

Tests d'évaluation du degré de pollution des sédiments marins :

effets sur la production de larves
et la consommation d'algues
chez le copépode *Tigriopus brevicornis*

Evaluation of the degree of pollution
of marine sediments by means of two sublethal tests
applied on the copepod *Tigriopus brevicornis*
Effects on larval production and the consumption of algae

J.C. LACAZE, F. PAQUET (1)

RÉSUMÉ

L'eau interstitielle ou l'eau de lessivage d'un sédiment est mise en contact avec des lots de 50 femelles ovigères du copépode *Tigriopus brevicornis*. Notons que ce microcrustacé marin est sensible à la pollution mais résistant aux caractéristiques physico-chimiques des types d'eaux testés (salinité et température notamment). On évalue ensuite les effets de ces eaux sur la production larvaire en 10 jours et sur l'ingestion en 4 jours par les copépodes d'une suspension de *Phaeodactylum tricornutum*. Nous observons ici, pour des lots de sédiments provenant de la région de Marseille, des réductions de la production de larves variant de 61 % (Les Embiez) à 90 % (Vaine). Le test "consommation d'algues", bien moins sensible aboutit pour les mêmes stations à des réductions de 19 % à 35 %. Le test "production larvaire" du fait de sa plus grande sensibilité doit être préféré au test "consommation d'algues".

Mots clés : *toxicologie, pollution du sédiment, copépode, production larvaire, consommation d'algues.*

(1) Muséum national d'Histoire naturelle et Institut océanographique,
195 rue Saint-Jacques, 75005 Paris, France.

SUMMARY

Most pollutants discharged into the sea are found in sediments, generally after temporary fixation in planktonic organisms. The slightest discharge leaves a trace in the soft bottoms. Thus, it may be said that these behave as good "data storage indicators" testifying to the degree of pollution present. Sediments therefore represent a privileged field in research on the state of pollution in the aquatic ecosystem. How can the degree of pollution in this field be evaluated ?

A chemical analysis of pollutants in sediments is a good means of investigation to detect of degradation in the quality of waters. Most pollutants however are difficult to detect and dose. Moreover, in many cases dosage is tedious and costly. It is from this point of view that biological assays were considered essential.

Interstitial water or water used to wash a sediment was placed in contact with batches of 50 ovigerous females of the copepod *Tigriopus brevicornis*. This marine microcrustacean is known to be sensitive to pollution, though resisting the physical and chemical effects of the waters tested (salinity and temperature, in particular). An evaluation was made on the effects of these waters ; first on larval production during a period of ten days, and then on ingestion by copepods of a suspension of *Pheodactylum tricornerutum* for four days.

The results obtained here with batches of sediment from the Marseilles region show that the larval production test is the most sensitive one. Indeed, the inhibition percentages found by the larval production test range from 35 to 100 % (figure 1), whereas they vary from 5 to 55 % with the algae consumption test (figure 2). With the larval production test, it is possible to classify sediments according to their ecological quality.

From this test, moreover, the presence of harmful substances in the sediments can be rapidly detected. Being reproducible and not expensive, it supplements the far too restrictive traditional chemical analyses. When applied to estuarine sedimentary zones, combined with other tests, it should help establish a quality coefficient for sediments based on experimentation.

Key-words : *toxicology, pollution of sediment, copepods, larval production, consumption of algae.*

1 - INTRODUCTION

Une grande part des polluants déversés dans les eaux se retrouve dans les sédiments ; aussi a-t-on pu dire que ces derniers se comportent comme des indicateurs de pollution à mémoire, témoins du degré de pollution (LESOUËF *et al.*, 1979). Les sédiments constituent donc un biotope privilégié pour rechercher l'état de pollution d'un écosystème aquatique (MEARNS *et al.*, 1986).

L'analyse chimique des polluants dans les sédiments est, certes, un moyen d'investigation performant pour détecter les zones de dégradation de la qualité des eaux, toutefois, de nombreux polluants échappent inévitablement au dosage. C'est, dans ce contexte, que des essais biologiques sont impératifs ; sont alors pris en compte les phénomènes de synergie entre polluants, phénomènes que les analyses chimiques ne permettent pas de déceler. Sont pris en compte également les processus de photo et de biodégradation.

Les espèces cibles doivent répondre aux critères suivants d'expérimentation : cycle d'élevage complet bien maîtrisé ; représentativité ; large répartition géographique.

En outre, les tests seront simples et rapides de manière à ce qu'ils puissent être effectués en routine. Ils doivent être également peu coûteux, fiables, sensibles et réalisables toute l'année. Pour des raisons pratiques, une miniaturisation est souhaitable. Un des objectifs de ces tests est d'établir rapidement "l'état de santé" d'un secteur côtier ; s'ils fournissent des réponses anormales, des recherches approfondies doivent être entreprises, notamment en ce qui concerne l'analyse chimique, pour déterminer les causes des perturbations.

Ces tests seront utilisables avec des milieux aussi chargés en substances minérales et organiques que le sont les eaux interstitielles et les eaux de lessivage des sédiments. C'est-à-dire que les espèces cibles utilisées doivent être résistantes aux variations physico-chimiques inhérentes à ces milieux (salinité, température, teneur en oxygène, pH) ce qui semble exclure les organismes océaniques.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

2-1 Choix de l'organisme test

Plusieurs travaux relatifs à *Tigriopus brevicornis* Müller, copépode que l'on trouve fréquemment dans les flaques d'eau littorales de la zone intertidale atlantique, ont permis de préciser les conditions d'élevage et d'utilisation en écotoxicologie (FALCHIER *et al.*, 1982 ; LASSUS *et al.*, 1984. LE DEAN et MARCAILLOU - LE BAUT, 1984). Ce copépode répond à tous les critères d'expérimentation précisés plus haut. Les tests sublétaux que nous développons dans le présent travail seront axés sur les modifications de la production larvaire et du comportement alimentaire.

Des expériences poursuivies depuis le début de l'année 1985 (LACAZE et DUCREUX, 1987) nous indiquent l'intérêt des tests sublétaux portant sur le comportement alimentaire de ce copépode. L'ingestion d'une suspension de la diatomée *Phaeodactylum tricoratum* par une population de copépodes est alors mesurée pendant 96 heures en fonction du degré de pollution. On évalue la diminution, du taux de chlorophylle *a* en fonction du temps.

2-2 Mesure de la consommation d'algues

Les copépodes utilisés proviennent d'un élevage entretenu à l'Institut Océanographique et développé à partir d'une population fournie par le laboratoire "effets biologiques des nuisances" de l'IFREMER/NANTES (LE DEAN et MARCAILLOU - LE BAU, 1984).

On dépose successivement dans les flacons de 20 mL en verre à col vissé 30 femelles ovigères de *Tigriopus brevicornis*, des cellules de *Phaeodactylum tricorutum* obtenues après centrifugation (5 000 t/min., 5 min.) de 10 mL d'une suspension de cette algue en phase exponentielle de croissance, enfin, l'eau à tester ou une de ses dilutions. Dans le cas des témoins utilisation d'une eau de mer de référence (cf. paragraphe 4). Pour chaque eau à tester (ou dilution) et pour les témoins, 4 flacons sont utilisés.

Après 96 heures, les copépodes sont retenus sur un tamis en nylon (vide de maille de 60 μ m) et on dose la chlorophylle *a* de la suspension d'algues récoltée sur filtre Whatman GF/C (méthode de LORENZEN, 1967). L'expérience est réalisée à l'obscurité et à la température de 25 °C \pm 1 °C. Au temps zéro plusieurs fractions de 10 mL de la suspension de *P. tricorutum* sont filtrées et la chlorophylle *a* dosée ; on obtient ainsi la concentration initiale.

Pour la station de Vaine une étude plus détaillée, destinée à déterminer le broutage en fonction du temps est réalisée. Chaque jour un des 4 flacons est prélevé et la concentration en chlorophylle *a* de la suspension d'algues restantes est mesurée. Dans les conditions expérimentales la consommation moyenne pour les témoins en 96 heures est de 1 200 μ g de chlorophylle *a*.

2-3 Mesure de la production larvaire

Un essai porte sur 5 concentrations exprimées en pourcentage de l'extrait (15, 30, 50, 70, 100). On utilise par concentration 5 lots de 10 femelles ovigères de *Tigriopus* (sacs ovigères oranges correspondant à des oeufs à terme de développement). Chaque lot est déposé dans 1 cristallisoir en verre de 20 mL contenant 15 mL d'eau de mer de référence. Ces récipients sont couverts pour éviter l'évaporation. Les essais sont conduits à l'obscurité. Température 22 °C \pm 1 °C.

On évalue la production larvaire (nauplii et copépodites) pour une période de 10 jours. Au début de la période expérimentale introduction de 2 mg de spirulines lyophilisées par cristallisoir.

En fin de test les organismes issus des 5 cristallisoirs correspondant à une même concentration sont concentrés sur un tamis de 60 μ m de vide de maille ; on procède alors au comptage globale des larves dans une cuve de Dolfuss.

Dans les conditions expérimentales la production larvaire moyenne pour les témoins est de 476 larves en 10 jours soit 9,5 larves par femelle.

2-4 Obtention des eaux à étudier

Les échantillons de sédiment sont prélevés dans des sites ayant fait l'objet de travaux antérieurs (ARNOUX *et al.*, 1985 ; BARNIER, 1984 ; MILLE *et al.*, 1981 ; MILLE *et al.*, 1983) et ont donné lieu alors à des analyses granulométriques. Nous avons utilisé 2 techniques de traitement des sédiments selon qu'il s'agissait de sable ou de vase.

a) Cas du sable. Echantillons : Les Embiez, La Seyne, Côte Bleue

Pour chacun des sites précités, plusieurs dm³ de sédiments sont prélevés, égouttés, homogénéisés, répartis par fractions dans des bocaux en verre et congelés rapidement. Décongélation juste avant la réalisation des tests.

Pour obtenir, dans ce cas, les eaux à étudier on procède par lessivage. On utilise : 1 volume de sable égoutté et 1 volume d'eau de mer filtrée au moment de l'utilisation (Whatman GF/C). Cette eau de référence est prélevée au large de Roscoff et conservée plusieurs mois à l'obscurité et à 15 °C. Brassage 30 min. (agitateur universel Bioblock). Décantation 3 heures. Centrifugation du surnageant (5 000 tours/min., 5 min.). Equilibration de l'eau ainsi obtenue avec l'air par bullage (30 min.). Mesure du pH (pH des différentes eaux testées : par ordre décroissant : La Seyne : 8,40 - Les Embiez : 8,15 - Eau de dilution : 8,03 - Côte Bleue : 7,87 - Sédiment pollué de référence : 7,79).

b) Cas de la vase. Echantillon de Vaine (étang de Berre)

Cette vase est constituée de 70 à 80 % de fractions fines (inférieures à 63 µm). Prélèvements par benne Orange Peel (2 à 3 litres) et centrifugation à 6 000 tours/min. Teneur en eau : 35 %. Récupération et conservation par congélation de l'eau interstitielle. Décongélation juste avant la réalisation des tests. Aération 30 min. (bullage). Mesure du pH : 8,44.

c) Sédiment pollué de référence

Pollution de 100 grammes de sable sec provenant de l'estuaire de la Rance (station du Prieuré) (LACAZE *et al.*, 1977) par 1 mL d'un pétrole brut arabian light (BAL) étêté à 150 °C. Elimination par distillation des composants dont les points d'ébullition sont supérieurs à 150 °C).

Le sédiment sec et pollué est étalé dans une grande boîte de Pétri puis déposé dans un réacteur photochimique. Celui-ci est équipé d'une batterie de 5 lampes OSRAM L 20 W70 émettant uniquement dans l'ultraviolet. De même que pour le spectre solaire il n'y a pas d'émission au-dessous de 300 nm. Cette technique d'irradiation est décrite par VERDU *et al.*, (1984) et DUCREUX et LACAZE (1987). Après 96 heures d'irradiation le sédiment pollué est traité comme dans le cas du sable (cf. a)

2-5 Analyse chimique

Elle porte sur le sédiment de Vaine : sels nutritifs, méthode spectrophotométrique ; métaux lourds, dosages polarographiques ; hydrocarbures totaux (infrarouge). Résultats (cf. tableau 1).

Tableau 1.- Analyse chimique de l'eau interstitielle du sédiment Vaine (22/10/86).

Table 1.- Chemical analysis of interstitial water from the Vaine sediment (22/10/86)

SELS NUTRITIFS	
Nitrates	14,8 μ atg.N.L. ⁻¹
Ammonium	708 μ atg.N.L. ⁻¹
Ortho-phosphates	80,8 μ atg.N.L. ⁻¹
CHLOROSITE	12,3 %
HYDROCARBURES TOTAUX	11,3 mg.L. ⁻¹
METAUX LOURDS	
Zinc	23,7 μ g.L. ⁻¹
Plomb	50,9 μ g.L. ⁻¹
Cadmium	Non décelable (1)

(1) Seuil de détection = 0,20 μ g.L.⁻¹

3 - RÉSULTATS

3-1 Eau interstitielle du sédiment Vaine (Etang de Berre)

On note des réductions de 90 % de la production larvaire et de 35 % de la consommation de *P. tricornutum* par *T. brevicornis* après 96 heures de séjour dans de l'eau interstitielle (figures 1 et 2) ; les réductions sont respectivement de 68 % et 6 % dans le cas de dilutions de moitié.

L'étude cinétique du broutage effectuée pour cette localité de Vaine nous indique que la diminution de consommation par rapport aux témoins est peu importante le premier jour ; par contre, les copépodes ne se nourrissent plus après 48 heures (figure 3).

3-2 Eaux de lessivage des sédiments Embiez, La Seyne et Côte Bleue

Les résultats portés sur les figures 1 et 2 indiquent des réductions de la production larvaire et de la consommation de *P. tricornutum* par *T. brevicornis* par rapport aux témoins pour tous les sédiments étudiés.

Dans le cas de la consommation d'algues cette réduction varie de 19 % (Les Embiez) à 29 % (Côte Bleue) ; elle est donc du même ordre pour tous les échantillons. Nous notons pour la station Côte Bleue une réduction de 29 % ce qui est inattendu puisque il s'agit là d'une localité en principe non concernée par la pollution ; on retrouve ici, en fait, la même anomalie que pour le "test photosynthèse" pratiqué sur les mêmes sites (LACAZE, 1987).

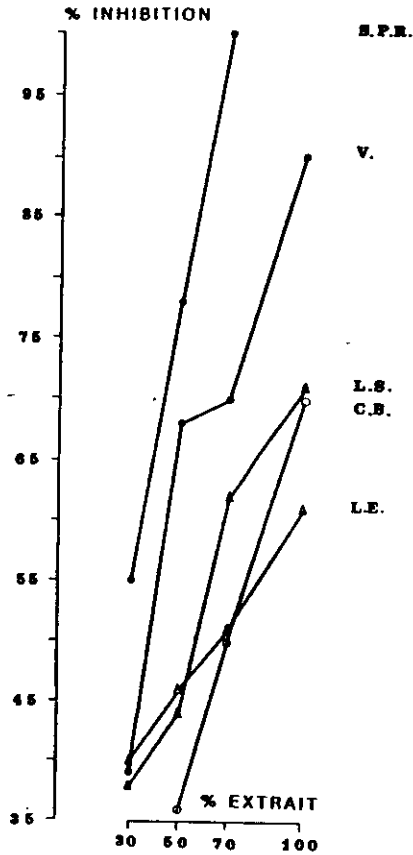


Figure 1.- Toxicités comparées dans le cas du test production larvaire. Les résultats sont exprimés en % d'inhibition en fonction du degré de dilution.

Figure 1.- Comparative toxicities resulting from a larval production test. The results are expressed in % of inhibition as a function of the degree of dilution.

S.F.R. : Sédiment pollué de référence ; V. : Vaine ; L.S. : La Seyne ; C.B. : Côte Bleue ; L.E. : Les Embiez.

S.P.R. : Reference polluted sediment ; V. : Vaine ; L.S. : La Seyne ; C.B. : Côte-Bleue ; L.E. : Les Embiez.

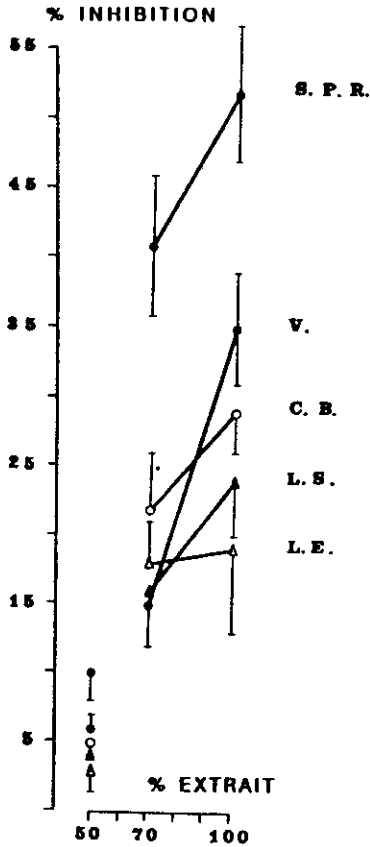


Figure 2.- Toxicités comparées dans le cas du test consommation d'algues. Les résultats sont exprimés en % d'inhibition en fonction du degré de dilution. Les lignes verticales représentent l'intervalle de confiance pour $p < 0,05$; $n = 4$.

Figure 2.- Comparison of toxicities resulting from the algal test consumption. The results are expressed in % of inhibition as a function of the degree of dilution. Vertical lines represent the confidence interval for $p < 0,05$; $n = 4$.

S.P.R. : Sédiment pollué de référence ; V. : Vaine ; L.S. : La Seyne ; C.B. : Côte Bleue ; L.E. : Les Embiez.

S.P.R. : Reference polluted sediment ; V. : Vaine ; L.S. : La Seyne ; C.B. : Côte-Bleue ; L.E. : Les Embiez.

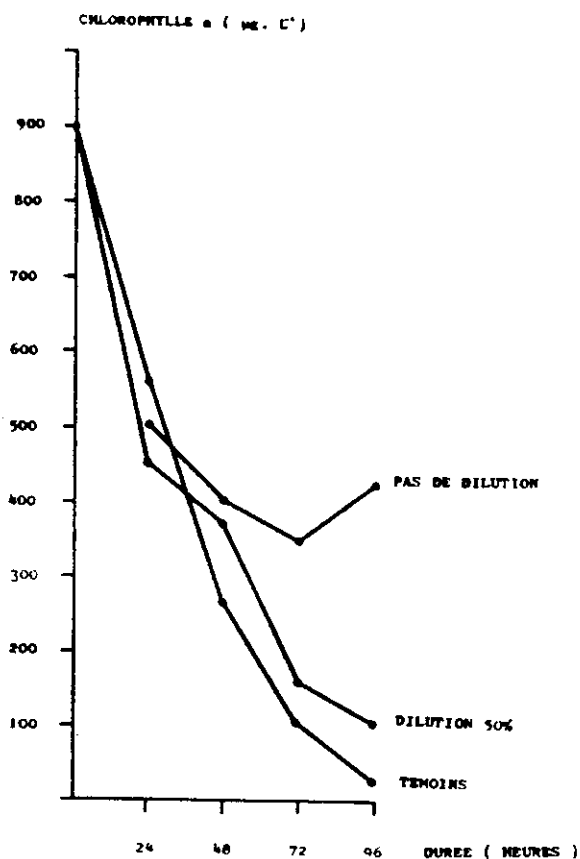


Figure 3.- Effets de l'eau interstitielle du sédiment Vaine (Etang de Berre) sur la consommation de *P. tricornutum* par *T. brevicornis* en fonction du temps de contact. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g.L}^{-1}$ de chlorophylle *a*.

Figure 3.- Effects of the interstitial water of sediment from Vaine (Etang de Berre) on the consumption of *P. tricornutum* by *T. brevicornis* as a function of time of contact. The results are expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ of chlorophyll *a*.

La production larvaire présente par contre une réduction qui varie de 61 % (Les Embiez) à 70 % (La Seyne et Côte Bleue).

Le sédiment pollué de référence (pétrole photooxydé), pour des dilutions de moitié, réduit de 78 % la production larvaire et de 10 % la consommation d'algues (figures 1 et 2).

4 - DISCUSSION

La cause des réductions de la production larvaire et du broutage correspond à l'action simultanée de plusieurs polluants, certains étant déterminés par dosage, d'autres restant inconnus. A cette action s'ajoute celle des produits de dégradation. Dans la présente étude c'est donc l'action conjointe de l'ensemble de ces altéragènes qui est responsable des nuisances observés.

Si l'évaluation de telles toxicités globales est d'un intérêt certain pour la surveillance de l'environnement, il est difficile, voire impossible de déterminer la cause exacte des effets observés. Néanmoins, les analyses chimiques réalisées pour l'eau interstitielle du sédiment de Vaine nous permettent de fournir, pour cette station, quelques éléments d'explication.

Les données portées sur le tableau 1 nous indiquent des concentrations de 23,7 et 50,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour le zinc et le plomb. Récemment, lors d'une étude portant sur la toxicité de mélanges d'hydrocarbures aromatiques nous avons utilisé $\text{SO}_4 \text{ Zn } 7 \text{ H}_2\text{O}$ comme polluant de référence (LACAZE et DUCREUX, 1987) ; les conditions expérimentales étant très proches de celles que nous utilisons ici. Pour 2 mg.L^{-1} de $\text{SO}_4 \text{ Zn}$ l'alimentation est normale durant 24 heures ; après ce laps de temps les copépodes ne se nourrissent plus. Avec 0,5 mg.L^{-1} on note une diminution du broutage de 10 % après 96 heures. Des données concernant la toxicité de ce polluant établies par le laboratoire des effets biologiques des nuisances de l'IFREMER (Nantes) à partir du même organisme et pour d'autres paramètres (tests létaux 96 heures, production de larves après 12 jours) nous permettent de comparer les sensibilités respectives des différents paramètres et nous fournissent des informations supplémentaires sur la toxicité du zinc ; ainsi pour 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ l'on décèle une légère diminution de la production larvaire (LASSUS *et al.*, 1984).

La concentration en zinc, considérée isolément n'est donc pas suffisante pour provoquer les effets décrits plus haut. Doit-on imputer les hydrocarbures ?

Les hydrocarbures étant dosés globalement, il est impossible de déterminer les composés responsables d'une éventuelle toxicité. Cela dit, la toxicité dépendra des types de composés présents et de l'état physico-chimique des hydrocarbures (LACAZE, 1980). Une étude antérieure (LACAZE et DUCREUX, 1987) nous indique que 1,78 mg.L^{-1} d'un mélange hydrosoluble d'hydrocarbures aromatiques légers et volatils (chaque composé étant déterminé et dosé) bloque totalement la consommation d'algues. Pour 1 mg.L^{-1} l'alimentation partiellement inhibée pendant les premières 48 heures est ensuite complètement stoppée. Enfin, pour 0,35 mg.L^{-1} on note une diminution de 27 % du "broutage" après 96 heures. Toutefois, l'expérimentation nous indique qu'ici les hydrocarbures semblent se présenter sous forme de microémulsions - les composés volatils étant éliminés lors de "l'aération" - or, les copépodes harpacticoïdes sont généralement résistants aux hydrocarbures pétroliers présents sous cette forme (DALLA VENEZIA et FOSSATO, 1977), dans ce cas, il est habituel de noter que de fortes concentrations correspondent à de faibles toxicités. On ne doit donc pas conclure hâtivement et déterminer un rôle pour les 11,3 mg.L^{-1} d'hydrocarbures trouvés dans l'eau interstitielle de Vaine, il conviendrait de réaliser une analyse plus détaillée.

Les résultats obtenus dans la présente étude nous indiquent une plus grande sensibilité du test production larvaire qui, de ce fait, permet de mieux différencier les toxicités des eaux étudiées ; ainsi les pourcentages d'inhibition dans le cas du test production larvaire s'échelonnent de 35 à 100 % (figure 1) alors qu'ils varient de 5 à 55 % pour le test consommation d'algues (figure 2). Le test production larvaire nous permet donc de classer les sédiments selon leur qualité écologique ; on note ainsi par ordre des toxicités décroissantes : sédiment pollué de référence, Vaine, La Seyne et Côte Bleue (pour ces 2 stations toxicités du même ordre), les Embiez.

Ce test permet de détecter de façon rapide la présence d'altéragènes dans les sédiments ; reproductible et peu coûteux, il complète avantageusement les analyses chimiques classiques beaucoup trop restrictives ; appliqué aux zones sédimentaires estuariennes, associé à d'autres tests dont certains réalisés avec des producteurs primaires (LACAZE, 1987) il devrait contribuer à établir un indice de qualité des sédiments basé sur l'expérimentation. Cet indice, allié aux indices déjà existants (WILSON *et al.*, 1987) pourrait apporter une plus grande précision pour l'évaluation de la qualité écologique des estuaires.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat passé entre le ministère de l'Environnement et l'Institut océanographique (Laboratoire de Physiologie des Etres marins). Nous sommes redevables à A. ARNOUX et C. DIANA (Laboratoire d'Hydrologie, Faculté de Pharmacie, Marseille) qui ont effectué les prélèvements Vaine (Etang de Berre) et les analyses chimiques. Nous remercions également G. MILLE (Centre de spectroscopie moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme, Marseille) pour les autres prélèvements effectués sur la côte méditerranéenne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARNOUX A., STORA G., DIANA C. (1986). *In situ* experimental study of the evaluation and recolonization of polluted sediments. *Mar. Pollut. Bull.*, 16(8): 313-318.
- BARNIER M. (1984). Evaluation des hydrocarbures dans les sédiments. Bassins expérimentaux de biodégradation (Iles des Embiez). D.E.A. d'Ecologie Méditerranéenne.
- DALLA VENEZIA L., FOSSATO V.U. (1977). Characteristics of suspensions of Kuwait Oil and Corexit 7664 and their short and long-term effects on *Tisbe bulbisetosa* (copepoda : Harpacticoida). *Mar. Biol.*, 42: 233-237.
- DUCREUX J., LACAZE J.C. (1987). Phytotoxicité des hydrocarbures aromatiques et des composés d'oxydation hydrosolubles après photooxydation d'un pétrole brut. *Sci. Eau*, 6: 179-194.
- FALCHIER M., LASSUS P., BARDOUIL M., LE DEAN L., TRUQUET P., BOCQUENE G. (1982). Sensibilité thermique d'un copépode harpacticoidé ; *Tigriopus brevicornis* Müller. *Rev. trav. Inst. pêches marit.*, 45(2): 141-153.

- LACAZE J.C. (1980). *La pollution pétrolière en milieu marin. De la toxicologie à l'Ecologie*. Masson ed., Ecologie appliquée et Sciences de l'environnement. 120 p..
- LACAZE J.C. (1987). Evaluation du degré de pollution des sédiments marins au moyen d'un test sublétal, l'effet sur l'activité photosynthétique de l'algue planctonique *Phaeodactylum tricoratum* mesurée par assimilation de 14 C. *Compt. Rend. Hebđ. Séances Acad. Sci.*, Paris, 305, série III: 515-520.
- LACAZE J.C., VILLEDON DE NAÏDE O., JOSEPH-GENEVET M., LE PEMP X. (1977). Influence de l'horizon de résurgence sur la production primaire de deux plages du golfe de Saint-Malo. *Ann. Inst. Oceanogr.*, Paris, 53(2): 203-216.
- LACAZE J.C., DUCREUX J. (1987). Toxicité des extraits aromatiques hydrosolubles issus de 2 pétroles et d'une coupe pétrolière. Effets sur l'activité photosynthétique de la diatomée *Phaeodactylum tricoratum* et sur l'ingestion de cette algue par le copépode *Tigriopus brevicornis*. *Sci. Eau* 6: 415-433.
- LASSUS P., LE BAUT C., LE DEAN L., BARDOUIL M., TRUQUET P., BOCQUENE G. (1984). *The use of harpacticoid copepods for testing the effects of chemicals on larval production. Ecotoxicological testing for the marine environment*. PERSOONE G., JASPERS E., CLAUS C. eds. State Univ. Ghent and Inst. Mar. Scient. Res. Bredene, Belgium, 2: 131-142.
- LE DEAN L., MARCAILLON - LE BAUT C. (1984). Test d'inhibition de développement d'un microcrustacé marin. Laboratoire effets biologiques des nuisances. IFREMER, Nantes, Rapport : 9 p..
- LESQUEF A., BELAMIE R., MONTIEL A. (1979). Un indicateur de pollution à mémoire. L'analyse des métaux dans les sédiments de rivière. *J. Fr. Hydrol.*, 10(3): 165-172.
- LORENZEN C.J. (1967). Détermination of chlorophyll and Pheopigments : spectrometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 343.
- MEARNS A.J., SWARTZ R.C., CUMMINS J.M., DINNELL P.A., PLESHA P., CHAPMAN P.M. (1986). Inter-Laboratory Comparison of a sediment Toxicity Test Using the Marine Amphipod, *Rhepoxynius*. *Mar. Envir. Res.*, 19: 13-37.
- MILLE G., DOU H., CRISTIANI G., GUISTI G. (1981). Hydrocarbures présents dans des sédiments côtiers superficiels méditerranéens. I : Etude qualitative et quantitative fine. *Environ. Pollut.*, Série B, 2: 437-450.
- MILLE G., GUILIANO M., DOU H. (1983). Etude par spectroscopie de fluorescence U.V. des variations saisonnières du contenu en hydrocarbures aromatiques polycycliques de sédiments côtiers superficiels méditerranéens (Côte-Bleue, Bouche-du-Rhône). *Vie Marine*, 5: 57-62.
- VERDU J., THOMINETTE F. (1984). Photo-oxidative behaviour of crude oils relative to sea pollution. Part I : Comparative study of various crude oils and model systems. 91-104. Part II : Photo-induced phase separation. 105-115. *Mar. chem.*, 15.
- WILSON J.G., DUCROTOY J.P., DESPREZ M., ELKAIM B. (1987). Application d'indices de qualité écologique des estuaires en manche centrale et orientale. Comparaison de la Seine et de la Somme. *Vie Milieu*, 37(1): 1-11.