Les expérimentations in situ : principes et perspectives

Identifier l'origine d'une perturbation, discriminer un stress physique ou chimique, et quantifier les liens de cause à effet des pollutions supposent de recueillir des données nécessaires à l'évaluation de la qualité des eaux.

À l'heure actuelle, la majorité des données est issue de tests de laboratoire, obtenue dans un cadre très contrôlé. Les données recueillies dans les conditions naturelles sont très parcellaires et encore peu répandues même si leur développement serait extrêmement utile. Quels sont les principes de ces expérimentations in situ, leur intérêt, dans quelle mesure peuvent-elles être déployées à une large échelle? Les auteurs font le point sur ces questions.

Intérêt des approches expérimentales in situ dans l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques

La mise en œuvre de la directive cadre sur l'eau (DCE*) impose de caractériser les milieux sur la base de mesures chimiques, dont certains contaminants anthropiques (substances prioritaires), et de critères biologiques. Dans ce contexte, diverses métriques biologiques basées sur les communautés et utilisant les invertébrés, les poissons et les algues sont développées.

La surveillance de populations et communautés autochtones d'organismes aquatiques a constitué la principale démarche de l'évaluation des écosystèmes. Ces mesures ont prouvé leur utilité pour décrire l'état d'un écosystème et mettre en évidence leur perturbation. Cependant, elles se montrent moins pertinentes pour identifier les causes de cette perturbation, ce qui est une condition nécessaire pour tout processus d'aménagement et de restauration des milieux aquatiques. En effet, la structure d'une communauté est influencée par de nombreux facteurs et processus qui opèrent à différentes échelles de temps et d'espace. Par exemple, l'absence d'une espèce dans une communauté peut être le résultat de l'impact direct d'un stress (physique et/ou chimique) sur cette espèce, mais peut également résulter d'un changement chez d'autres espèces (effet indirect) qui soit se nourrissent, sont la proie et/ou sont en compétition avec cette espèce. Elle peut également découler de changements dans d'autres habitats du bassin versant ou du milieu aquatique, qui agissent comme source d'organismes et/ou de colonisation pour l'écosystème d'intérêt.

La nécessité de devoir identifier l'origine d'une perturbation et de discriminer un stress d'origine physique (habitat) ou chimique (polluant) impose d'établir et de quantifier les liens existants entre cause et effet, et par conséquent de revenir à des « systèmes biologiques » simplifiés (niveau biologique moins élevé) que sont la cellule ou l'organisme. En complément aux approches chimiques (identification des sources et devenir des contaminants) et communautés, et pour tenter de répondre en partie à la question précédente, il est souvent proposer de faire appel à l'utilisation de bio-tests de laboratoire, le tout constituant une approche intégrée appelée TRIAD (Chapman et al., 1990), notamment pour l'étude de la qualité des sédiments. Un des objectifs des bio-tests de laboratoire est d'évaluer la toxicité de compartiments environnementaux (eaux et sédiments) dans des conditions contrôlées (identiques pour tous les échantillons), afin de garantir que les effets observés résultent uniquement de la présence et de la biodisponibilité* des contaminants.

Les conditions contrôlées, l'emploi d'espèces modèles avec un cycle de vie bien connu et l'utilisation des méthodes standardisées sont des atouts incontestables pour l'utilisation de tests de laboratoire. Autant ces éléments permettent de réaliser de bonnes comparaisons d'échantillons, autant il est difficile de réaliser des extrapolations et des interprétations en milieu naturel à partir de ceux-ci.

> En effet, ces tests ne permettent pas de réaliser des expositions réalistes en mimant les fluctuations naturelles de nombreuses caractéristiques physico-chimiques



(température, pH, dureté, salinité...) qui peuvent jouer un rôle primordial aussi bien au niveau de la sensibilité de l'organisme que de la mobilité, de la biodisponibilité et donc de la toxicité des polluants.

- La mise en place de méthodologies standardisées en écotoxicologie* a poussé à l'utilisation d'organismes pouvant être facilement maintenus en laboratoire et donc peu exigeants, ce qui, pour certaines espèces, se traduit par une faible sensibilité aux contaminants et une forte plasticité.
- > La nécessité de prélever et travailler sur des échantillons environnementaux pose des problèmes en termes de représentativité et d'intégration de possibles fluctuations temporelles des apports en contaminants (pour l'eau) ou d'artéfacts liés au prélèvement et au stockage des échantillons.

En partant de ces contraintes et de ces limites, l'écotoxicologie* a développé plusieurs outils (biomarqueurs*) de diagnostic de la présence et de l'impact de polluants, à l'aide d'organismes prélevés directement dans le milieu naturel. Mais là encore, les limites de ces méthodes sont nombreuses.

- > Tout d'abord, l'utilisation d'individus prélevés sur des populations naturelles ne permet pas, principalement pour les espèces mobiles, d'accéder à la mesure de marqueurs au niveau individuel, comme la survie, la croissance, l'alimentation, voire la reproduction, c'est-à-dire les fonctions physiologiques clefs pour la dynamique des populations et permettant une lecture à un niveau d'organisation biologique supérieur.
- L'utilisation d'organismes ayant un passif différent (âge pour une taille donnée par exemple, état nutritionnel, stade de développement...) peut induire des artéfacts dans la mesure des biomarqueurs et de fait limiter leur interprétation.

Plus récemment, la mise en place d'approches *in situ* a reçu une attention toute particulière (Pellston Technical Workshop, 10-12 novembre 2005, Portland, Oregon, USA; Baird *et al.*, 2007). Dans ce document, la notion d'expérimentation *in situ* concerne les expérimentations basées sur la manipulation (encagement*, colonisation, transfert) d'organismes dans le milieu naturel. Mises en œuvre en complément des approches présentées ci-dessus, les expérimentations *in situ* fournissent des informations uniques et apportent des outils (*« Lines of Evidences »*) supplémentaires dans une démarche d'évaluation des risques environnementaux basée le poids de la preuve (*« Weight of Evidence »*).

De façon générale, les tests *in situ* permettent de répondre en partie aux limites présentées précédemment sur l'utilisation de bio-test de laboratoire et sur l'utilisation d'organismes autochtones.

En comparaison des tests de laboratoire, les approches in situ permettent de limiter les artéfacts liés au prélèvement et à la manipulation des échantillons environnementaux. Ils intègrent les fluctuations des caractéristiques physicochimiques des milieux, mais également des apports en contaminants. Enfin, ils sont moins onéreux dans le cas où la reconstitution d'un rejet, d'un stress ou d'une condition physico-chimique particulière est souvent difficile à mettre en œuvre et/ou à maintenir au cours du temps. Par rapport aux approches basées sur l'utilisation d'organismes autochtones, et plus particulièrement pour les espèces mobiles, les approches d'encagement in situ permettent de maîtriser partiellement l'exposition des organismes et ainsi d'améliorer la description et les liens entre causes et effets, mais également de mieux comprendre le lien temporel qui existe entre l'exposition et l'apparition des effets. En effet, lors de l'utilisation d'organismes autochtones mobiles, il est difficile, voire impossible, de maîtriser leur exposition effective.



Revue de détail des méthodologies disponibles

Des méthodes de tests *in situ* ont été développées pour répondre à l'évaluation de la qualité de l'eau. Ces approches font appel principalement à l'encagement d'organismes, à la colonisation, à la transplantation de substrats et à la mise en place d'enclos dans le milieu (figure ①). En général, chaque méthode répond à une question scientifique spécifique concernant l'étude des milieux.

Quel est l'impact de la pression anthropique sur la qualité biologique d'un milieu ?

Pour répondre à ce type de question, via la mesure de la biodisponibilité des contaminants et leurs effets à différents niveaux d'organisation biologique (sub-individuel, individuel et dans certain cas populationnel), l'utilisation d'organismes encagés constitue la méthodologie la plus pertinente, car elle a pour objectif d'exposer des organismes dits « contrôle et/ou standard » et de limiter les interactions avec les facteurs physiques (habitat) et biologique (compétition/prédation). Ce type de méthodologie est toutefois confronté à diverses limites techniques et biologiques qu'il est indispensable de prendre en compte pour une bonne interprétation des résultats.

Quel est l'impact d'un rejet ou d'un niveau de contamination sur le fonctionnement des individus, des populations et des communautés ?

Le niveau d'organisation biologique concerné dépendra des espèces utilisées. Dans ce contexte, il sera privilégié d'exposer des organismes autochtones (provenant de stations amont par exemple ou des stations étudiées) dans le but d'être le plus représentatif possible des espèces présentes et de les isoler de leur habitat afin de limiter les effets croisés entre facteurs chimiques et physiques. L'encagement des organismes autochtones permet d'accéder à des variables biologiques souvent difficiles à évaluer au niveau populationnel.

Ce type d'approche permet, bien que n'étant pas dans les mêmes échelles de temps, d'acquérir des informations sur l'impact d'un milieu sur des réponses biologiques jouant un rôle clef de la dynamique des populations.

Quel est le seuil de toxicité d'un composé dans le milieu ?

Pour répondre à ce type de question, la mise en place d'approche *in situ* a pour principal objectif d'améliorer la définition de seuils de toxicité en tenant compte de la complexité des milieux naturels. La mise en place d'enceinte permettant d'isoler une fraction de la ou des communautés étudiées est une approche de choix.

Ce type de technique permet d'évaluer, au cours du temps et en conditions naturelles, l'impact d'un contaminant sur la structure d'une communauté, mais également d'évaluer le temps nécessaire à sa récupération (résilience). Ce type d'approche a notamment été utilisé pour l'étude d'impact des pesticides dont les rejets et/ou leur présence dans le milieu est ponctuelle et/ou variable.

D'autres méthodes permettent d'apporter des éléments de réponse complémentaires à ces questions.

La colonisation naturelle de supports artificiels introduits dans le milieu

Cette approche permet de limiter la variabilité naturelle due à l'hétérogénéité de supports naturels et est particulièrement utilisée pour l'étude de biofilm* (ou périphyton*) et de leurs communautés bactériennes ou algales. Cette méthode permet également de travailler avec des communautés d'âge contrôlé. Elle prend ainsi en compte les éventuels changements de diversité liés à la maturation d'une communauté et aux spécificités des espèces (r, K) et leur succession. Par la colonisation naturelle de ces supports, elle reflète l'adaptation des espèces/communautés aux conditions environnementales (pression chimique ou physique) et placé le long d'un continuum aquatique, cette technique permet d'évaluer spatialement et temporellement leur tolérance. La technique de transfert (translocation) d'une communauté entre différents sites d'un même milieu permet de quantifier soit un impact (transfert d'un amont « propre » vers un aval contaminé), ou inversement, d'évaluer la capacité de résilience d'une communauté (par transfert d'un aval contaminé vers un amont « propre » ou moins contaminé). Cette méthode est essentiellement appliquée aux biofilms aquatiques et met en œuvre des descripteurs taxonomiques* (par exemple les diatomées* et l'IBD*) ou fonctionnels (processus microbiens...).

L'introduction, dans les milieux aquatiques, de sacs de litière de feuille

En fournissant une ressource alimentaire et un refuge aux organismes, cette méthode, relativement « standar-disable » présente les mêmes caractéristiques que la précédente, en s'adressant aux invertébrés détritivores* qui viennent coloniser des supports. L'information obtenue se base à la fois sur la diversité, mais aussi sur des critères fonctionnels (cinétique de dégradation de la litière) et peut ainsi refléter l'intégrité fonctionnelle d'un milieu, l'effet d'une pression physique ou chimique, voire la récupération d'un système. C'est la seule méthode actuelle qui soit utilisée pour considérer le compartiment fongique aquatique, sa diversité et son rôle dans la dégradation et l'intégration de matière organique particulaire (MOP*) dans le réseau trophique*.

Limites et précautions à prendre pour l'utilisation des approches *in situ*

Si l'intérêt des approches *in situ* dans les démarches d'évaluation de la qualité des milieux aquatiques est clairement démontré, ces méthodologies sont également confrontées à des limites biologiques et techniques pouvant induire des artéfacts dans la lecture des effets observés et qu'il est important d'identifier et de prendre en compte.

Organismes encagés Considérations biologiques

Le choix de l'espèce est une étape primordiale pour la mise en place de tests de *caging in situ*. Il se résume le plus souvent à choisir entre des espèces autochtones ou des espèces dites « de substitution », c'est-à-dire des espèces couramment utilisées en laboratoire.

Pour de nombreuses espèces, comme les poissons, les mollusques, les chironomes*, les amphipodes*, les oligochètes* et les daphnies*, il existe des cultures de laboratoires permettant d'accéder à des organismes standards pour lesquels le cycle biologique est souvent connu et maîtrisé et pour lesquels la mesure de nombreux outils (biomarqueurs) ou marqueurs de toxicité (croissance, reproduction, etc.) est parfaitement maîtrisée.

Cependant, la mise en culture d'espèce peut entraîner à long terme une diminution de la diversité génétique de la population et moduler leur sensibilité vis-à-vis de facteurs environnementaux naturels et de contaminants, se traduisant par une sous ou surestimation de la toxicité des milieux. De plus, parmi ces espèces, plusieurs (Danio rerio, Hyalella azteca, etc.) ne se retrouvent pas dans nos systèmes hydriques (français et européens). L'utilisation d'espèces autochtones répond souvent à une démarche plus pertinente d'un point de vue environnemental et permet de limiter l'introduction de nouvelles espèces dans les milieux. Cependant, le manque d'informations concernant leur biologie, leur physiologie, comportement et exigence alimentaire, limite souvent leur utilisation. Cette utilisation peut conduire à une interprétation erronée des résultats obtenus. Enfin, l'uti-

De façon générale, le choix de l'organisme encagé doit être guidé par :

lisation d'organismes autochtones nécessite de pouvoir se procurer des organismes provenant de milieux non

- la capacité de l'organisme à tolérer une large gamme de caractéristiques physico-chimiques des eaux (température, oxygène, salinité, dureté, etc.),
- sa représentativité pour l'écosystème étudié,

contaminés.

• les variables biologiques étudiées. En effet, selon le niveau d'organisation biologique choisi, les contraintes biologiques sur le choix de l'organisme test sont plus ou moins fortes. Par exemple, l'étude de biomarqueurs (réponses sub-individuelles) permet la mise en place d'exposition à court terme, étant donné qu'ils sont reconnus pour répondre rapidement aux stress. Ainsi, il est envisageable de pouvoir utiliser des organismes pour lesquels l'apport de nourriture n'est pas parfaitement maîtrisé et/ou contrôlé. À l'inverse, si l'étude vise à étudier des réponses au niveau individuel (croissance, reproduction), souvent plus pertinentes et pour lesquelles le lien avec des effets populationnels est plus facilement envisageable, alors il devient indispensable de choisir des organismes tests pour lesquels l'apport de nourriture peut être maîtrisé, ceci aussi bien en termes de qualité que de quantité, afin de limiter les artéfacts liés à la ressource alimentaire.

Concernant plus particulièrement les tests sédimentaires, il est important de prendre en compte la présence d'organismes autochtones pouvant induire des artéfacts notamment liés à la compétition et/ou la prédation. Diverses méthodes (tamisage, congélation) ont été proposées pour éliminer les organismes autochtones des sédiments étudiés. Cependant, ces méthodes imposent la manipulation des sédiments et par conséquent peuvent altérer sa structure et modifier la biodisponibilité des contaminants présents et donc leur toxicité.

Considérations techniques

Le principal objectif des approches *in situ* est, en comparaison des tests de laboratoire, d'améliorer le réalisme des expositions aux contaminants, tout en limitant l'impact de facteurs croisés liés notamment à l'habitat (physiques et biologiques). Par conséquent, la structure des systèmes expérimentaux doit être adaptée afin de garantir, pour les différents compartiments étudiés (eau et/ou sédiment), une exposition réaliste et des conditions de vie optimales (proche des conditions naturelles) pour les organismes.

En effet, la structure des systèmes de *caging** peut avoir un effet direct aussi bien sur l'exposition des organismes aux contaminants (échange avec le milieu, adsorption des contaminants, caractéristiques physico-chimiques de l'eau à l'intérieur du système, accumulation de particules) que sur les réponses biologiques étudiées (teneur en oxygène et en ammoniac, compétition, prédation, source de nourriture) et ainsi conduire à une mauvaise interprétation des résultats obtenus. Étant donné qu'il n'existe pas de méthode standardisée pour la réalisation d'expérimentation *in situ* (excepté pour les bivalves*, ASTM*, 2002), il est impératif de prendre en considération les différentes variables qui peuvent constituer des artéfacts lors de la mise en place de ce type d'approche (tableau ①).

Perspectives d'utilisation des approches *in situ*

La mise en place d'expérimentation *in situ* est une démarche récente (une dizaine d'années) dont l'intérêt croissant s'explique en partie par la réalisation d'expositions réalistes sur le plan environnemental et par conséquent par sa pertinence pour limiter les erreurs ou les difficultés à extrapoler les données obtenues en laboratoire. Si l'intérêt des approches *in situ* dans les démarches d'évaluation des risques est reconnu, leur utilisation dans ce contexte reste anecdotique et demande encore de nombreux développements, notamment en ce qui concerne leur standardisation.

À l'heure actuelle, les méthodologies utilisées pour les approches *in situ* sont très variables selon les auteurs et les études réalisées, cela aussi bien dans la durée des expositions, l'utilisation des espèces modèles, que les réponses biologiques étudiées. Cette disparité reflète l'intérêt récent pour ces méthodologies. L'utilisation de ces approches répond bien souvent à des questions spécifiques (site et/ou pression spécifique) et ne relève pas d'une démarche intégrée.

Les principaux objectifs de l'utilisation des approches *in situ*

Étudier l'impact toxique de milieux (danger)

La majorité des études menées concernent l'évaluation d'impact des rejets ponctuels sur la qualité d'une eau. Les méthodologies mises en place consistent, la plupart du temps, à utiliser des organismes représentatifs d'écosystèmes modèles (producteur primaires, détritivores, herbivores, filtreurs*, etc.) et à mesurer les variables biologiques telles la survie, la croissance et la reproduction.

Les différents artefacts entrant en ligne de compte pour la mise en place d'approches in situ.

Artéfact	Organisme encagé : eau	Organisme encagé: sédiment
Réduction des échanges en eau	XX	xxx
Apparition de salissures	XX	xxx
Adsorption de contaminants	х	XX
Accumulation de sédiments et de déchets (ammoniac)	xx	xx
Perturbe l'exposition à la lumière	XX	XX
Augmente la température	х	х
Réduit l'oxygène dissous	XX	xxx
Interaction avec des espèces autochtones	х	xx
Modifie le comportement	XX	х
Qualité et quantité de nourriture	xx	х

x: faible; xx: moyen; xxx: fort

Une des principales limites de ces études est le manque de référentiel concernant ces variables biologiques qui permettrait une interprétation plus fiable des réponses observées. En effet, l'apport ou la présence d'un rejet dans le milieu ne se traduit pas seulement par l'apport de contaminants, mais également par la modification de certaines caractéristiques physico-chimiques du milieu (nutriments, pH...) qui vont influencer les réponses biologiques mesurées. Améliorer la pertinence de l'interprétation des variables biologiques observées au niveau de l'individu est une sortie importante pour l'utilisation de ces approches dans une démarche d'évaluation des risques.

Établir un lien entre la pression anthropique (contamination du milieu) et les effets

Dans de nombreux cas où des perturbations biologiques, au niveau population et/ou communautés, sont observées, il reste souvent difficile d'établir clairement si ces perturbations sont directement liées à la présence de contaminants et non à l'effet croisés entre les polluants et l'habitat. Dans ce contexte et dans certaines conditions, les approches in situ permettent d'isoler au maximum les organismes des éventuels effets de l'habitat (courant, source de nourriture, etc.) et donc de conclure sur la qualité chimique du milieu. Cependant, il est important de noter ici, que l'objectif n'est pas de chercher à montrer si la qualité chimique du milieu peut expliquer les effets observés au niveau populationnel, mais bien de conclure sur le fait que le niveau de contamination du milieu est tel qu'il entraîne des effets toxiques. En effet, les approches communautés et in situ (au niveau individuel) n'intègrent absolument pas les mêmes échelles de temps, sauf pour les approches basées sur les communautés microbiennes périphytiques. Pour évaluer si les effets toxiques observés au niveau individuel, liés à la qualité du milieu, peuvent se propager à un niveau d'organisation biologique plus élevé, alors il est nécessaire de pouvoir aborder les méthodes de changement d'échelle.

Identifier la ou les classes de contaminants responsables du stress

L'identification de la ou des causes de stress est un des enjeux majeurs dans l'évaluation de la qualité des milieux. Cette identification est nécessaire pour hiérarchiser les pressions existantes et ainsi restaurer et améliorer la qualité des milieux. Plusieurs approches sont utilisées et sont encore en cours de développement :

- l'utilisation d'approche *in situ* par évaluation des teneurs en contaminants dans les organismes, permet ici de s'assurer de l'exposition des organismes sur le temps de l'étude, mais également de limiter l'impact de certaines variables biologiques sur l'accumulation des contaminants tels que l'âge, le sexe ou le statut reproducteur des organismes ;
- Burton et Nordstrom (2004a et b) ont mis en place une méthode se basant sur une modification de l'approche TIE* (*Toxicity Identification Effect*) proposée par l'USEPA*. La méthode consiste à introduire dans les chambres d'exposition des résines ayant une affinité spécifique pour les composés organique, inorganique ou l'ammoniac. La comparaison des effets obtenus en présence ou non de résines permet de cibler le type de contaminants incriminé;
- l'étude, chez les organismes exposés, des biomarqueurs spécifiques d'un type de contamination tels que l'acétylcholinestérase*, la métallothioneine*, la GST*, certains marqueurs de génotoxicité*;
- enfin, à l'échelle communautaire, les approches PICT* (Pollution-Induced Community Tolerance) permettent d'identifier les substances présentes sur le terrain et ayant modifié la tolérance des espèces composant la communauté (cette méthode est principalement appliquée au niveau microbien).

Établir in situ les liens entre dynamiques individuelles et populationnelles

Comme vu précédemment, une des perspectives des tests *in situ* consiste au développement de méthodes (notamment mathématiques) permettant d'intégrer et d'interpréter les réponses mesurées au niveau individuel à celui de la population.

Le développement de modèles de dynamique de population sur des espèces d'intérêt écologique et utilisés lors d'approches expérimentales *in situ*, est un des enjeux de l'écotoxicologie aquatique.

En conclusion, les expérimentations *in situ* sont des approches très récemment utilisées pour l'étude de la qualité des milieux. Si leur intérêt, comme approche complémentaire de celles déjà utilisées dans les démarches d'évaluation des risques, est aujourd'hui reconnu, des travaux sont encore nécessaires, notamment sur le développement de méthodologies plus standardisées, permettant d'améliorer le contrôle et la qualité des résultats obtenus.

Comme leur nom l'indique, ces approches ont pour principal avantage et/ou objectif de mettre en place des expositions réalistes d'un point de vue environnemental et permettre ainsi de réduire les difficultés et/ou erreurs liées à l'extrapolation des données de laboratoire pour la gestion des milieux, ceci aussi bien dans les démarches d'évaluation des risques *a priori* et *a posteriori*.

Enfin, ces approches étant principalement ciblées sur l'individu, elles ont un écho ou un lien direct avec les autres outils développés en écotoxicologie et écologie pour évaluer la qualité des milieux, notamment l'utilisation de biomarqueurs (sub-individuel) et de marqueurs individuels, en permettant leur utilisation en milieu naturel, mais également vis-à-vis des études populationnelles, en permettant d'apporter des éléments d'information sur la cause de stress (habitat et/ou chimie).

Les auteurs

Olivier Geffard

Cemagref, Centre de Lyon, UR MALY, Milieux aquatiques, écologie et pollutions, 3 bis Quai Chauveau, CP 220, 69336 Lyon Cedex 09 olivier.geffard@cemagref.fr

Benoit Ferrari

Cemagref, Centre de Lyon, UR MALY, Milieux aquatiques, écologie et pollutions, 3 bis Quai Chauveau, CP 220, 69336 Lyon Cedex 09 benoit.ferrari@cemagref.fr

Arnaud Chaumot

Cemagref, Centre de Lyon, UR MALY, Milieux aquatiques, écologie et pollutions, 3 bis Quai Chauveau, CP 220, 69336 Lyon Cedex 09 arnaud.chaumot@cemagref.fr

Bernard Montuelle

Cemagref, Centre de Lyon, UR MALY, Milieux aquatiques, écologie et pollutions, 3 bis Quai Chauveau, CP 220, 69336 Lyon Cedex 09 bernard.montuelle@cemagref.fr

QUELQUES RÉFÉRENCES CLÉS...

- **ASTM,** 2002, Standard guide for conducting in-situ field bioassays with caged bivalves, in: ASTM, Annual book of ASTM standard, vol. 11.05, Philadelphia: ASTM, E 2122-02, p. 1560-1591.
- BAIRD, D.J., BURTON, A.G., CULP, J.M., MALTBY, L., 2007, Summary and recommendations from a SETAC Pellston workshop on in situ measures of ecological effects, *Integrated Environmental Assessment and Management*, n° 3, p. 275–278.
- BURTON G.A., J.R., NORDSTROM, J.F., 2004a, An in situ toxicity identification evaluation method, Part I: Laboratory validation, *Environmental Toxicology and Chemistry*, n° 23, p. 2844-2850.
- BURTON, G.A., J.R, NORDSTROM, J.F., 2004b, An in situ toxicity identification evaluation method. Part II: Field validation, *Environmental Toxicology and Chemistry*, n° 23, p. 2851-2855.
- CHAPMAN, P.M., 1990, The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation, Science of Total Environment, 97/98, p. 815-825.