
- [5] MERLINI M., BIGLIOCCA C., BERG A., POZZI G. Trends in the concentration of heavy metals in organisms of a mesotrophic lake as determined by activation analysis. In : Nuclear techniques in environmental pollution, Salzburg, 26-30 octobre 1970. IAEA, Vienna, 1971, 447-458.

- [6] K KAMEDA., SHIMIZU M., HIYAMA Y. On the uptake of ^{65}Zn and the concentration factor of zinc in marine organisms. I. Uptake of ^{65}Zn in marine organisms. *J. Radiation Res.*, 1968, **9**, 50-62.
- [7] BERTRAND G., BENSON B. Recherches sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux. Expériences sur la souris. *C. R. Acad. Sc.*, 1922, **175**, 289.
- [8] SELZE J.-C. Le zinc dans l'alimentation animale. *Thèse*, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1971, 79 p.
- [9] EPPLE A. The endocrine pancreas. In : *Fish physiology* (Hoar and Randall, Eds.) Academic Press, New York and London, 1969, vol. 2, 275-319.
- [10] WILBER C. G. *The biological aspects of water pollution*. Ch. C. Thomas, Springfield, 1969.
- [11] MAETZ J. Recherches sur la perméabilité aux électrolytes de la branchie des poissons et sa régulation endocrinienne. *Bull. Inform. Scient. Techn. CEA*, 1964, **86**, 1-60.
- [12] NAKATANI R. E., LIU D. H. W. Distribution and retention of ^{65}Zn in trout, HW-80500, 1964, 109-112.
- [13] RENFRO W. C., OSTERBERG C. Radiozinc decline in starry flounders after temporary shutdown of Hanford reactors. 2nd *National symposium on radioecology*, Ann Arbor, May 1967 CONF-670503, 1969, 372-379.
- [14] POTTS W. T. W., FOSTER M. A., RUDY P. P., HOWELLS G. P. Sodium and water balance in the cichlid teleost, *Tilapia mossambica*. *J. Exp. Biol.*, 1967, **47**, 461-470.
- [15] KHRISTOV Kh. D. Behaviour of ^{65}Zn in the rat body. In : *Toxicology of Radioactive Substances* (Letavet A. A., Kurlyandskaya E. B., Eds) (Engl. Transl.) Oxford, Pergamon press, 1970, **5**, 12-34.
- [16] CRAGLE R. G., MILLER J. K., CHANDLER P. T. Gastrointestinal sites of absorption and secretion of Ca, P, Zn and I in dairy cattle. In : *Radioisotopes in animal nutrition and physiology*, IAEA, Vienna, 1965, 499-515.
- [17] BESANÇON P., GUEGUEN L. Les principales voies du métabolisme calcique chez le porc en croissance. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 1969, **9**, 537-553.
- [18] BERNHARD M. Studies on the radioactive contamination of the sea, Annual Report 1971. Association EURATOM-CNEN, Fiascherino, EUR 4865 e, 1972, 162 p.
- [19] LEASE J. G. Effect of a soluble fraction of oil seed meals on uptake of ^{65}Zn from Ca, Mg, ^{65}Zn phytate complexes by the chick. *J. Nutr.*, 1968, **96**, 126-138.
- [20] CUPLIN P. Performance evaluation of chelated minerals in Idaho open-formula diets. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1969, **98**, 772-776.
- [21] SUSO F. A., EDWARDS H. M. Binding of EDTA, histidine and acetylsalicylic acid to zinc-protein complex in intestinal content, intestinal mucosa and blood plasma. *Nature*, 1972, **236**, 230-232.
- [22] KYKER G. C. Rare earths. In : *Mineral metabolism* (Comar and Bronner, Eds.) Academic Press, London and New York, 1962, **2 B**, 499-541.
- [23] RUBIN M. The biological implications of alkaline earth chelation. In : *The transfer of calcium and strontium across biological membranes* (Wassermann, Ed.) Academic press, New York, 1963, 25-46.
- [24] BRONNER F. Dynamics and function of calcium. In : *Mineral metabolism*. (Comar and Bronner, Eds.) Academic Press, London, 1964, **2 A**, 341-444.
- [25] BERG A. Studies on the metabolism of calcium and strontium in freshwater fish. III — Effect of EDTA as a chelating agent on the exchange of calcium and strontium from water. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 1970, **26**, 257-267.

- [26] NAKATANI R. E., LIU D. H. W., CLARKE W. J. Effect of chronic ingestion of ^{65}Zn in trout. BNWL-122, 1965, 101-106.
- [27] BAPTIST J. P., HOSS D. E., LEWIS C. W. Retentions of ^{51}Cr , ^{59}Fe , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{95}Nb , ^{141}In and ^{131}I by Atlantic croaker (*Micropogon undulatus*). *Health Physics*, 1970, 18, 141-148.
- [28] BRUNGS W. A. The relative distribution of multiple radionuclides in a fresh-water pond. *Dissert. Abstr.*, 1969, 24, 3023.
- [29] HARRISON F. L. Accumulation and distribution of ^{54}Mn and ^{65}Zn in freshwater clams, 2nd National Symposium on radioecology, Ann Arbor, May 1967. (CONF-670503), 1969, 198-220.
- [30] BERG A. Studies on the metabolism of calcium and strontium in freshwater fish. I. — Relative contribution of direct and intestinal absorption. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 1968, 23, 161-196.
- [31] MERLINI M., ARGENTESI F., BERG A., BRAZZELLI A., OREGIONI B., POZZI G. The biological pathway of zinc (^{65}Zn) in freshwater fish and its alteration by heavy metals. In : *Proc. 3rd National Symposium on Radioecology*, Oak Ridge, May 1971 (CONF-710501-Pt 1), 1973, 285-306.
- [32] HOSS D. E. Accumulation of zinc-65 by flounder of the genus *Paralichthys*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1964, 93, 364-368.
- [33] BAPTIST J. P., LEWIS C. W. Transfer of ^{65}Zn and ^{51}Cr through an estuarine food chain 2nd National Symposium on radioecology, Ann Arbor, May 1967 (CONF-670503), 1969, 420-430.
- [34] SAHEKI S. R., YASUMOTO R., MORI K. Studies on nuclear species in contaminated fish and their movement in the body of the fish. *Proc. 2nd Japan Conference on radioisotopes*, Tokyo, 1958, 1560-1597.
- [35] LIPKE E. J. Effects of environmental parameters on the uptake of radioisotopes in freshwater fish. Univ. of Michigan, Univ. Micro-films Order n° 71-23807, 1971, 130 p.
- [36] CURNOW R. D. A literature review of ^{65}Zn in birds with special reference to the mallard. COO-1744-1, 1968, 15 p.
- [37] BRYAN G. W. The metabolism of Zn and ^{65}Zn in crabs, lobsters and freshwater crayfish. *Proc. Int. Symp. on Radioecological concentration processes*, Stockholm, 1966, Pergamon Press, New York, 1967, 1005-1016.
- [38] NASSOGNE A. The role of the first heterotrophic levels (zooplankton) in the accumulation and transfer of radionuclides relevant to marine radiocontamination. Annual Report 1972, EUR 4864 d-e-f-i-n, 1973, 129-130.
- [39] PEKAS J. C. ^{65}Zn metabolism : effect of continuous infusion of high levels of stable zinc in swine. *J. Anim. Sci.*, 1968, 27, 1559-1566.
- [40] SUSO F. A., EDWARDS H. M. Whole-body counter studies on the absorption of ^{60}Co , ^{59}Fe , ^{54}Mn and ^{65}Zn by chicks, as affected by their dietary levels and other supplemental divalent elements. *Poultry Sci.*, 1969, 48, 933-938.
- [41] BAUDOUIN M. F., SCOPPA P. Calculated distribution of the chemical species of copper, zinc, cadmium and lead in 16 lakes of Northern Italy. EUR-5052 e, 1974.
- [42] WOLF L. E. Diet experiments with trout, *Progr. Fish. Cult.*, 1951, 13, 17.