

Toxicité des sédiments du bassin versant du Stang Alar déterminée par une batterie de bio-essais

Stéphane Naudin, Michel Pardos et Françoise Quiniou

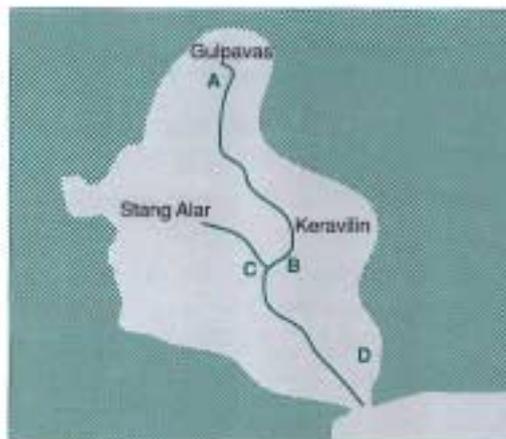
Plusieurs études ont concerné, ces dernières années, la qualité des eaux du Stang Alar localisé à l'Est de la commune de Brest (figures 1 et 2). Ce petit cours d'eau possède avec son affluent le Keravilin, un bassin versant de 650 hectares, composé d'une zone très urbanisée au nord-ouest, une zone industrielle au nord, une zone agricole à l'est et une zone pavillonnaire au sud-ouest.

Un bilan initial de la qualité des eaux du Stang Alar a été effectué en 1993, à la fois au niveau physico-chimique et bactériologique ; complété par un diagnostic des communautés d'invertébrés *in situ*. D'après cette étude, une importante perturbation d'origine chimique et bactériologique s'exerce sur le Stang Alar du fait de problèmes d'assainissement (eaux domestiques et pluviales) et à cause de ruissellements liés aux pratiques agricoles, aux activités industrielles et à la circulation automobile (Bernier, 1993 ; Patris *et al.*, 1995). A l'échelle régionale, le cas de ce ruisseau s'ajoute aux apports contaminés d'autres cours d'eau qui contribuent à altérer l'écosystème marin de la rade de Brest.

Afin de contribuer au suivi de la qualité des eaux du Stang Alar, nous avons réalisé un certain nombre de bio-essais sur des échantillons de sédiment en condition de laboratoire. Ce substrat est considéré comme un indicateur pertinent du degré de contamination du milieu, car il a tendance à se charger en contaminants organiques et inorganiques à partir de l'eau circulante. Ceci est lié aux propriétés fixatrices des argiles et de la matière



◀ Figure 1. - Localisation de la zone d'étude



◀ Figure 2. - Emplacement des sites prélevés

organique (Golterman *et al.*, 1983). De cette manière, les sédiments peuvent garder les traces d'une pollution hydrique ancienne. De plus, même lorsque la pollution circulante a été maîtrisée, le lessivage des sédiments par percolation peut transférer des contaminants à la colonne d'eau et aux nappes profondes (Bouché, 1993).

Nous avons effectué une analyse chimique et biologique de sédiments prélevés en quatre sites (A, B, C et D) sur le Stang Alar et le Keravilin (figure 2).

Stéphane Naudin
Laboratoire d'Ecotoxicologie
Cemagref
3 bis, quai Chauveau
69336 Lyon Cedex 09

Michel Pardos
Institut F.-A. Forel
10, route de Suisse
1290 Versoix, Suisse

Françoise Quiniou
Laboratoire d'Ecotoxicologie
IFREMER
B.P. 70
29280 Plouzané

Le choix des espèces bio-indicatrices que nous avons utilisées a été guidé par les considérations suivantes (Pardos et al., 1994).

- la nécessité d'utiliser des organismes de niveaux d'organisation différents, pour favoriser la mise en évidence de composés toxiques ayant des mécanismes d'action spécifiques (inhibition de la photosynthèse par exemple),
- le souhait de prendre en compte plusieurs voies d'exposition des organismes aux substances toxiques potentielles : contact avec le sédiment, ingestion du sédiment, exposition à l'eau (eau surnageante ou extrait aqueux),
- la nécessité de mettre en évidence un impact écotoxicologique aigu (comme le test bactérien) et subchronique (l'essai sur l'éclosion et la survie d'un poisson par exemple),
- la nécessité de travailler avec des tests standardisés pour permettre une comparaison avec les données de la littérature.

Les bio-essais retenus ont porté sur :

- l'assimilation de carbone (activité photosynthétique) d'une monoculture algale (*Selenastrum capricornutum*) et d'une population de phytoplancton naturelle, prélevée dans le lac de Genève,
- l'inhibition de la bioluminescence de la bactérie *Photobacterium phosphoreum* (test Microtox®),
- la survie et la croissance du microcrustacé *Daphnia magna*,
- le développement embryonnaire de l'huître *Crassostrea gigas* (milieu marin),
- le développement embryo-larvaire du poisson d'eau douce *Brachydanio rerio* (ou danio zébré).

En vue d'évaluer le potentiel toxique de sédiments, les essais utilisables peuvent porter sur le sédiment entier, l'eau interstitielle, les extraits aqueux et organiques ; chaque protocole ayant ses avantages et ses limites (Bouché, 1993).

Pour notre étude, deux approches ont été adoptées : le contact direct des organismes avec le sédiment (sauf pour les essais sur algues) et leur exposition à un extrait aqueux, afin de préciser le potentiel toxique en relation avec le relargage de contaminants dans le cas d'une remise en suspension des sédiments (lors d'une crue par exemple).

Matériel et méthodes

■ *Echantillons*

Des échantillons de sédiment superficiel (1 à 2 cm) du Stang Alar et du Keravilin ont été prélevés au mois de Juin 1994 en quatre sites comme représenté sur la figure 2 et conditionnés en flacon de verre, protégés de l'air par une pellicule d'eau. Les récipients sont fermés hermétiquement et conservés dans une glacière maintenue à basse température. Ces précautions sont destinées à limiter les transformations chimiques (e.g. oxydation, photolyse) et la biodégradation des composés potentiellement toxiques des échantillons.

Au laboratoire, chaque échantillon est tamisé (éliminations des débris et invertébrés de taille > 2mm), homogénéisé puis reconditionné en flacon de verre et enfin conservé à environ 4°C et à l'obscurité. Dans ces conditions, le stockage est limité à une semaine pour les essais sur sédiment entier et à 15 jours pour les essais sur extraits aqueux.

L'extrait aqueux est préparé à partir d'eau minérale « Volvic » qui possède des caractéristiques minérales compatibles avec les exigences de nos organismes d'essai d'eau douce. La méthode d'extraction consiste à mélanger une part volumétrique de sédiment humide avec quatre parts d'eau de Volvic. Le mélange est agité pendant une heure puis laissé à décanter pendant deux heures. Le surnageant est alors centrifugé à 2 000 g pendant 20 minutes. Le nouveau surnageant obtenu est filtré à 0,45 µm et employé tout de suite ou conservé à environ 4°C quelques heures jusqu'à la mise en oeuvre des bio-essais (U.S. EPA/corp. of engineers, 1977).

■ *Analyses physico-chimiques*

Simultanément aux prélèvements de sédiment, des échantillons d'eau de surface sont prélevés sur chacun des sites de manière à déterminer les paramètres physico-chimiques suivants : pH, conductivité, COT, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺. Sur chaque échantillon de sédiment, le poids sec est déterminé par séchage à l'étuve (24 h à 105°C). Une analyse de la matière organique par calcination (60 mn à 550°C), du phosphore total (PT) et du phosphore inorganique non apatitique (PINA, correspondant à la fraction biodisponible du phosphore) selon la méthode de Williams et al. (1976) est également réalisée.

La distribution granulométrique des sédiments est mesurée à l'aide d'un granulomètre à laser. Les

métaux lourds (Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) sont dosés par spectrométrie d'émission atomique à couplage inductif, après minéralisation des échantillons.

■ Bio-essais

Les organismes d'essai décrits dans ce paragraphe ont été exposés à différentes dilutions d'extrait aqueux ou de sédiment (i.e. quantité variable de sédiment pour un volume fixe de milieu). Les milieux ne sont pas renouvelés au cours des essais.

Essai sur l'activité photosynthétique algale

Du phytoplancton est prélevé au niveau d'une station de référence du lac Léman en filtrant des échantillons d'eau issus d'une profondeur allant de 0 et 10 mètres. Un tamisage à 20 microns permet de ne retenir que le nanoplancton, considéré comme la fraction la plus sensible aux effets toxiques. Une culture d'algue *S. capricornutum* est également utilisée pour ce test selon les recommandations de l'U.S. EPA (1989).

L'activité photosynthétique de ces algues en présence d'extrait aqueux est mesurée par l'intermédiaire de leur assimilation de carbone-14 (Fitzwater et al., 1982). Le carbone assimilé à la fin de la période d'incubation peut être évalué à partir des quantités de carbone inorganique dissous (carbone-12 disponible) et de carbone-14 ajouté à la solution.

Les algues phytoplanctoniques sont exposées durant 4 heures à l'échantillon à tester (extrait aqueux) avant la mesure (Santiago et al., 1993). Pour la monoculture, le traceur est présent sur la même durée mais après 20 heures d'exposition, ceci pour compenser sa moindre sensibilité.

Test Microtox

Cet essai, développé initialement par Bulich et al. (1981) pour évaluer la toxicité de substances chimiques, a été adapté pour estimer la toxicité de sédiment (technique de la « phase-solide » décrite par Microbics Corporation en 1992) ou de leurs extraits aqueux (Schieve et al., 1985).

Essai sur le développement embryonnaire de l'huître creuse

Les stades précoces des bivalves marins sont bien connus pour leur très grande sensibilité aux substances toxiques, telles que les pesticides, les détergents, les métaux lourds, les phytotoxines ou les

effluents industriels (Davis et Hidu, 1969 ; Martin et al., 1981 ; Beiras et His, 1994).

La toxicité de sédiments ou d'extraits aqueux est évaluée en déterminant le pourcentage de larves « D » anormales obtenues après une incubation d'œufs fécondés durant 24 heures dans les milieux à tester. Une larve est normale lorsque sa coquille a la forme régulière d'un « D » et qu'elle peut contenir l'animal entier lors de la fermeture des valves. Les résultats sont exprimés en Pourcentage Net d'Anomalies (PNA).

$$\text{PNA} = \frac{\% \text{ larves anormales dans l'essai} - \% \text{ larves anormales dans témoin}}{100 - \% \text{ larves anormales dans témoin}} \times 100$$

Essai sur la survie et la croissance d'un microcrustacé

Cet essai consiste à mesurer la toxicité d'un mélange eau/sédiment ou d'un extrait aqueux vis-à-vis de jeunes daphnies (âgées de moins de 24h). Les critères de toxicité relevés sont la survie et le taux de croissance à la fin des 72 heures d'exposition. Les mortalités sont enregistrées quotidiennement. Au terme de l'essai, les daphnies survivantes sont récupérées et mesurées individuellement (du sommet de la tête à la base de l'épine caudale). Dans le cas de l'exposition au sédiment entier, aucune nourriture n'est apportée, les organismes se nourrissant à partir de particules en surface du sédiment ou en suspension. Par contre lors des essais sur extraits aqueux, des algues (chlorelles) en quantités définies sont ajoutées quotidiennement aux milieux.

Essai sur le développement embryon-larvaire d'un poisson

L'essai embryon-larvaire sur le danio zébré repose sur la mesure des taux d'éclosion et de survie larvaire (Dave et al., 1987). Il peut être adapté à l'évaluation de la charge toxique des sédiments en s'inspirant du protocole de Dawson et al. (1988) développé sur une autre espèce de cyprinidé, le vairon tête-de-boule. La toxicité d'un mélange eau/sédiment ou d'un extrait aqueux est évaluée à partir du stade embryonnaire sur une durée de sept jours sans nourrissage des larves. Les œufs « blancs » (œufs non-fécondés ou embryons morts) qui apparaissent après 24 heures d'incubation sont comptabilisés et éliminés.

Résultats et discussions

De manière à pouvoir comparer tous les résultats, ceux-ci ont été exprimés en gramme de sédiment sec par litre. Pour les essais sur extraits aqueux, ces résultats tiennent compte du pourcentage d'extrait ajouté et de la quantité de sédiment extraite.

■ Résultats des analyses physico-chimiques

Analyse de l'eau superficielle

L'analyse des eaux de surface (tableau 1) indique une qualité relativement bonne. On relève néanmoins des teneurs en nitrate et en carbone organique total importantes. Ces dernières peuvent avoir pour origine la présence d'algues à l'époque du prélèvement (mi-juin) ou bien une teneur élevée en acides humiques. Le prélèvement d'eau a été effectué après une période relativement sèche ce qui peut expliquer la quasi uniformité des valeurs mesurées sur les différents sites.

Tableau 1. - Analyses physico-chimiques des eaux de surface prélevées sur les différents sites (valeurs exprimées en mg/l) ►

Site	A	B	C	D
pH	7,7	6,4	6,4	7,3
Conductivité (µS/cm)	250	306	301	314
COT	6,80	5,65	5,25	5,95
PO ₄ ³⁻	0,06	0,06	0,06	0,06
NO ₂ ⁻	0,03	0,07	0,07	0,30
NO ₃ ⁻	31,5	36,0	29,0	45,0
NH ₄ ⁺	0,02	0,03	< 0,02	0,02
NH ₃	3,4x10 ⁻⁴	2,6x10 ⁻⁵	< 1,7x10 ⁻⁵	1,4x10 ⁻⁴

Analyse du sédiment

La distribution granulométrique des différents sédiments est relativement proche (tableau 2). Les particules les plus fines sont trouvées en D et les plus grossières en B.

Les teneurs en matière organique sont homogènes entre les sédiments avec un maximum de 11,4 % pour le site C.

Il sera donc possible de comparer directement les toxicités et les contaminations mesurées sur les différentes stations échantillonnées, sans tenir compte de l'influence de la granulométrie et de la teneur en matière organique.

▼ Tableau 2. - Granulométrie et teneurs en matière organique des sédiments

Site	A	B	C	D
Moyenne (µm)	42,1	45,3	39,1	31,7
Int. conf. 95 % (µm)	32,4-54,7	34,4-59,6	29,9-51,2	24,4-41,3
Médiane (µm)	47,2	51,8	42,8	34,9
Mat. org. %	9,0	9,8	11,4	9,2

Int. conf. 95 % : intervalle de confiance 95 %

Mat. org. % : pourcentage de matière organique

Les résultats du tableau 3 indiquent que les sédiments les plus contaminés en métaux (C et D) sont également les plus riches en phosphore. La fraction biodisponible de ce nutriment (PINA) va de 41,4 à 43,7 % du PT pour les sites A, B et C et est de 57,3 % pour le sédiment D.

▼ Tableau 3. - Teneurs (exprimées par rapport au poids sec) en métaux lourds et phosphore des sédiments étudiés

Site	A	B	C	D	Valeur réf.
Cu (mg/kg)	24	32	180	70	20
Pb (mg/kg)	47	79	395	138	20
Zn (mg/kg)	212	260	1294	497	75
Ni (mg/kg)	30	27	43	30	10
Cr (mg/kg)	38	39	57	38	25
PT (mg P/kg)	556	848	1791	1248	-
PINA (mg P/kg)	230	367	783	715	-

Valeur réf. : valeurs de référence pour les sédiments d'après l'Office International de l'Eau (1993)

PT : phosphore total

PINA : phosphore inorganique non apatitique

D'après les valeurs de référence en métaux des sédiments (Office International de l'Eau, 1993), les dépôts montrant un facteur de contamination (valeur mesurée/valeur référence) supérieur à 6 sont :

- le site C pour le Pb (19,8), le Zn (17,3) et le Cu (9),
- le site D pour le Pb (6,9) et le Zn (6,6).

Ces niveaux de contamination élevés, particulièrement pour le Pb, Zn et Cu sont à mettre en rapport avec les concentrations métalliques de la colonne d'eau lors d'épisodes pluvieux. Par exem-

ple, Parris et al. (1995) ont mesuré des valeurs en Zn de 3 200µg/l, en Pb de 141µg/l et en Cu de 134µg/l lors d'un événement pluvieux le 6/12/94.

Ces analyses permettent de classer les sédiments selon un ordre de contamination croissant de la façon suivante : A ≅ B < D < C

Résultats des bio-essais

L'amplitude des réponses mesurées au terme des différents essais a été inférieure à 50 % dans la plupart des cas. Ce critère (50 % d'effet) n'a donc pas pu être retenu. Les résultats des essais sur daphnie et poisson ont été exprimés sous forme de CMEO (Concentration Minimale avec Effect Observé) soit la plus faible concentration en sédiment qui provoque un effet inhibiteur significatif par rapport au témoin (déterminé statistiquement à l'aide de tests d'hypothèses).

Pour les autres essais et en considérant la variabilité naturelle des réponses mesurées, une toxicité potentielle a été attribuée au niveau d'effets suivants :

- bactérie (Microtox) : si inhibition ≥ 15 %,
- *S. capricornutum* et phytoplancton : si inhibition ≥ 10 %,
- huître : si PNA ≥ 10 %.

Les informations du tableau 4 montrent que lorsque les organismes sont en contact direct avec le sédiment, les effets qu'ils subissent apparaissent plus importants que lorsqu'ils sont exposés aux extraits aqueux des échantillons. Pour le test Microtox, ces résultats sont confirmés par Brouwer et al. (1990) qui préconise la méthode d'exposition directe au sédiment entier, plus sensible aux composés hydrophobes qui ne seraient mobilisés que dans une faible proportion lors de l'extraction aqueuse. De plus, les contaminants solubilisés sont alors généralement présents en doses beaucoup plus faibles que dans les sédiments, et peuvent ne pas être sous leur forme la plus biodisponible. Néanmoins, l'extraction aqueuse permet d'évaluer la charge des sédiments en substances toxiques susceptibles d'être solubilisées lors d'une remise en suspension des particules.

Les niveaux de réponse sont très différents d'un essai à l'autre avec parfois des réponses pour un ou deux sites seulement et à des concentrations en sédiment importantes (essais sur les poissons en contact direct ou sur les algues). Aucun effet n'est mis en évidence pour les daphnies (dans la gamme de concentration testée) quel que soit le

Essai	Site				
	A	B	C	D	
Sédiment entier	bactérie	48,7	5,1	1,2	0,58
	huître	1,6	1,35	1,15	0,12
	daphnie	> 55,6	> 44,2	> 60,7	> 54,8
	poisson	> 55,6	> 44,2	15,17	> 54,8
Extrait aqueux	bactérie	34,7	32,3	27,6	27,8
	huître	> 11,6	> 10,78	2,3	> 9,28
	daphnie	> 83,1	ND	> 73,6	> 68,4
	poisson	> 83,1	ND	> 73,6	> 68,4
	monoculture algale	> 89,5	> 76,4	60,7	> 44,4
	phytoplancton	> 42,6	> 36,4	28,9	31,7

Les valeurs de CMEO sont exprimées en gramme de sédiment sec par litre ; rappelons que plus la CMEO est faible, plus la toxicité est importante. ND : non déterminés

▲ Tableau 4. - Synthèse des résultats exprimés en grammes de sédiment sec/litre

type d'exposition employé. A l'inverse, les bactéries et les huîtres ont été perturbées à de faibles teneurs en contact direct des sédiments.

La sensibilité des bio-essais est une qualité nécessaire mais pas suffisante pour l'évaluation du degré de nocivité des échantillons. L'aptitude à différencier des niveaux de toxicité relativement proches est aussi indispensable pour toute analyse. Sur sédiment entier, les huîtres apportent les réponses les plus sensibles mais avec une moins bonne discrimination que les bactéries du système Microtox. Sur extrait aqueux, les bio-essais paraissent, dans l'ensemble, moins discriminants.

La faible discrimination entre les sites, obtenue avec la mesure de l'activité photosynthétique des algues, peut correspondre à la présence de teneurs importantes de phosphore biodisponible, particulièrement pour les sites C et D. Ce nutriment a pu agir sur les algues de façon antagoniste aux éléments toxiques présents.

Les essais avec embryons de poisson et sur monoculture algale, révèlent la toxicité de l'échantillon du site C, mais ne permettent pas de discriminer A, B et D.

L'analyse globale des résultats regroupés dans le tableau 4 fait ressortir deux groupes de sites : C et D présentant une toxicité supérieure à A et B.

Il est intéressant de constater que cet ordre est quasiment le même que celui obtenu sur la base du degré de contamination de ces mêmes échantillons par certains métaux lourds et le phosphore. Les dosages de micropolluants organiques sur ces échantillons sont toutefois défaut et il n'est donc pas possible de proposer une interprétation sûre des causes de toxicité.

Une autre méthode d'évaluation a apporté des résultats que l'on peut confronter à celles de nos bio-essais. Il s'agit des résultats de l'analyse *in situ* des peuplements d'invertébrés effectuée en 1993 sur les sites B, C et D (Bernier, 1993). Cette étude classait les sites par ordre de perturbation croissante : $B < C \leq D$.

Conclusion

En complément des analyses physico-chimiques des sédiments (teneur en matière organique, métaux lourds et phosphore), la batterie de bio-essais mise en place a permis de mettre en évidence le degré de contamination et la toxicité des sédiments du Stang Alar, supérieur à ceux de son affluent, le Keravilin. Cette contamination est due aux métaux lourds (surtout le zinc et le plomb), à des produits organiques vraisemblablement (Patris *et al.*, 1995) et aux nutriments ; le phosphore en particulier faisant peser un risque d'eutrophisation sur les deux ruisseaux. Même si par temps sec l'eau circulante peut être de qualité correcte (sauf au niveau bactériologique), les sédiments gardent la trace des forts niveaux de contaminations (polluants, nutriments) qui sont véhiculés par temps de pluie. Cette situation n'est pas surprenante étant donné les types de milieux traversés par

les deux cours d'eau et les problèmes d'assainissement qui touchent surtout le Stang Alar. Une amélioration du réseau d'assainissement, le traitement des exutoires et des eaux pluviales devraient permettre de diminuer le flux des contaminants, de réduire la toxicité des sédiments des deux cours d'eau, et également de limiter les apports vers le milieu marin.

Dans le cadre d'une étude pilote orientée sur l'analyse de l'efficacité de l'épuration des eaux pluviales, un suivi écotoxicologique serait un complément tout à fait approprié. Un diagnostic régulier des sites, à l'aide d'une batterie de bio-essais réduite, permettrait de rendre compte de l'évolution de la toxicité des polluants biodisponibles présents dans les sédiments du Stang Alar. Cette batterie pourrait reposer sur le test *Microtox* sur sédiment entier, et la mesure de la photosynthèse algale sur extrait aqueux. Ces mesures permettraient d'évaluer la charge toxique et eutrophisante contenue dans les sédiments.

Des travaux complémentaires sont en cours, pour apprécier la contamination des différents sites à l'aide des mêmes organismes exposés à des extraits organiques des sédiments. Ce type d'extraction permet une évaluation précise des teneurs en polluants hydrophobes. Bien que sa signification écologique soit discutable, elle contribue avec les autres méthodes d'exposition à une compréhension de la nature des contaminants présents dans les échantillons (Pardos *et al.*, 1994).

Remerciements : Nous remercions pour leur aide et leur collaboration : Jeanne Garric, Christophe Benninghoff, Antoine Judas et Nicolas Damée.

Résumé

La toxicité de sédiments provenant de deux ruisseaux du bassin versant du Stang Alar, exposés à diverses contaminations, a été testée par un ensemble de bio-essais aigus et chroniques en eau douce et en eau de mer. Les tests en eau douce ont porté sur l'activité photosynthétique d'une culture d'algue *Selenastrum capricornutum* et d'une communauté de phytoplanctons du lac Léman, la survie du cladocère *Daphnia magna*, le développement embryolaire du poisson *Brachydanio rerio*. En eau de mer, l'activité bioluminescente de la bactérie *Photobacterium phosphoreum* a été suivie, ainsi que le développement embryonnaire de l'huître *Crassostrea gigas*.

Les sédiments du ruisseau principal se révèlent plus contaminés par le plomb et le zinc et plus toxiques que ceux de son affluent (soumis à une pollution diffuse modérée). Les essais réalisés avec les sédiments entiers témoignent d'une plus forte toxicité qu'avec leurs extraits aqueux. La comparaison des réponses biologiques indique les meilleures sensibilité et discrimination du bio-essai utilisant la bactérie.

Mots clés : Stang Alar ; batterie de bio-essais ; sédiment ; toxicité ; contamination.

Abstract

The toxicity of sediment samples taken along two streams of the Stang Alar watershed (under miscellaneous contaminations) was evaluated by several acute and chronic bioassays with freshwater and seawater organisms. Freshwater assays concerned the photosynthetic activity of an algal monoculture *Selenastrum capricornutum* and a natural phytoplankton community of lake Geneva, the survival of the cladoceran *Daphnia magna* and the embryolarval development of a fish *Brachydanio rerio*. Seawater assays were the Microtox test with the bacteria *Photobacterium phosphoreum* and an oyster *Crassostrea gigas* embryo stage test.

The sediments of the main stream showed a high contamination by lead and zinc as well as a greater toxicity compared to its tributary (under a low non-point source pollution). The toxicity was greater when the organisms were exposed to whole sediments compared to water extracts. The Microtox test led to the better sensitivity and discriminatory ability among the different bioassays.

Key words : Stang Alar ; battery of bioassays ; sediment ; toxicity ; contamination.

Bibliographie

- BEIRAS, R., HIS, E., 1994. Effects of dissolved mercury on embryogenesis, survival, growth and metamorphosis of *Crassostrea gigas* oyster larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 113 : 95-103.
- BERNIER, J.O., 1993. Etude de la qualité des eaux du Stang Alard. Institut Universitaire de Technologie de Brest - Département Biologie Appliquée. Univ. Bretagne Ouest. : 20p + 5 Annexes.
- BOUCHE, M.L., 1993. Rapport de stage de 6ème année « Industrie ». Agence de l'eau Rhin-Meuse - Groupe Ecotoxicologie. 93 pages.
- BROUWER, H., MURPHY, T., MC. ARDLE, L. A., 1990. A sediment-contact bioassay with *P. phosphoreum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9 : 1353-1358.
- BULICH, A. A., GREENE, D. L., ISENBERG, D.L., 1981. Reliability of the bacterial luminescence assay for determination of the toxicity of pure compounds and complex effluents ; In *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment : Fourth Conference*, D.R. Brabson and K.L., Dickson (eds). ASTM STP 737, American Society for Testing and Materials, Philadelphia : 338-347.
- DAVE, G., DAMGAARD, B., GRANDE, M., 1987. Ring test of an embryo-larval toxicity test with zebrafish (*Brachydanio rerio*) using chromium and zinc as toxicants. *Environ. Toxicol. Chem.*, 6 : 61-71.
- DAVIS, H. C., HIDU, H., 1969. Effects of pesticides on embryonic development of clams and oysters and on survival and growth of the larvae. *Fish. Bull.U.S.*, 67 (2) : 393-404.
- DAWSON, D.A., STEBLER, E.F., BURKS, S.L., BANTLE, J.A., 1988. Evaluation of the developmental toxicity of metal-contaminated sediments using short-term Fathead minnow and frog embryo-larval assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7 : 27-34.
- FITZWATER, S. E., KNAUER, A. K., MARTIN, J. H., 1982. Metal contamination and its effects on primary production measurements. *Limnol. and Oceanog.*, 27 : 544-551.
- GOLTERMAN, H.L., SLY, P.G., THOMAS, R.L., 1983. Techn. Papers in Hydrology 26, UNESCO. p. 231.
- MARTIN, M., OSBORN, K. E., BILLIG, P., GLICKSTEIN, N., 1981. Toxicity of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Mar. Pollut. Bull.*, 12 (9) : 305-308.
- MICROBICS CORPORATION, 1992. Microtox manual. A Toxicity Testing Handbook, Vol 2 : Detailed protocols and Vol 3 : Condensed protocols. Carsbad, A.A.
- Office International de l'Eau, 1993. Carte de la pollution par les métaux lourds ; d'après les données du Ministère de l'Environnement ; Direction de l'Eau.
- PARDOS, M., BENNINGHOFF, C., THOMAS, R., 1994. Caractérisation écotoxicologique des affluents à leur embouchure. *Rapp. Comm. Int. Prot. Eaux Léman contre Pollut.*, 1993 : 171-189.
- PATRIS, T., LEFEBVRE, M., TROADEC, L., LAPLANCHE, A., 1995. Pollution chimique et bactérienne véhiculée par les eaux de ruissellement pluvial sur le bassin versant du Stang Alar. Communication aux 31èmes Rencontres Internationales du Projet de la rade de Brest. 14-16 mars 1995. : 15p.
- SANTIAGO, S., THOMAS, R.L., LARBAIGT, G., ROSSEL, D., ECHEVERRIA, M.A., TARRADELAS, J., LOIZEAU, J.L., McCARTHY, L., MAYFIELD, C.I., CORVI C., 1993. Comparative ecotoxicity of suspended sediment in the lower Rhone River using algal fractionation, Microtox and *Daphnia magna* bioassays. *Hydrobiologia*, 252 : 231-244.

- SCHIEVE, M. M., HAWK, E. G., ACTOR, D. I., KRAHN, M. M., 1985. Use of a bacterial luminescence assay to assess toxicity of contaminated marine sediment., *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 22, n°7 : 1244-1248.
- U. S. EPA, 1989. Algal (*Selenastrum capricornutum*) Growth Test. In : *Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms*. Environmental Monitoring Systems Laboratory, Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, 147-174.
- U. S. EPA/Corp. of Engineers, 1977. Ecological evaluation of proposed discharge of dredged material into ocean waters. United States Environmental Protection Agency/U. S. Army Corp. of Engineers, Technical Committee for Dredged and Fill material, Vicksburg, Mississippi.
- WILLIAMS, J. D.H., JAQUET, J.M., THOMAS, R.L., 1976. Forms of phosphorus in the surficial sediments of lake Erie. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33 : 413-429.