Recherches expérimentales sur la toxicité aiguë des rejets de phosphogypse sur quelques organismes benthiques marins

par

Bouraoui DARMOUL* et Pierre VITTELLO**

خلاصة

وسط حرارته من 16 الى 18 س ، مرتفع نوعا ما حيث ينحصر بين 24 و43 غ/ل ﻠﺪﺓ 48 ﺳﺎﻋﺔ ﻭﺑﻴﻦ 14 و28 غ : ﻟﺪﺓ 96 ﺳﺎﻋﺔ .

الا أن عامل « CMM » كان أضعف مرتين (من 11 الى 20 غ /ل لدة 48 ساعة ومن 9 الى 14 غ/ل لمدة 96 ساعة) .

وأثبتت محاولة ترتيب الحيوانات التي أستعملت في هذه التجارب حسب درجة حسابتها ان هذا الترتيب لا يكون ذا قيمة الا اذا وقع <mark>الاخذ بعين الاعتبار</mark> لكل من العوامل الثلاثة « CL 50 » ، « CMM » ي« CL 90 » وكان لارتفاع حرارة الوسط التجريبي من 16 ــ 18 س الى 25 س ان تضاعفت سمية الفسف حيس بمرتين .

RESUME

La toxicité à court terme (CL 50) du phosphogypse se manifeste, à 16-18" C, par des concentrations assez élevées (24 à 43 g/l pour 48 h; 14 à 28 g/l pour 96 h) qui, à l'époque de l'étude (1977, 1978), ne peuvent se rencontrer qu'à proximité immédiate des rejets.

Les premières mortalités se manifestent cependant à des concentrations (CMM) environ deux

fois plus faibles (11 à 20 g/lpour 48 h; 9 à 14 g/l pour 96 h).

Selon la CL 50 (48 h), la sensibilité des organismes testés décroît selon l'ordre suivant : Sphaeroma serratum, Mytilus galloprovincialis, Cymodoce truncata, Nassa corniculum, Venerupis decussatus : mais cette échelle différe pour 96 heures et seule la considération simultanée des CL 50, CMM et CL 90 permet de préciser la sensibilité des différentes espèces.

L'élévation de température augmente la toxicité qui, de 16-18" C à 25" C, est doublée.

Chez la moule, la toxicité est plus forte chez les jeunes individus (24 à 29 mm) que chez les plus grands (60 à 70 mm).

^{*} Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, 2025 Salammbô,

^{**} Laboratoire d'océanographie, Campus Universitaire de Luminy, 13009 Marseille, France.

Short term toxicity of phosphogypsum (LC 50), at 16-18° C, comes out by rather high concentrations (24 to 43 g/1 during 48 hours and 14 to 28 g/1 at 96 hours). Such a concentrations are met, in the course of the study period (1977-1978), immédiately close to the discharge zone.

However, the first mortality appears at concentrations about two times lower (from 11 to 20 g/1

during 48 hours and 9 to 14 g/l during 96 hours).

According to the LC 50 (48 h), the tested organisms sensitiveness decreases in this order: Sphaeroma serratum, Mytilus galloprovincialis, Cymodoce truncata, Nassa corniculum, Venerupis decussatus: but this decreasing scale is different at 96 hours and only the simultaneous consideration of LC 50, CMM and LC 90 permits to specify the different species sensitiveness.

The toxicity of phosphogy psum is doubled when temperature incerases from 16-18" C to 25" C. Among the mussel, the toxicity is greater among the young (24 to 29 mm) tham the older (60 - 70

mm) individuals.

1. INTRODUCTION

Les industries chimiques installées à Gabès, et plus particulièrement celles traitant le minerai de phosphate pour la fabrication d'engrais et d'acide phosphorique (I.C. M. ou Industries chimiques maghrebines), pourraient poser pour l'environnement marin quelques problèmes de pollution. Les produits polluants déversés en mer, résidus de phosphogypse, eaux acides de lavage et eaux de refroidissement, ont provoqué par leur action combinée une altération du milieu tant sur le plan physico-chimique que sur le plan biologique (Darmoul et al., 1978). La multiplicité des rejets rend difficile la détermination de la part de responsabilité de chacun d'eux puisqu'ils agissent en synergie. L'importance des quantités de phosphogypse rejetées annuellement en mer (1 550 000 tonnes) et dont l'augmentation est prévisible après l'achèvement, en 1979, de nouvelles usines (SEPA ou Société d'engrais phosphatés et azotés) nous a amené à étudier la toxicité aiguë du phosphogypse, produit de composition très complexe.

2. METHODOLOGIE

Cette étude a porté sur la détermination des CL 50 (48 h) et (96 h) selon le protocole adopté par Stora (1972) et par Darmoul et Vitiello (1979).

2.1. Animaux utilisés

Les premières expériences ont été réalisées en mars 1977 sur deux espèces provenant de la lagune de Tunis, le Crustacé Isopode Sphaeroma serrațum Fabricius et le Mollusque Gastéropode Nassa corniculum Olivi. Les résultats obtenus nous ont incité à poursuivre l'expérimentation sur d'autres populations. C'est ainsi qu'ont été utilisés comme tests, en mars et avril 1978, des animaux du lac de Bizerte: l'Isopode Cymodoce truncata Montagu, le Gastéropode Nassa corniculum Olivi, espèces récoltées en abondance dans les paniers en filets servant à l'élevage des moules, et deux Mollusques bivalves d'élevage. Myilus galloprocincialis Lamarck et Venerupis decussatus Linné.

Ces animaux constituent un bon matériel pour des essais toxicologiques : leur abondance et la facilité de leur récolte permettent de disposer d'un grand nombre d'individus, condition indispensable pour la réalisation de batteries de tests ; par ailleurs, il est facile de les observer, de les manipuler et de

constater la mortalité.

2.2. Polluant testé

Le phosphogypse rejeté par l'usine ICM de Gabès est un mélange constitué essentiellement de gypse (Ca SO4, 2 H2O) contenant diverses combinaisons du phosphore ainsi que les impuretés des minerais de phosphate traité. Parmi ces dernières citons le fluor, les matières organiques et les métaux à l'état de traces tels que fer, chrome et arsenic libérés dans l'eau après dissolution partielle du phosphogypse. Andrén et Hadj Ali Salem, (1978) donnent la composition suivante (en g/l) de la bouillie gypseuse :

P₂O₅: 1,50 Ca O: 1,63 Mg O: 0,20 Si O₂: 1,95 F: 4,57 SO₃: 2,65 Cl: 1,55 Fe₂O₃: 0.03

Matières organiques : indéterminées

PH: 2,5

Le polluant utilisé a été préalablement séché pendant 24 heures à 60° C. Dans l'eau de mer, il se dissocie en deux parties : une partie soluble (25 % environ de la quantitié totale) et une partie insoluble (75 % environ). Les solutions testées ont de très fortes concentrations en fluor et présentent un caractère acide très marqué (tabl. 1).

TABLEAU 1

PH et teneurs en fluor dans les solutions testées

Phosphogypse (g/l)	PН	Fluor (mg/1F)
40	3,65	66
35	3,65	64
30	4,95	58
25	5,15	50
20	5,60	41,5
15	6,20	29,5
10	6,30	16
5	6,70	8,6
2,5	7,10	6
1,25	7,80	2,8
0	8,20	0,9

2.3. Protocole expérimental

Les animaux récoltés sont acclimatés à la température de la salle d'expérimentation, pendant 72 heures, dans des bacs d'eau de mer; celle-ci est aérée

et, chaque jour, renouvelée.

Les tests sont réalisés dans des cristallisoirs en verre contenant chacun un litre d'eau de mer additionné de l'une des quantités suivantes de phosphogypse: 40-35-30-25-20-15-10-5-2,5 et 1,25 g. Un lot d'animaux témoins est laissé dans de l'eau de mer pure.

Chaque test porte sur 20 individus de taille homogène et, pour chaque espèce, deux séries de tests sont réalisées simultanément dans le but de vérifier la reproductibilité des résultats. Le taux d'oxygène dissous est maintenu proche de la saturation grâce à une aération douce et continue et les animaux sont privés de nourriture. Les mortalités sont enregistrées au bout de 24, 48, 72 et 96 heures et les animaux morts sont enlevés au fur et à mesure afin d'éviter un autoempoisonnement du milieu.

Les expériences ont été réalisées dans une pièce non thermostatée; la température a varié légèrement aux environs de 18°C, pour les tests de mars 1977 et de 16°C, pour ceux de mars et avril 1978. Etant donné que la température est relativement élevée dans la région de Gabès (Ktari-Chakroun et Azouz, (1971) indiquent un minimum de 13,2°C en hiver et un maximum de 27,6°C en été), l'influence de ce facteur sur l'expérimentation et sur la toxicité du phosphogypse a été en siagée en réalisant, à une température de 25°C (août, 1978), quelques tests sur les bivalves Mytilus galloprovincialis et Venerupis decussatus.

Nous avons en outre essayé de préciser la variation de la toxicité aiguë en fonction de la taille des organismes en testant, chez *Mytilus galloprovincialis*, deux classes de taille : 24-29 mm et 60-70 mm, à la température de 16°C.

3. TOXICITE DU PHOSPHOGYPSE

L'examen des données brutes de l'expérimentation (annexe) permet de relever des écarts de mortalité importants entre deux concentrations successives, ce qui se traduit par une forte baisse de l'action du produit polluant sur les animaux tests pour une légère diminution de sa concentration. Les espèces tests présentent donc, à ces niveaux, des seuils de sensibilité.

Les résultats fournis par les deux séries d'expérimentation sont concordants, les écarts de mortalité observés (de 0 à 2 morts), correspondant le plus souvent à seulement 0 à 5 % des 40 animaux testés pour une concentration donnée; des écarts de mortalité de 3 morts s'observent plus rarement et un écart de 4 morts, soit 10 %, a été enregistré une seule fois pour les *Nassa* du lac de Tunis.

3.1. Calcul de la CL 50

Les CL 50 sont déterminées directement à partir des données expérimentales ainsi que par la méthode de Bliss (1935, 1938). Cette méthode, très précise, permet un calcul statistique et une détermination graphique ; surtout utilisée en écotoxicologie sur des animaux terrestres, elle a été également employée pour les organismes marins, notamment par Chevallier et Pairin (1968), Stora (1972, 1975). Cette technique, basée sur une variation linéaire des Probits de mortalité en fonction des logarithmes des concentrations utilisées, consiste à établir une droite de régression et à en calculer l'équation ce qui permet d'obtenir la valeur de la CL 50 ; la linéarité de la droite et l'homogénéité de la population étant vérifiées par le test X 2.

Les CL 50 obtenues (tabl. 2) sont assez élevées, elles sont comprises pour 48 heures entre 20 et 40 g/1 et pour 96 heures entre 10 et 30 g/1. Pautsch et al., (1975), testant le phosphogypse rejeté par des usines polonaises dans la baie de Gdansk en mer Baltique, indiquent des concentrations létales (pour des durées allant de quelques heures à 72 heures) plus faibles puisque variant, selon les espèces tests (Nereis diversicolor, Gammarus sp., Crangon crangon,

Rhithropanopeus harrisi, Mytilus edulis, Embletonia pallida, Platychthis flesus,

Gasterosteus aculeatus), de 2,5 g/1 à 15 g/1.

L'intervalle des concentrations dans lequel se situe la CL 50 est variable suivant les espèces-tests et aussi suivant la taille, pour le bivalve *Mytilus*. Il est ainsi possible d'établir un ordre de sensibilité pour les animaux tests.

TABLEAU 2 Valeurs des CL 50 suivant les différentes méthodes

Méthode	Expérin	nentale	Statis de E		Graph de B	
Espèce	CL 50 48 h	CL 50 96 h	CL 50 48 h	CL 50 96 h	CL 50 48 h	CL 50 96 h
Sphaeroma serratum	25	20 à 25	24,7917 ± 0,0231	19,9017 ± 0,0339	24,5470	19,7242
Cymodoce truncata	30	20 à 25	30,5448 ± 0,0355	21,4533 ± 0,0370	30,9029	21,6770
Nassa corniculum (Tunis)	35 à 40	15 à 20	34,9851 ± 0,0715	14,5034 ± 0,0443	34,9945	14,6217
Nassa corniculum (Bizerte)	35 à 40	10 à 15	35,9474 ± 0,0803	14,0768 ± 0,0465	37,1535	14,1253
Venerupis decussatus	35 à 40	30	43,2009 ± 0,1000	28,4657 ± 0,0486	43,6515	26,9153
Mytilus galloprovincialis 24-29 mm	20 à 25	15 à 20	26,1783 ± 0,0564	16,3629 ± 0,0455	26,4240	16,2181
60-70 mm	25 à 30	25	30,4568 ± 0,0558	23,1617 ± 0,0477	30,7609	22,9086

La comparaison entre la méthode expérimentale et la méthode de Bliss permet de constater que les CL 50 calculées ou graphiques sont très proches des CL 50 expérimentales ou situées dans leur intervalle de concentrations mais sont beaucoup plus précises. Ainsi, les *Cymodoce* présentent en 48 heures une CL 50 expérimentale de 30 g/1; la méthode de Bliss donne une CL 50 calculée de 30,54 g/1 et une CL 50 graphique de 30,90 g/1; en 96 heures on obtient respectivement 20-25 g/1 par la méthode expérimentale, 21,45 g/1 et 21,67 g/1 par les méthodes statistique et graphique de Bliss. De même, pour les *Nassa* du lac de Bizerte, la CL 50 (48 h) obtenue expérimentalement est de 35-40 g/1; les CL 50 calculée et graphique de Bliss sont respectivement de 35,94 g/1 et de 37,15 g/1; en 96 heures, on note une CL 50

expérimentale de 10-15 g/l, une CL 50 calculée de 14,07 g/l et une CL 50 graphique de 14,12 g/l. Cette concordance entre les différents types de données est aussi constatée pour les CL 50 (48 h) des *Sphaeroma* et les CL 50 (96 h) des jeunes moules (24-29 mm).

Cette constatation n'est pas générale, car les CL 50 calculées ou déterminées graphiquement suivant la méthode de Bliss se trouvent parfois en dehors de l'intervalle donné par l'expérimentation; ainsi pour *Sphaeroma*, les CL 50 (96 h), statistique et graphique, sont respectivement de 19,90 g/let de 19,72 g/l alors que la CL 50 expérimentale est comprise entre 20 et 25 g/l. Ces différences s'observent aussi, en 48 heures et 96 heures, pour les *Mytilus* (60-70 mm), les *Venerupis* et les *Nassa* du lac de Tunis et en 48 heures, pour les jeunes *Mytilus* (24-29 mm). Quoique situées parfois en dehors de l'intervalle des CL 50 expérimentales, les CL 50 de Bliss demeurent très proches des concentrations limites de cet intervalle. Toutefois, un écart important entre les données expérimentales et le calcul, a été constaté pour les *Venerupis* qui présentent en 48 heures une CL 50 expérimentale de 35 à 40 g/l, les CL 50 statistique et graphique étant respectivement de 43,20 g/let de 43,65 g/l. Un autre écart de moindre importance est à signaler, en 96 heures, pour les *Venerupis* et les *Mytilus* (60-70 mm).

D'autre part, les CL 50 déterminées par lecture directe sur les droites provisoires sont, très proches ou équivalentes aux CL 50 calculées; ainsi, 81 % des CL 50 calculées et graphiques présentent une différence comprise entre 0 et 0,50 g/1; pour les autres cas, la différence est de 1 à 1,50 g/l.

Nos résultats confirment les conclusions tirées par Stora (1972). En effet, les données expérimentales permettent seulement de situer les CL 50 dans un intervalle de concentrations ; la délimitation de cet intervalle ne correspond pas toujours à la CL 50 véritable, car cette méthode ne tient pas compte de toutes les mortalités obtenues et ne fait intervenir qu'une ou deux concentrations. La méthode de Bliss tenant compte de toutes les mortalités pour toutes les concentrations testées permet de connaître avec plus de précision les CL 50. Remarquons, d'autre part, que la méthode graphique donne des résultats très proches de ceux fournis par le calcul statistique de Bliss et qu'elle présente en outre l'avantage d'être très rapide.

3.2. Calcul de la CMM et de la CL 90

Stora (1975) souligne que, si la CL 50 permet de caractériser l'action d'un produit poliuant sur une espèce-test, sa seule connaissance n'est pas suffisante pour comparer la toxicité de plusieurs produits. La recherche des concentrations létales limites, telles que la concentration minimale mortelle (CMM) ou concentration la plus faible provoquant la mort du premier individu et la CL 90 ou concentration provoquant la mort de 90 % des individus, apporte une meilleure précision.

La CMM et la CL 90 sont difficiles à déterminer expérimentalement, la faiblesse ou la résistance particulière de quelques individus ne permettant pas d'en avoir une idée véritable. La méthode de Bliss est bien adaptée à cette recherche et c'est là l'un des intérêts de son emploi. D'autre part, la CL 90 a été choisie car elle est proche de la CL 100 ou concentration provoquant la mort de 100 % des individus, cette dernière ne pouvant être calculée par la méthode de Bliss.

Désirant comparer la sensibilité de plusieurs espèces tests vis-à-vis du phosphogypse, nous avons calculé, en plus de la CL 50, la CMM et la CL 90.

Le calcul se fait comme pour la CL 50 mais en remplaçant, dans l'équation donnant la valeur de la concentration létale, y = 5 correspond à 50 % de morts par les probits y = 6,2816 et y = 3,3551 correspondant respectivement aux mortalités de 90 % et de 5 %.

Le tableau 3 indique les CMM et les CL 90 (48 h) et (96 h) calculées pour toutes les espèces-tests.

TABLEAU 3

CMM et CL 90 calculées en 48 heures et 96 heures pour les différentes espèces tests

P. C. C.		CN	1M	CL 90		
Espèce		48 h	96 h	48 h	96 h	
Sphaeroma serratum		20,2339	14,2261	29,0434	25,8519	
Cymodoce truncata		19,1233	13,9285	43,9388	30,0365	
Nassa corniculum (Tunis)		14,6830	9,5931	68,8057	20,0143	
Nassa corniculum (Bizerte)		14,1123	9,0250	74,4770	19,9030	
Venerupis decussatus		19,2031	13,9240	81,2538	49,6923	
Mytilus galloprovincialis		1				
	24-29 mm	10,7645	9,4843	52,3173	25,0183	
	60-70 mm	13,6406	11,3486	56,9491	40,3802	

Exception faite pour les *Sphaeroma*, nous remarquons que la CL 90 (48 h) n'est jamais atteinte à 40 g/l. Les *Nassa* du lac de Tunis et du lac de Bizerte ont respectivement une CL 90 (48 h) de 68,80 et de 74,47 g/l. Pour les *Venerupis*, cette CL 90 se situe à 81,25 g/l.

L'importance du facteur temps est très nette pour ces CL 90 puisqu'on constate qu'en augmentant la durée d'exposition au phosphogypse, ce sont des concentrations plus faibles qui provoquent une mortalité massive. Ainsi, au bout de 96 h, la CL 90 pour les *Nassa* subit une baisse importante puisqu'elle descend de 68,8 — 74,4 g/1à 20 g/1. Seuls les *Venerupis* avec une CL 90 (96 h) supérieure à 40 g/1 présentent une résistance importante.

Quant à la CMM, elle varie suivant les espèces de 10,76 à 20,23 g/l en 48 heures et de 9,02 à 14,22 g/l en 96 heures.

3.3. Comparaison de la sensibilité des espèces-tests vis-à-vis du phosphogypse

3.3.1. COMPARAISON DES CL 50 (48 H) ET (96 H)

Une première analyse des résultats obtenus permet de constater la variabilité des CL 50 (48 h) et (96 h) en fonction des espèces-tests, variabilité qui traduit une différence de sensibilité des animaux mis en expérience vis-à-vis du phosphogypse.

La figure 1 permet, si l'on ne tient pas compte des légères différences de température des milieux expérimentaux, de comparer la résistance des animaux tests, ces derniers étant classés en fonction des valeurs de leurs CL 50 (48 h). L'examen de ce diagramme fait ressortir la forte résistance du Mollusque *Venerupis decussatus* qui présente, d'après la méthode statistique de Bliss,

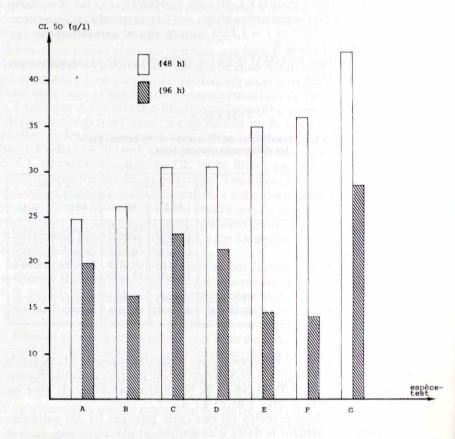


Fig. 1: CL 50 des différentes espèces tests classées suivant leurs valeurs obtenus en 48 heures

A: Sphaeroma serratum; B: Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); C: Mytilus galloprovincialis (60-70 mm); D: Cymodoce truncata; E: Nassa corniculum (lac de Tunis); F: Nassa corniculum (lac de Bizerte); G: Venerupis decussatus.

une CL 50 (48 h) de 43,20 g/l et une CL 50 (96 h) de 28,46 g/l. En effet la CL 50 (48 h) n'est pas atteinte à la dose de 40 g/l, et, même au bout de 96 h, aucune concentration ne cause la mortalité de 100 % des animaux. Ainsi ce Pélécypode se révèle être l'animal le plus résistant par rapport à l'ensemble

des espèces-tests.

Pour le Mollusque Gastéropode Nassa corniculum, les CL 50 des individus prélevés dans le lac de Tunis et de ceux provenant du lac de Bizerte sont assez proches. En 48 heures, ce Gastéropode, avec une CL 50 de l'ordre de 35-36 g/l occupe, au point de vue résistance, la seconde place après les Venerupis, mais en 96 h, sa CL 50 décroît fortement (environ 14 g/l) ce qui correspond à une forte diminution de sa résistance. En effet, cet animal possède la faculté de s'isoler d'un milieu hostile et de se réfugier à l'intérieur de sa coquille pendant une période plus ou moins longue. De ce fait, la concentration de phosphogypse nécessaire pour tuer 50 % de la population en 48 heures est élevée. Avec la prolongation de la durée du test, l'animal finit par se mettre en contact avec le polluant et les mortalités deviennent nombreuses; ainsi la CL 50, au bout de 96 heures, diminue très fortement.

Le Crustacé Isopode Cymodoce truncata prélevé dans le lac de Bizerte s'est montré en 48 h plus résistant que les Sphaeroma du lac de Tunis (CL 50 (48 h) de 30,54 g/l pour Cymodoce et de 24, 79 g/l pour Sphaeroma). Au bout de 96 heures, les CL 50 pour les deux espèces tendent à s'équilibrer avec toujours une valeur légèrement plus forte pour les Cymodoce (19,90 g/l pour Sphaeroma contre 21,45 g/l pour Cymodoce). Notons aussi que pour Sphaeroma on n'observe jusqu'en 72 heures aucune mortalité pour les concentrations égales ou inférieures à 15 g/l; pour Cymodoce, au contraire, on observe dès 24 heures

un début de mortalité même aux plus faibles concentrations.

En ce qui concerne la moule, *Mytilus galloprovincialis*, les jeunes se sont révélés plus sensibles aussi bien en 48 heures qu'en 96 heures. Les grandes moules de 60 à 70 mm occupent, en 48 heures avec les *Cymodoce*, une position intermédiaire par rapport à l'ensemble des animaux testés ; en 96 heures, leur résistance les place après les *Venerupis*.

Il convient de remarquer, d'après la figure 1, que l'ordre de sensibilité établi en 48 heures, par comparaison des CL 50, ne se retrouve pas en 96 heures,

Cette étude comparative ne peut être menée par le simple examen des CL 50 (Stora, 1975). Il est nécessaire de procéder par analyse et comparaison des équations des droites de mortalités et, bien entendu, des CMM et CL 90 obtenues en 48 heures et 96 heures.

3.3.2. COMPARAISON DES EQUATIONS DES DROITES DE MORTALITES

La comparaison de la sensibilité de plusieurs espèces vis-à-vis d'un seul agent polluant est relativement complexe. Cependant, lorsque les différentes espèces présentent, en un temps donné de l'expérience, des droites de mortalités parallèles, il est aisé d'établir un ordre de sensibilité pour ces animaux. Il s'agit là de la méthodologie définie par Stora (1975) dans son essai de comparaison de la toxicité d'une série de détergents sur le Polychète Scolelepis fuliginosa.

Les pentes des droites de mortalités ont des valeurs très variables puisqu'elles s'échelonnent de 4,05 à 18,64 en 48 heures et de 5,29 à 11,28 en 96 heures. Cette large variabilité rend difficile la comparaison de la sensibilité des espèces-tests. Toutefois, cette étude peut être réalisée en regroupant dans une même classe les droites présentant des pentes peu différentes et en évitant de placer ensemble les espèces dont les droites se recoupent.

Pour les espèces ayant des droites de mortalités parallèles, la comparaison de leur sensibilité peut être faite par la simple étudé des CL 50, alors que pour celles dont les droites se recoupent, le problème de classification devient compliqué. Lorsque les droites de certaines espèces sont parallèles, l'évolution de leurs mortalités en fonction des concentrations est dite similaire. D'autre part, l'espèce la plus sensible est celle dont la droite 3e situe à l'extrême gauche; par contre, l'espèce la plus résistante demande une quantité beaucoup plus grande du produit polluant pour accuser des mortalités et, de ce fait, sa droite se trouve située à l'extrême droite.

Les graphiques de la figure 2 représentent les droites de mortalités en 48

heures et 96 heures regroupées suivant les valeurs des pentes.

En 48 heures, l'écart entre les pentes des droites de mortalités des différentes espèces est large (4,05 à 18,64). Les Crustacés Isopodes *Sphaeroma* et *Cymodoce* ont des droites possédant une pente de forte valeur (18,64 et 8,08), ce qui se traduit par l'évolution rapide de leurs mortalités dans un intervalle réduit de concentrations. Par contre, pour les Mollusques, Bivalves et Gastéropodes, les droites sont toutes de faible pente (4,05 à 4,11), l'évolution de la mortalité se faisant dans un intervalle de concentrations beaucoup plus grand. D'autre part, les deux classes de *Mytilus* montrent une évolution identique de leurs mortalités; leurs droites étant presque parallèles.

En 96 heures, l'écart entre les pentes des droites de mortalités des différentes espèces devient plus étroit (5,29 à 11,28) ce qui dénote un rapprochèment de l'évolution des mortalités. La variation des pentes des droites de mortalités, de 48 heures en 96 heures, se fait toujours dans le sens d'une augmentation, exception faite pour *Sphaeroma* dont la pente baisse de 18,64 à 11,28. Par ailleurs dans le groupe des Mollusques qui ont manifesté en 48 heures une évolution lente des mortalités, le Gastéropode *Nassa* se détache et, par la forte pente de sa droite 96 heures, se rapproche des Crustacés Isopodes pour lesquels les mortalités continuent à évoluer rapidement. La baisse considérable de la valeur de la CL 50 (96 h) de ce Mollusque est donc liée à cette augmentation de l'évolution des mortalités. Nous remarquons aussi que les Bivalves *Mytilus* et *Venerupis* présentent en 96 heures les pentes les plus faibles.

Les concentrations létales CMM et CL 90 sont calculées à partir des équations des droites de mortalités. Leur utilisation, avec la CL 50, permet une meilleure comparaison de la sensibilité des animaux testés vis-à-vis du phosphogypse.

Les diagrammes des figures 3 et 4 représentent les valeurs des CMM, CL 50 et CL 90 obtenues pour toutes les espèces-tests. Ces dernières ont été classées, en 48 heures et 96 heures, en fonction de leurs CL 50 croissantes.

L'étude de ces diagrammes montre que les CMM et CL 90 ne présentent pas toujours une progression identique à celle des CL 50, surtout en 48 heures. Certaines espèces présentant des CL 50 voisines ont, au contraire, des CMM et des CL 90 très différentes. Ainsi l'examen, en 48 heures, des concentrations létales obtenues pour les *Sphaeroma* et les jeunes *Mytilus* (tabl. 4) permet d'appuyer cette constatation.

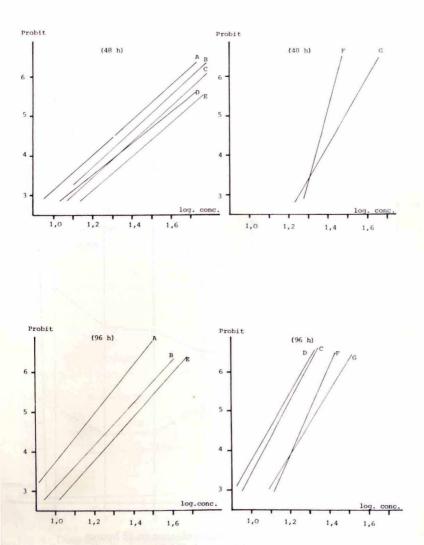


Fig. 2: Droites de régression regroupées suivants leurs pentes A: Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); B: Mytilus galloprovincialis (60-70 mm); C: Nassa corniculum (lac de Tunis); D: Nassa corniculum (lac de Bizerte); E: Venerupis decussatus; F: Sphaeroma serratum; G: Cymodoce truncata.

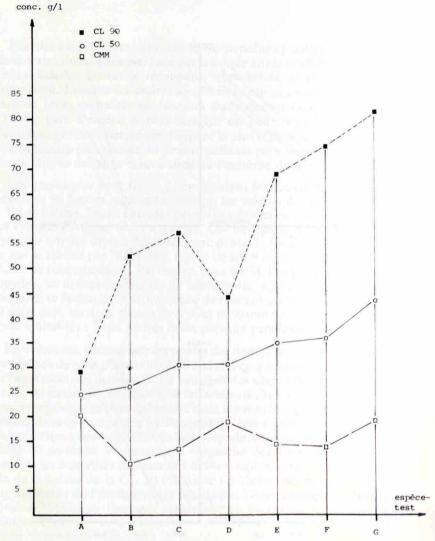


Fig. 3: Diagrammes des concentrations létales obtenus en 48 heures

A: Sphaeroma serratum; B: Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); C: Mytilus galloprovincialis (60-70 mm); D: Cymodoce truncata; E: Nassa corniculum (lac de Tunis); F: Nassa corniculum (lac de Bizerte); G: Venerupis decussatus.

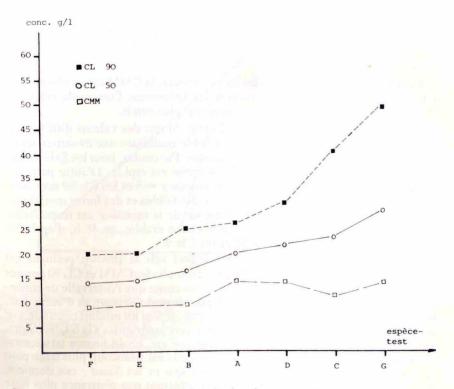


Fig. 4: Diagrammes des concentrations létales obtenues en 96 heures F: Nassa corniculum (lac de Bizerte); E: Nassa corniculum (lac de Tunis); B: Mytilus golloprovincialis (24-29 mm); A: Sphaeroma serratum; D: Cymodoce truncata; C: Mytilus galloprovincialis (60-70 mm); G: Venerupis decussatus.

TABLEAU 4

Concentrations létales obtenues en 48 heures pour Sphaeroma et les jeunes Mytilus

Espèce		CMM g/1	CL 50 g/1	CL 90 g/1
Sphaeroma serratum	-	20,2339	24,7917	29,0434
Mytilus galloprovincialis	(24-29 mm)	10,7645	26,1783	52,3173

Ce tableau montre que, pour les jeunes *Mytilus*, la CMM est très basse et la CL 90 très élevée. En ce qui concerne les *Sphaeroma*, l'intervalle entre ces deux concentrations extrêmes est beaucoup plus étroit.

Les pentes des droites de mortalités (fig. 5) ont des valeurs différentes. Chez les jeunes *Mytilus*, cette pente est faible traduisant une évolution lente des mortalités en fonction des concentrations. Par contre, pour les *Sphaeroma*, la pente est forte et l'évolution de la mortalité est rapide. D'autre part, ces droites se rapprochent au niveau de l'ordonnée y = 5 et les CL 50 sont ainsi très peu différentes. Par contre, au niveau des faibles et des fortes mortalités, elles s'éloignent. Cette évolution différente de la mortalité est responsable des différences observées entre la classification établie, en 48 h, d'après les CL 50 et celle basée sur les CMM et les CL 90.

L'intervalle de concentrations dans lequel agit le produit polluant est variable suivant les espèces-tests. La connaissance des CMM et CL 90 permet de déterminer cette marge d'action qui ne concerne que l'intervalle de concentrations pour lequel on observe, d'une part, le premier mort, et d'autre part, 90 % de morts ; il est cependant évident que l'action du produit continue à se manifester sur l'animal test à des concentrations supérieures à la CL 90 (Stora, 1975). Cette marge d'action du phosphogypse est, en 48 heures très étroite pour les Sphaeroma et les Cymodoce, alors qu'elle est beaucoup plus large pour les Mollusques, particulièrement, les Venerupis et les Nassa; ces derniers, étant dotés d'une coquille protectrice, manifestent une résistance plus forte que celle des Isopodes. D'autre part, les Sphaeroma sont légèrement plus sensibles que les Cymodoce, leur CL 50 et la marge d'action du phosphogypse étant plus faibles.

En 96 heures, nous remarquons que l'évolution des mortalités est beaucoup plus homogène qu'en 48 heures. Le parallélisme entre la progression des concentrations létales se dessine davantage. Toutefois, la marge d'action du phosphogypse tout en se retrécissant pour l'ensemble des espèces-tests, reste sensiblement plus étendue pour les *Venerupis* et les *Mytilus* (60 - 70 mm). D'autre part, pour les *Nassa*, la forte diminution de la valeur de la CL 50 entre 48 heures et 96 heures, s'accompagne d'une chute aussi importante de la CL 90 et de la CMM, et la marge d'action du phosphogypse se trouve ainsi considérablement réduite. Ainsi ces animaux, après avoir manifesté une forte résistance durant 48 heures, deviennent, au bout de 96 heures, les plus sensibles. En ce qui concerne les deux classes de taille de *Mytilus*, nous remarquons que les jeunes deviennent en 96 heures beaucoup plus sensibles que les individus de taille plus grande alors qu'ils ne le sont que légèrement en 48 heures.

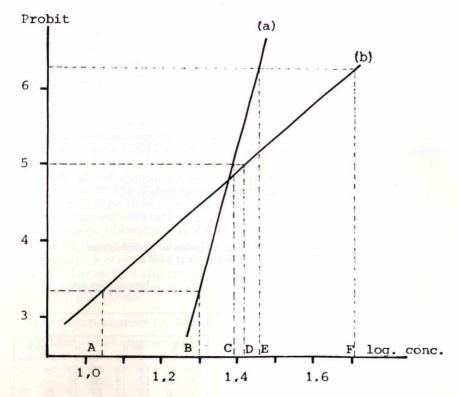


Fig. 5: Droites de mortalités de pentes différentes (48 h)
(a): Sphaeroma serratum; (b): Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); A: CMM de Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); B: CMM de Sphaeroma serratum; C: CL 50 de Sphaeroma serratum; D: CL 50 de Mytilus galloprovincialis (24-29 mm); E: CL 90 de Sphaeroma serratum; F: CL 90 de Mytilus galloprovincialis (24-29 mm).

3.4. Influence de la température

Les tests précédents ont été effectués à une température assez basse puisque comprise entre 16 et 18° C; or dans la région de Gabès, la température de l'eau de mer peut, en été, atteindre et même dépasser 25°C. Ceci nous a incité à réaliser quelques tests à une température élevée pour rechercher l'incidence de ce facteur écologique sur la toxicité du phosphogypse et la valeur de la CL 50.

Deux tests ont été réalisés, au mois d'août 1978, à la température de 25° C sur des individus de *Mytilus galloprovincialis* et *Venerupis decussatus*, provenant du lac de Bizerte; les premiers ayant une taille de 24 à 29 mm, les seconds de 24 à 28 mm.

Les résultats de cette série d'expérience sont consignés dans le tableau 5 et les valeurs des CL 50 correspondants dans le tableau 6.

TABLEAU 5

Mortalité des espèces-tests en présence de phosphogypse en 24, 48, 72 et 96 heures et à 25° C

Mytilus galloprovincialis (24 - 29 mm)

Venerupis decussatus (24 - 28 mm)

Concen- tration				Mor	talité							Mor	talité			
(g / l)	24	h	48	h	72	h	96	h	24	h	48	h	72	h	96	h
40	17	18	20	20	1				5	7	19	18	20	20		_
35	15	14	20	20	_	_	_		4	3	17	19	20	20		
30	16	14	20	20		_	_		2	2	18	17	19	19	20	20
25	12	13	20	20	_		_	_	2	1	16	14	19	17	20	20
20	10	13	20	20	_	_	_	_	0	0	13	15	14	16	18	16
15	9	12	13	15	16	18	19	20	0	1	6	4	8	7	12	1
10	4	2	7	6	8	6	9	8	0	0	1	2	2	2	4	
5	1	0	1	0	1	1	2	1	0	0	0	1	0	1	0	
2,5	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	(
1,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	. 0	0	0	(
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(

TABLEAU 6

CL 50 (48) et (96) heures pour les deux espèces-tests à 25° C

Méthode	Expérir	nentale		tique Bliss	Graphique de Bliss	
Espèce	CL 50 48 h	CL 50 96 h	CL 50 48 h	CL 50 96 h	CL 50 48 h	CL 50 96 h
Mytilus galloprovincialis (24 - 29 mm)	10 à 15	10 à 15	12,2340	9,2433	12,3026	9,2682
Venerupis decussatus (24 - 28 mm)	15 à 20	10 à 15	0,0934 18,4523	0,0719	19,0107	13,4896
ton. i			0,0552	0,0546		

L'influence de l'élévation de la température sur l'abaissement de la résistance de ces animaux est manifeste. En effet, les mortalités sont élevées dès les premières 48 heures, aussi bien pour les *Mytilus* que pour les *Venerupis*.

Toutefois, l'examen du tableau des mortalités montre que les *Venerupis* ont mieux résisté que les *Mytilus* au cours des premières 24 heures de l'expérience.

Pour les *Mytilus*, en 48 heures, la mortalité atteint 100 % pour les concentrations égales et supérieures à 20 g/l de phosphogypse. Cette mortalité est déjà de 65 à 90 %, lors des premières 24 heures pour les mêmes concentrations. Les tests effectués à la température de 16° C, sur la même espèce et pour la même classe de taille, ont donné, au bout de 48 heures, des mortalités de 35 à 80 % seulement pour les concentrations comprises entre 20 et 40 g/l (voir annexe).

Ainsi la CL 50 (48 h), calculée d'après la méthode statistique de Bliss, descend de 26,17 g/ là 12,23 g/ l et la CL 50 (96 h) de 16,36 g/ là 9,24 g/ l.

La même constatation est faite avec les *Venerupis*. En effet, à la température de 16° C, ces coquillages se révèlent très résistants ; ils présentent une CL 50 (48 h) de 43,20 g/let une CL 50 (96 h) de 28,46 g/l. A la température de 25° C, la baisse de leur résistance est considérable ; leur CL 50 (48 h) n'est que de 18,45 g/l et en 96 h elle tombe à 13,42 g/l.

Cette baisse des valeurs des CL 50 avec l'augmentation de la température

	CL 50 (48h) (25°C)	CL 50 (96h) (25°C)
Espèce	CL 50 (48h) (16°C)	CL 50 (96h) (16° C)
Mytilus galloprovincialis Venerupis decussatus	0,46 0,42	0,57 0,47

Ces rapports sont de 0,46 à 0,57 pour les *Mytilus* et de 0,42 à 0,47 pour les *Venerupis*. Ces valeurs montrent encore une fois que l'augmentation de température entraîne chez les espèces-tests utilisées une sensibilité accrue à l'action du phosphogypse. Les CL 50 (48 h) et (96 h), à la température de 25° C, n'atteignent que 42 à 57 % de la valeur de ces concentrations létales à la température de 16° C. Par ailleurs, pour les *Venerupis*, la diminution de la valeur des CL 50, particulièrement en 96 h, est légèrement plus forte que pour les *Mytilus*.

La considération des CMM et CL 90 (tabl. 8, fig. 6), permet de mieux dégager l'influence de la température sur la résistance de ces animaux.

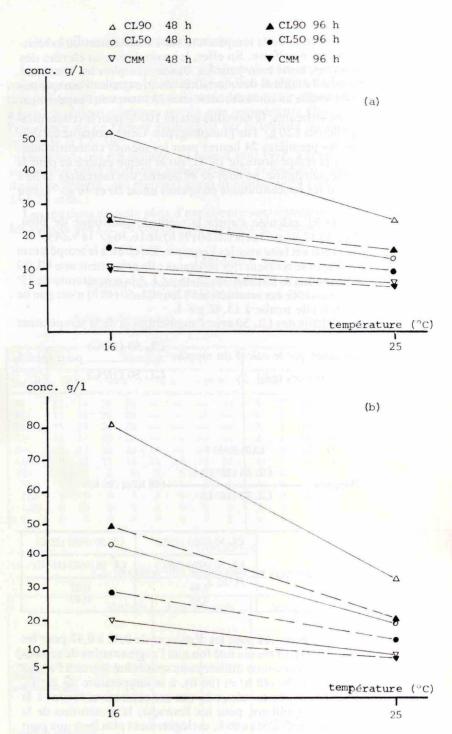


Fig. 6 : Concentrations létales obtenus à deux températures différentes (16° C et 25° C) (a) : Mytilus galloprovincialis (24-29 mm) ; (b) : Venerupis decussatus.

TABLEAU 8

CMM, CL 50 et CL 90 calculées à 25° C

	CL	50	CV	1M	CL 90	
Espèce	48 h	96 h	48 h	96 h	48 h	96 h
Mytilus galloprovincialis Venerupis decussatus	12,2340 18,4523	9,2433 13,4216	5,0280 8,8730	4,7356 7,7600	24,4596 32,6438	15,5640 20,5582

L'augmentation de la température, de 16° C à 25° C, s'accompagne d'une augmentation de la toxicité aiguë du phosphogypse qui se traduit par une réduction des valeurs des concentrations létales. Cette baisse, particulièrement marquée pour les CL 90 et les CL 50, a pour corollaire le retrécissement de la marge d'action du phosphogypse sur ces animaux.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

La méthodologie employée pour réaliser ces tests de toxicité est fiable

puisqu'elle permet d'obtenir une reproductibilité des résultats.

Les mortalités relevées pour les différentes espèces-tests prouvent que le phosphogypse est toxique. Dans les limites actuelles de notre expérimentation, les CL 50 (48 h et 96 h) obtenues sont élevées puisqu'elles s'échelonnent entre 14,07 et 43,20 g/l, concentrations qui, dans l'état actuel des rejets effectués à Gabès, existent seulement au voisinage immédiat des effluents dans la zone de pollution maximale. Toutefois, l'accroissement des tonnages, surtout après l'entrée en service de la SEPA, risque d'augmenter la concentration en phosphogypse, en particulier au niveau du fond, et de créer un milieu toxique plus étendu.

D'autre part, les concentrations létales et la marge d'action du phosphogypse sur les animaux varient entre 48 heures et 96 heures dans le sens d'une réduction, ce qui indique une augmentation de la toxicité du phosphogypse avec la prolongation de la durée du test. Il est donc probable que pour des durées supérieures à 96 heures, les concentrations létales et particulièrement

la CL 50 atteignent des valeurs beaucoup plus faibles.

Par ailleurs, il faut signaler que dans la région de Gabès, la température de l'eau de mer peut en été dépasser 25° C, or les tests réalisés à cette température prouvent, par la diminution très nette des concentrations létales, particulièrement la CL 90, et de la marge d'action du phosphogypse, que la toxicité s'accroît nettement dans ces conditions.

La comparaison de la sensibilité des animaux testés, par utilisation des CMM et CL 90, a permis de montrer la forte résistance du Mollusque *Venerupis decussatus*, la chute considérable de la résistance des *Nassa* en 96 heures, la résistance plus faible des petites moules par rapport aux grandes et la faible marge d'action du phosphogypse sur les Crustacés Isopodes.

Le phosphogypse confère aux solutions tests une très forte concentration en fluor (F⁻) et un pH très bas. Les CL 50 obtenues par la méthode de Bliss correspondent à des pH inférieurs à 6,30 et une concentration en fluor supérieure à 20 mg/1F⁻. Les investigations réalisées par d'autres auteurs sur ces deux éléments ont prouvé qu'un pH bas provoque des effets sublétaux notables : augmentation de la mortalité, réduction de la croissance, altération

de la reproduction (Beamish, 1972; Mendenez, 1976). Par contre, l'action du fluor n'est pas nuisible à court terme mais, à long terme, la tolérance varie selon les organismes, et les Mollusques sont particulièrement sensibles à cet élément (Neuhold et Sigler, 1960; Moore, 1969; Hemens et Warwick, 1972; Wright et Davison, 1975). Les résultats obtenus montrent que le phosphogypse a une toxicité à court terme plus accentué que deux de ses composantes, l'acidité et la teneur en fluor. Ceci peut s'expliquer, d'une part, par le fait que le phosphogypse renferme d'autres éléments (phosphates, matières organiques et éléments à l'état de traces) et, d'autre part, que tous ces facteurs agissent en synergie.

BIBLIOGRAPHIE

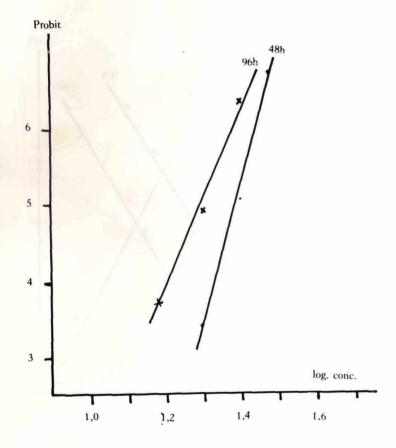
- ANDREN L.E. et HADJ ALI SALEM M. (1978) Sources de pollution marine côtière en Tunisie: facteurs influençant sa distribution et ses effets. Bull. Inst. natn. scient. tech. Océanogr. Pêche Salammbô, 5 (1 4): 53-95.
- BEAMISH R.J. (1972). Lethal pH for the white Sucker Catostomus commersoni (Lacepède). Trans. amer. Fish. Soc., 2: 355-358.
- BLISS C.I. (1935). The calculation of the dosage mortality curve. *Ann. appl. Biol.*, 22: 134-167.
- BLISS C.I. (1938). The determination of the dosage mortality curve from small numbers. *Quart. J. Pharm.*, 11: 192-216.
- CHEVALLIER R. et PAIRIN R. (1968). Mesure de la toxicité des polluants en milieu aquatique. Remarques concernant les herbicides et les coquillages. Science et Pêche, 166: 1-10.
- DARMOUL B. et VITIELLO P. (1978). Etude expérimentale de la toxicité des rejets de phosphogypse de la région de Gabès sur deux Isopodes. *Archs Inst. Pasteur, Tunis*, 55 (4): 455-460.
- DARMOUL B., VITIELLO P. et HADJ ALI SALEM M. (1979). Impact des rejets de l'industrie de transformation du minerai de phosphate sur l'environnement marin (Golfe de Gabès, Tunisie). IVème journées Etud. Pollutions, Antalya 1978, C.I.E.S.M., 343-345.
 - HEMENS J. and WARWICK R.J. (1972). The effects of fluoride on estuarine organisms. Wat. Res., 6: 1301-1308.
- KTARI-CHAKROUN F. et AZOUZ A. (1971). Les fonds chalutables de la région sud-est de la Tunisie (golfe de Gabès). Bull. Inst. natn. scient. tech. Océanogr. Pêche Salammbô, 2
- MENDENEZ R. (1976). Chronic effects of reduced pH on Brook Trout (Salvelinus fontinalis).

 J. Fish. Res. Board Can., 33 (1): 118-123.
- MOORE D.J. (1969). Field and laboratory study of fluoride uptake by Oysters. *Rep. Wat. Resour. Res. Inst.*, 20: 5-12.
- NEUHOLD J.M. and SIGLER W.F. (1960). Effects of sodium fluoride on Carp and Rainbow Trout, *Trans. am. Fish. Soc.*, 89: 358-370.
- PAUTSCH F., BOMIRSKI A., DABROWSKA T., DREWA G., KLEK-KAWINSKA E., LAWINSKI L. TARZYNSKA-KLEINEDER J., ZBYTNIEWSKI Z., ZAWROCKA-WRZOLKOWA T., CISZEWSKA I., DOMINICZAK T., SKORKOWSKI E., SZLACHCIC-NAJDROWSKA J., TUROBOYSKI K. (1975). Studies of the toxicity of phosphogypsum. Polskie Archiwum Hydrobiologi, 22 (3): 449-476.
- STORA G. (1972). Contribution à l'étude de la notion de concentration létale limite (CL 50) appliquée à des invertébrés marins. 1. Etude méthodologique. *Téthys*, 4 (3): 597-644.
- STORA G. (1975). Contribution à l'étude la notion de concentration létale limite moyenne appliquée à des invertébrés marins. 2. CL 50 et détermination de la toxicité de produits polluants. Rev. int. Océanogr. méd., 37-38 : 97-123.
- WRIGHT D.A. and DAVISON A.W. (1975). The accumulation of fluoride by marine and intertidal animals. *Environ. Pollut.*, 8: 1-13.

Mortalité des espèces en présence de phosphogypse et droites de régression

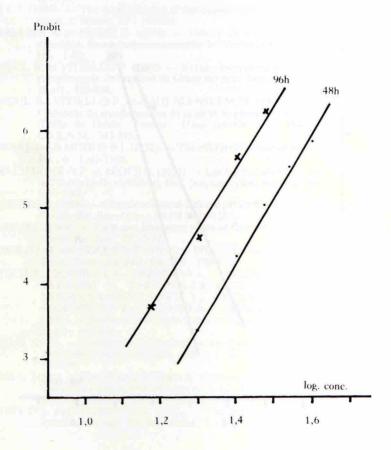
Sphaeroma serratum — Lac de Tunis (Mars 1977, 18°C)

Concentra- tion (g/l)					Mort	alité		
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	2	3	20	19	20	20	20	20
35	1		20		20		20	
30	1 1		19		20		20	
25	1		10		18		18	
20	0	0	1	2	4	3	9	7
15	0	0	0	1	0	1	2	2
10	0	0	0	0	0	1	2	1
5	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0	0	0
1,25	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0



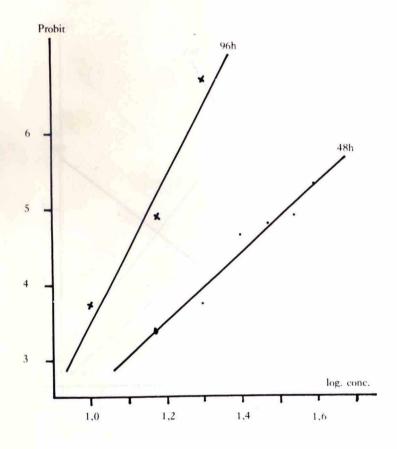
Cymodoce truncata — Lac de Bizerte (Avril 1978, 16°C)

Concentra- tion (g/1)					Mort	alité		
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	3	2	16	17	20	20	20	20
35	10	()	14	11	18	17	20	19
30	0	()	10	8	1.5	16	18	16
25	0	()	5	6	12	11	15	14
20	()	1	1	1	2	2	7	6
1.5	1	()	2	2	2 2 2	2	2	2
10	1	()	2	-1	2	1	3	3
5	0	()	0	1	()	1	()	1
2,5	0	1	0	2	U	2	()	3
1,25	0	1	0	1	0	1	0	1
0	0	0	0	0	0	0	0	(



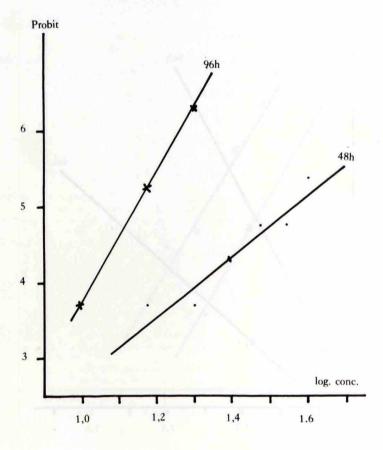
Nassa corniculum a) Lac de Tunis (Mars 1977, 18°C)

Concentra- tion (g/l)					Mort	alité		
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	0	0	12	14	20	20	20	20
35	1		9		19		20	
30	1		8		19		20	
25	()		7		18		20	
20	1 0	0	2	4	10	14	19	19
15	0	0	1	2	7	6	9	9
10	0	0	0	0	0	1	2	1
5	0	0	0	0	0	0	0	()
2,5	0	0	0	0	0	0	0	()
1,25	0	0	0	0	0	0	0	()
0	0	0	0	0	0	0	()	0



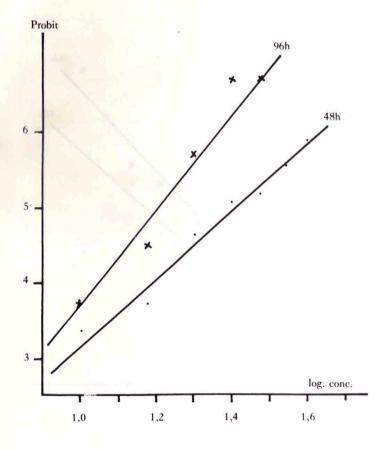
b) Lac de Bizerte (Avril 1978, 16°C)

Concentra- tion (g/l)	let an				Mort	alité		
-	24	h	48	h	72	h	96	h
40	1	0	13	12	20	20	20	20
35	1	0	8	10	19	20	20	20
30	0	0	8	9	19	17	20	20
25	0	0	8 5	6	19	18	20	20
20	0	0	2 2	2	11	9	18	17
15	0	0	2	1	8	5	12	10
10	0	0	0	1	1	2	2	2
5	0	0	0	0	0	1	0	1
2,5	0	0	0	0	0	0	0	C
1,25	0	0	0	0	0	0	0	(
0	0	0	0	0	0	0	0	(



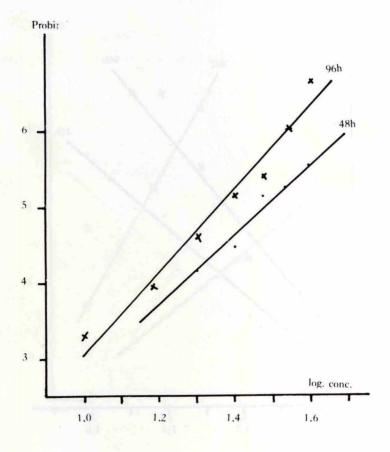
Mytilus galloprovincialis — Lac de Bizerte (Avril 1978, 16°C) a) 24 - 29 mm

Concentra- tion (g/l)					Mort	alité		
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	7	9	16	18	18	20	20	20
35	5	7	14	16	18	20	20	20
30	4	6	11	14	17	18	19	19
25	3	5	10	13	15	16	19	20
20	2	3	7	8	11	13	15	16
15	1	2	2	2	4	5	6	8
10	1	0	1	0	2	0	2,	1
5	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0	0	0
1,25	0	0	0	0	0	0	0	C
0	0	0	0	0	0	0	0	(



b) 60 - 70 mm

Concentra- tion (g/l)	Mortalité							
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	6	4	13	14	16	18	20	19
35	2	1	12	12	14	12	16	17
30	2	1	12	11	14	11	15	13
25	2	2	5	6	7	8	9	11
20	2	0	3	4	5	5	6	7
15	0	0	1	0	1	2	2	3
10	0	0	2	0	2	1	2	1
5	0	0	0	0	0	0	0	(
2,5	0	0	0	0	0	0	0	(
1.25	0	0	0	0	0	0	0	(
0	0	0	0	0	0	0	0	(



Venerupis decussatus — Lac de Bizerte (Mars 1978, 15 C)

Concentra- tion (g/l)	Mortalité							
	24	h	48	h	72	h	96	h
40	3	4	11	12	15	16	18	17
35	2	3	6	5	10	11	13	15
30	1	2	3	4	7	9	10	11
25	1	0	2	1	3	5	6	7
20	1	0	1	2	2	2	3	4
15	1	1	1	1	3	1	3	1
10	0	0	0	0	2	0	2	(
5 .	0	0	0	0	1	1	2	1
2,5	1	0	1	0	1	1	1	1
1,25	1	0	1	0	1	0	2	(
0	0	0	0	0	0	0	0	(

