

Thèse de doctorat

Présentée par

Céline LAFABRIE

En vue de l'obtention du titre de Docteur en Biologie
Spécialité : Ecologie Marine

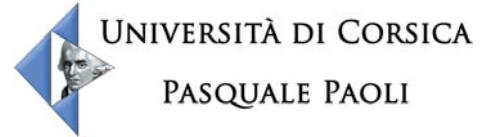
Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique



Dessin Réserve Naturelle Marine de Cerbère - Banyuls

Soutenue le 11 juin 2007, à Corte, devant le jury composé de :

M. Jean-Marie BOUQUEGNEAU	(Professeur, Université de Liège)	Examineur
M. Sebastiano CALVO	(Professeur, Université de Palerme)	Rapporteur
M. Daniel COSSA	(Professeur, IFREMER Nantes)	Rapporteur
M. Roger KANTIN	(Docteur, IFREMER Toulon)	Examineur
M. Gérard PERGENT	(Professeur, Université de Corse)	Examineur
Mme Christine PERGENT-MARTINI	(Docteur HDR, Université de Corse)	Directeur de thèse



Thèse de doctorat

Présentée par

Céline LAFABRIE

En vue de l'obtention du titre de Docteur en Biologie
Spécialité : Ecologie Marine

Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique

Soutenue le 11 juin 2007, à Corte, devant le jury composé de :

M. Jean-Marie BOUQUEGNEAU	(Professeur, Université de Liège)	Examineur
M. Sebastiano CALVO	(Professeur, Université de Palerme)	Rapporteur
M. Daniel COSSA	(Professeur, IFREMER Nantes)	Rapporteur
M. Roger KANTIN	(Docteur, IFREMER Toulon)	Examineur
M. Gérard PERGENT	(Professeur, Université de Corse)	Examineur
Mme Christine PERGENT-MARTINI	(Docteur HDR, Université de Corse)	Directeur de thèse

A Sandrine, à Audrey, à mes parents . . .

*« Un problème se résout dans la souffrance
ou dans la joie. Cela dépend de vous »*

Roberto Shinyashiki

La réalisation d'une thèse est une longue épreuve pas toujours facile... Aussi, je tiens à dire un grand MERCI à toutes les personnes qui ont été à mes côtés pendant ces années et qui m'ont permis d'arriver au bout de ce travail.

Avant tout, je voudrais exprimer mon entière reconnaissance à tous les membres du jury, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger mon travail, et tout particulièrement aux Professeurs Sebastiano Calvo et Daniel Cossa qui ont accepté la lourde tâche d'être rapporteurs de cette thèse.

Je remercie le Docteur Christine Pergent-Martini pour m'avoir accueillie au sein de son équipe Ecosystèmes Littoraux, encadrée et aidée au cours de cette thèse, pour m'avoir fait confiance et pour la liberté qu'elle m'a toujours accordée. Je la remercie également de m'avoir permis de participer à plusieurs colloques, pendant ces années de thèse, qui m'ont été très bénéfiques.

J'adresse également mes remerciements au Professeur Gérard Pergent pour m'avoir initié à la recherche scientifique, pour son aide, ses conseils et son soutien. Je le remercie de s'être rendu disponible particulièrement lors de ma dernière année de thèse malgré un emploi du temps très chargé. Je le remercie aussi de m'avoir fait confiance et de m'avoir donné la possibilité d'enseigner à l'Université.

Un grand merci au Dr. Lila Ferrat qui m'a initiée à l'analyse du mercure et qui m'a appris que lorsqu'un appareil tombe en panne, il ne faut jamais baisser les bras. Grâce à ses petits doigts de fée, tout pouvait être réparé ! Merci de toujours avoir été présente même si tu as quitté le milieu de la Posidonie...

Merci au Dr Vanina Pasqualini pour ses conseils qui sont toujours arrivés au bon moment et qui m'ont été très profitables.

Un grand merci à Benoît Mimault pour m'avoir accompagné en plongée dans toutes les missions de ma thèse quelque soit la saison (en plein hiver) ! Quelque soit la température de l'eau (12°C en hiver) ! Et quelque soit la destination (destination Porto avec ma petite voiture qui ne marche pas toujours très bien ...) !

Un grand merci aux Dr Vanina Leoni et Alexandre Vela. Et oui, ces longues heures passées au laboratoire, comme au bureau, se sont toujours déroulées dans la bonne humeur grâce à vous, et ce, malgré les soucis techniques de chacun (lyophilisateur, CHN...). Il n'y a jamais eu ni petites disputes, ni compétitions entre nous et honnêtement je pense que ce n'est pas le cas dans tous les labos... Merci et longue vie à Sintinelle !

Merci au Dr Salvatrice Vizzini pour m'avoir encadrée lorsque j'étais en stage en Sicile. C'est en partie grâce à ce stage et grâce à elle que je termine aujourd'hui cette thèse....

Merci au Prof. Patrice Francour et au Dr Thierry Thibaut pour leur aide précieuse dans l'utilisation de l'analyse statistique. Elle m'a été très utile.

Merci à Roger Kantin, Bruno Andral et Jean-Louis Gonzalez de l'IFREMER pour leurs conseils, leur disponibilité et les agréables missions en mer à bord de l'Europe.

Merci à Pierre, Corinne, Sylvain, Alex, Aurélia pour leur accueil et pour m'avoir permis de travailler dans le plus beau port que je connaisse, le port de STARESO !

Merci au Pr. Antoine-François Bernadini, qui en temps que directeur de l'école doctorale, a réussi à fournir aux étudiants en thèse des formations innovantes et efficaces dans plusieurs domaines.

Cette thèse n'aurait pu voir le jour sans le soutien financier de la Collectivité Territoriale Corse qui m'a permis de bénéficier d'une allocation de recherche. Je remercie particulièrement Mme Ottavy pour sa patience et son attention.

Merci à Céline qui a de nombreuses fois répondu à mes appels au secours lorsque les tests statistiques me faisaient perdre la tête ou lorsque l'informatique me rendait folle. Courage

Céline, les HAP n'auront bientôt plus de secret pour toi ! Merci Maylis pour ta présence pendant ces derniers mois de thèse. Je te confie le spectromètre, je suis sûre que tu en feras bon usage... Bon courage à toi aussi ! Merci Cecilia pour t'être rendue disponible de nombreuses fois pour corriger mon anglais, et ce jusqu'au dernier jour ! Merci pour les nombreuses discussions qu'on a eu ensemble... Merci pour tes encouragements... Merci pour ton amitié... Je n'oublie pas le rendez vous en mer Rouge !

Merci à toutes les personnes du rez de chaussée du bâtiment 18 à qui j'ai fait partager l'agréable odeur de la Posidonie séchée... ! Merci à Marie-Madeleine Spella, Michelle et Jean Ferrandini, Antoine Orsini, Bernard Marchand, Christophe Mori. Votre gentillesse et votre sympathie m'ont beaucoup touchées. Merci à Julia, Sonia, Céline, Joséphine pour leur soutien et leur gentillesse. Merci à Bernard Di Martino pour sa gentillesse et pour nous avoir accompagné avec Lila sur des 1,2,3...5,6,7... (!)

Merci Nicolas. Merci d'avoir toujours été là pour m'écouter, me soutenir et m'encourager.

Merci ma p'tite Estelle ! Ma copine de toutes les nouvelles aventures ! Merci Mister Duche pour m'avoir fait vivre des moments super intenses, en canyon, en rando ou même en moto ! Qu'est ce que c'est chouette de partager les mêmes passions avec des personnes aussi enthousiastes que vous et toujours prêtes pour de nouveaux défis à relever ! Merci Célia, ma p'tite voisine qui est toujours à l'écoute et toujours là pour dire des choses gentilles. N'oublie pas de prendre soin de toi aussi... Merci Laurent. Je n'oublie pas toutes ces paroles qui m'ont aidé et qui m'ont donné du courage dans des moments qui étaient difficiles. Merci Adeline et Ramat, Catherine, Lise, Roots, Sam, Isa, Jean-Louis, Géraud, Jonathan, Flo, et encore Flo, Adeline, Kim et Fred (et Edén aussi), Magali, Hélène et ... pour tous les moments heureux passés avec vous pendant ces années de thèse.

Merci à Naïma et à Béa et à tous les salsaïeros ! Vous avez mis du rythme et du son dans ma p'tite vie studieuse de doctorante.

Merci à tous les amis de la Rinascita, grâce à vous, j'ai découvert le monde de la montagne et le plaisir immense d'atteindre le sommet. Tous ces moments à la conquête du

Monte Cinto, du Monte Rotondu, du Monte Renosu... ont été pour moi des moments de pur bonheur. Je n'oublierais jamais ces moments... Merci Pierrot. Merci Tony.

Merci à tous les amis du Neptune pour m'avoir accompagné (tout doucement...! hihihi) dans les profondeurs de la Méditerranée. Merci Christian, Sarah, Jean-Pierre, Marc, Laurent, Manu, Jean-Marie, Jean-François, Sauveur, Edgar, Xabi et tous les autres. Toutes ces plongées avec vous n'ont été que du bonheur !

Merci Adrien pour ces derniers mois de thèse passés en ta compagnie...

Merci à toute ma famille pour leur aide et leur soutien inconditionnel et indéfectible. Merci ma p'tite mamie pour ton soutien. Merci marraine pour tous tes encouragements. Merci parrain pour le grand intérêt que tu as toujours manifesté, à mon égard, concernant mes études et cette thèse en particulier (tu pourras peut-être bientôt m'appeler docteur !...). Merci à mes p'tites sœurs, Sandrine et Audrey, d'être là... Merci mon petit papa d'avoir toujours été fier de ce que je faisais... Et merci maman d'avoir toujours pensé que j'y arriverais...

Vi ringraziau tutti...

Table des matières

CHAPITRE I : CONTEXTE GÉNÉRAL	1
1. Contamination métallique du milieu marin	2
1.1. Bref état des connaissances.....	2
1.2. Les éléments en traces métalliques	3
2. Évaluation de la contamination métallique dans le milieu marin	11
2.1. Définition du terme « indicateur biologique » ou « bio-indicateur »	11
2.2. Les bio-indicateurs en milieu marin	12
3. <i>Posidonia oceanica</i> L. Delile.....	15
3.1. Bio-indicateur?.....	15
3.2. Les herbiers à <i>Posidonia oceanica</i>	16
4. Cadre de l'étude et objectifs	24
4.1. Cadre de l'étude	24
4.2. Objectifs.....	25
CHAPITRE II : TEMPORAL EVOLUTION OF METAL CONCENTRATIONS IN <i>POSIDONIA OCEANICA</i>	28
Abstract	29
1. Introduction.....	30
2. Material and methods.....	31
3. Results.....	32
Determination of the age of leaf tissues.....	32
Temporal evolution of mercury concentrations.....	33
Temporal evolution of the concentrations of the others metals.....	35
Biological dilution	37
4. Discussion.....	39
Acknowledgements.....	42
CHAPITRE III : METAL CONTAMINATION OF <i>POSIDONIA OCEANICA</i> MEADOWS ALONG THE CORSICAN COASTLINE (MEDITERRANEAN).....	43
Abstract	44
1. Introduction.....	45
2. Materials and methods	46
2.1. Sampling and sample preparation.....	46
2.2. Trace metals analysis	47
2.3. Statistical analysis.....	48
3. Results.....	48
3.1. Comparison of the tissues	48
3.2. Comparison of the stations	50
3.3 Metals correlation	50

3.4 Metal accumulation.....	51
4. Discussion and conclusion.....	51
Acknowledgements.....	57

CHAPITRE IV : VALIDATION OF THE USE OF *POSIDONIA OCEANICA* AS A METAL BIOMONITOR 58

Abstract.....	59
1. Introduction.....	60
2. Materials and methods	61
2.1. Sampling locations.....	61
2.2. Sampling method, sample preparation and trace metals analyses (cadmium : Cd ; cobalt : Co ; chromium : Cr ; mercury : Hg ; nickel : Ni and lead : Pb)	62
2.3. Statistical analysis.....	64
3. Results.....	64
3.1. DGT units (DGTs).....	64
3.2. Sediment	65
3.3. Organisms	65
3.4. Metal bioconcentrations.....	66
3.5. Relationship between metals in <i>Posidonia oceanica</i> and in sediment ...	67
4. Discussion.....	67
5. Conclusions.....	69
Acknowledgements.....	70

CHAPITRE V : EVALUATION OF METAL CONTAMINATION IN THE NORTH OCCIDENTAL MEDITERRANEAN FROM THE BIO-INDICATOR *POSIDONIA OCEANICA*..... 71

Abstract.....	72
1. Introduction.....	73
2. Materials and methods	74
3. Results.....	76
4. Discussion and conclusion.....	78

CHAPITRE VI : *POSIDONIA OCEANICA* : A TRACER OF PAST MERCURY CONTAMINATION 86

Abstract.....	87
1. Introduction.....	88
2. Materials and methods	88
2.1. Study area and sampling plan	88
2.2. Sampling preparation.....	89
2.3. Mercury analysis.....	90
2.5. Statistical analysis.....	91
3. Results.....	91
4. Discussion.....	93
5. Conclusions.....	96
Acknowledgements.....	97
CHAPITRE VII : CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	98
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	104
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX	134
ANNEXES.....	139
Annexe 1 : Protocoles utilisés pour l’analyse des métaux traces	140
Annexe 2 : Performances (contrôle et assurance de qualité).....	141

CHAPITRE I

Contexte général

CHAPITRE I

Contexte général

1. Contamination métallique du milieu marin

1.1. Bref état des connaissances

La zone littorale du plateau continental correspond à un espace d'interactions entre les écosystèmes marins et terrestres regroupant l'essentiel des ressources marines (Castro *et al.*, 1999 ; Usero *et al.*, 2005). Cette zone littorale correspond également à un espace d'intenses activités économiques (activités domestiques, industrielles, agricoles, etc.) et constitue de ce fait le réceptacle de quantités considérables de substances, d'origine naturelle ou de synthèse, dont un nombre important possède des propriétés toxiques. Ainsi, la zone littorale présente à la fois une grande importance au niveau écologique et une grande fragilité vis-à-vis des xénobiotiques ; la pollution de cette zone peut porter atteinte à la structure des biocénoses et à la productivité des écosystèmes (Roméo *et al.*, 1995).

La pollution du milieu marin par les métaux suscite un grand intérêt au sein de la communauté scientifique (Shulkin *et al.*, 2003). En effet, les métaux, qui sont des constituants normaux de l'environnement à l'état de traces (Bryan, 1971, 1984), contrairement à de nombreux contaminants (e.g. pesticides), sont tous toxiques au dessus d'un certain seuil (Kucuksezgin *et al.*, 2006). Ainsi, les éléments traces métalliques dits essentiels (rôle important dans les processus biologiques ; e.g. le cuivre, le fer et le zinc) peuvent produire des effets toxiques au même titre que ceux dits non essentiels (aucun rôle dans les processus biologiques ; e.g. le mercure, le plomb et le cadmium) lorsque leur concentration dépasse un certain seuil d'acceptabilité (Chiffolleau *et al.*, 2001 ; Miquel, 2001 ; Türkmen *et al.*, 2005 ; mais voir aussi Lane *et al.*, 2005 pour le cadmium). Dans le milieu marin, les éléments traces métalliques peuvent rester en solution, êtres

adsorbés sur des particules sédimentaires ou précipiter sur le fond, ou être ingérés par des organismes et s'accumuler dans leurs tissus jusqu'à atteindre des concentrations pouvant être toxiques (Jefferies & Freestone, 1984 ; Güven *et al.*, 1999 ; Matta *et al.*, 1999 ; Türkmen *et al.*, 2005). Du fait de leur potentielle toxicité, de leur persistance, et de leur aptitude à s'accumuler dans le biota, les éléments traces métalliques sont considérés comme de sérieux contaminants de l'environnement aquatique (Schüürmann & Market, 1998 ; Islam & Tanaka, 2004 ; Ikem & Egiebor, 2005). Leur présence dans le milieu marin est due aux rejets industriels, agricoles, à la structure géochimique et à l'exploitation minière (Lee & Stuebing, 1990 ; Gümğüm *et al.*, 1994 ; Ünlü *et al.*, 1996 ; Yılmaz & Yılmaz, 2007) et se fait directement ou via les fleuves, les précipitations ou les dépôts atmosphériques (Zoller & Hushan, 2000 ; Usero *et al.*, 2005 ; Zoller, 2006).

1.2. Les éléments en traces métalliques

On appelle en général « métaux lourds » les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 g.cm^{-3} (Holleman & Wiberg, 1985). La classification en métaux lourds est souvent discutée car certains métaux ne sont pas particulièrement « lourds » (cas du zinc) et certains éléments ne sont pas tous des métaux (cas de l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation « métaux lourds », l'appellation « éléments en traces métalliques » (ETM) ou par extension « éléments traces » ou « métaux traces » (Chiffolleau *et al.*, 2001).

1.2.1. Utilisations et sources (naturelles et anthropiques) de quelques ETM et de leurs dérivés

Les utilisations des ETM sont multiples et très diversifiées (Tableau I.1).

Les phases d'élaboration, d'utilisation et/ou de recyclage de certains produits s'accompagnent de rejets, en quantité parfois non négligeable, d'ETM dans les eaux continentales ou marines et dans l'atmosphère. Ainsi, ces éléments se retrouvent dans le milieu marin à la fois de façon naturelle (sources naturelles) mais aussi du fait de rejets d'origine humaine (sources anthropiques ; Tableau I.1).

Tableau I.1 : Utilisations et sources (naturelles et anthropiques) de quelques ETM et de leurs dérivés (Ag : argent ; As : arsenic ; Cd : cadmium ; Co : cobalt ; Cr : chrome ; Cu : cuivre ; Hg : mercure ; Ni : nickel ; Pb : plomb ; Zn : zinc).

ETM	Utilisations	Sources	Références bibliographiques
Ag	<ul style="list-style-type: none"> - Orfèverie - Photographie - Galvanoplastie - Médecine 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Activités industrielles (photographie, etc...) - Activités domestiques (eaux usées urbaines) - Activités agricoles - Activités minières 	Martin <i>et al.</i> , 1988 ; Sañudo-Wilhelmy & Flegal, 1992 ; Slawson <i>et al.</i> , 1994 ; Wood <i>et al.</i> , 1996 ; Rozan & Hunter, 2001 ; Bianchini <i>et al.</i> , 2005
As	<ul style="list-style-type: none"> - Agriculture (produits chimiques) - Protection et conservation du bois - Industrie du verre (agent décolorant) - Alliages (dans les batteries électriques, etc.) - Agents de conservation et anti-fouling - Divers : semi-conducteurs, pigments, fabrication de plombs de chasse, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Activité volcanique et feux de forêts - Activités industrielles - Combustion produits fossiles - Activités agricoles - Exploitations minières 	Michel, 1993 ; Weis <i>et al.</i> , 1993 ; Meharg <i>et al.</i> , 1994 ; Klumpp <i>et al.</i> , 1996 ; Camelo <i>et al.</i> , 1997 ; Taylor, 1997 ; Langer & Gunther, 2001 ; Mirlean <i>et al.</i> , 2002 ; Maity <i>et al.</i> , 2005 ; INERIS, 2006a ; Mirlean & Roisenberg, 2006
Cd	<ul style="list-style-type: none"> - Métallurgie (revêtements anticorrosion) - Industrie chimique (pigments, etc.) - Industrie électrique (e.g. « pile alcaline ») - Divers : Alliages, industrie nucléaire, chimie, électronique, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Activité volcanique - Combustion produits fossiles - Incinération ordures ménagères - Activités agricoles (engrais, fertilisants...) - Rejets industriels, miniers et ménagers 	Hem, 1972 ; Nriagu, 1980 ; Krishna Murti <i>et al.</i> , 1987 ; Cossa & Lassus, 1989 ; Ramade, 1992 ; Rutherford <i>et al.</i> , 1994 ; Mc Laughlin & Singh, 1999 ; INERIS, 2005a ; Krishnamurti <i>et al.</i> , 2005
Co	<ul style="list-style-type: none"> - Industries électrique, aéronautique et automobile (alliages) - Industrie chimique : pigments, peintures, etc. - Agriculture (fertilisants) - Industrie pharmaceutique 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Activité volcanique et feux de forêts - Fumées (centrales thermiques et incinérateurs) - Echappements des véhicules à moteur thermique - Activités industrielles 	INERIS, 2006b
Cr	<ul style="list-style-type: none"> - Métallurgie : alliages ferreux et non ferreux - Industrie chimique : chromage, tannage des cuirs, conservation du bois, peintures, bandes magnétiques, industrie photographique, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant important de la croûte terrestre - Industrie chimique et autres industries - Combustion de gaz naturel, d'huile et de charbon - Industrie de tannage du cuir 	Chiffolleau, 1994 ; Nriagu & Nieboer, 1988 ; O'Driscoll, 1999 ; Papp, 2001 ; Kowalski, 2002 ; INERIS, 2005b ;

	<ul style="list-style-type: none"> - Industrie de réfraction (briques réfractaires) 	<ul style="list-style-type: none"> - Industrie textile 	Sankararamkrishnan <i>et al.</i> , 2006
Cu	<ul style="list-style-type: none"> - Métallurgie (fabrication d'alliages) - Industries électrique et automobile - Plomberie - Equipements industriels - Industrie chimique (peintures « anti-fouling », pigments, encres, etc.) - Agriculture (fongicide, insecticide, etc.) - Divers : conservation du bois, raffinage de métaux, industrie pétrolière, tannage du cuir, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Élément ubiquitaire dans l'environnement - Activités volcaniques et feux de forêts - Décompositions végétales et aérosols marins - Industrie du cuivre et des métaux en général - Industrie du bois - Incinération des ordures ménagères - Combustion de charbon, d'huile et d'essence - Activités agricoles (fertilisants, fongicides, etc.) - Rejets d'eaux usées 	Turnlund, 1998 ; Goyer & Clarkson, 2001 ; INERIS, 2005c
Hg	<ul style="list-style-type: none"> - Agriculture (pesticides, engrais, etc.) - Industrie du papier - Industrie chimique (peintures, etc.) - Exploitations minières (traitement des minerais d'or et d'argent) - Industrie électrique (batteries, piles, etc.) - Divers : Amalgames dentaires, thermomètres, industrie catalytique et électrolyse, explosifs, lampes, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Dégazage de l'écorce terrestre (importante volatilité de Hg - minerais de cinabre) - Activité volcanique - Combustion des hydrocarbures fossiles - Incinération d'ordures ménagères et hospitalières - Activités industrielles - Sources diffuses (tubes fluorescents, piles, thermomètres, peintures, etc.) - Rejets industriels et miniers 	Lindqvist & Rhode, 1985 ; Schroeder <i>et al.</i> , 1989 ; Cossa <i>et al.</i> , 1990 ; Fitzgerald & Clarkson, 1991 ; Lindqvist, 1991 ; Mason <i>et al.</i> , 1994 ; Hintelmann & Wilken, 1995 ; Sinha <i>et al.</i> , 1996 ; Cossa & Ficht, 1999 ; Mason <i>et al.</i> , 1999 ; Tomiyasu <i>et al.</i> , 2000 ; Miquel, 2001 ; Azizian <i>et al.</i> , 2003 ; INERIS, 2006c
Ni	<ul style="list-style-type: none"> - Production d'aciers - Electro-placage au nickel - Fabrication de batteries alcalines - Production d'alliages non ferreux (fabrication de pièces de monnaie, etc.) - Divers : pigments, colorants, catalyseur en chimie, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Combustion de charbon ou de fuel - Incinération des déchets - Epanchage des boues d'épuration - Activités industrielles 	Mc Ilveen & Negusanti, 1994 ; INERIS, 2006d ; Lock <i>et al.</i> , 2007 ; Zaidi <i>et al.</i> , 2006
Pb	<ul style="list-style-type: none"> - Accumulateurs (plaque, poudre, etc.) - Industrie chimique (e.g. « anti-fouling ») - Industrie électrique (batteries, câbles, etc.) - Alliages (soudure, imprimerie, antifricton) 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de la croûte terrestre - Activité volcanique - Industries de 1^{ère} et 2^{ème} fusion du plomb - Rejets des véhicules à moteur 	Zakrzewski, 1991 ; Cossa <i>et al.</i> , 1993 ; Miquel, 2001 ; INERIS, 2003 ; Sharma & Dubey, 2005

	<ul style="list-style-type: none"> - Technologies modernes - Divers : fabrication de produits semi-finis (tuyaux, fils, etc.), industrie cosmétique, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Industrie sidérurgique - Activités d'extraction de minerai de plomb - Déchets industriels 	
Zn	<ul style="list-style-type: none"> - Revêtements de protection contre la corrosion - Composant de divers alliages - Equipements pour automobiles et chemins de fer - Industrie chimique : agent réducteur et réactif en chimie, pigments, peintures anti salissures, etc. - Agriculture (fertilisants et pesticides) - Divers : fonderie, soudure, industrie cosmétique et pharmaceutique, industrie du caoutchouc, du papier, des textiles, production de fongicides, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Composant de l'écorce terrestre - Eruptions volcaniques et feux de forêts - Emission d'aérosols marins - Activités minières - Activités industrielles - Epandages agricoles - Incinération des ordures 	INERIS, 2005d

1.2.2. Propriétés biologiques et toxicité des ETM

L'argent est un élément trace non essentiel (Slawson *et al.*, 1994) considéré généralement comme faiblement toxique (Hollinger, 1996). Contrairement au mercure et au cadmium, l'argent n'a pas été à l'origine de graves problèmes environnementaux. De ce fait, bien que les émissions anthropogéniques d'argent aient augmentées ces dernières années, le comportement de cet élément au niveau environnemental est peu étudié (Calabrese *et al.*, 1977 ; Fisher & Hook, 1997 ; Webb & Wood, 1998 ; Wood *et al.*, 1999 ; Saeki *et al.*, 2001).

L'arsenic est un élément chimique présentant des risques importants pour l'environnement ; aussi une grande attention lui est accordée dans les études écologiques (Schlatter, 1994 ; Madhal & Suzuki, 2002). La toxicité de l'arsenic dépend de la forme chimique sous laquelle il est présent, l'arsenite As(III) est la forme la plus toxique (Ferguson & Gavis, 1972 ; Squibb & Fowler, 1983 ; Yamamuchi & Fowler, 1994). Dans l'environnement, c'est la forme arsenate As(V) qui prédomine (Pepper *et al.*, 1987). Les êtres vivants sont exposés à une intoxication par l'arsenic via l'air, le sol, l'eau et la nourriture (Sanders *et al.*, 1994 ; Strusk *et al.*, 1996 ; NRC, 2001 ; Zakharova *et al.*, 2002 ; Alam *et al.*, 2003 ; Bundschun *et al.*, 2004 ; IARC, 2004 ; Mirlean & Roisenberg, 2006). L'arsenic est un puissant cancérigène (Vahter *et al.*, 2007).

Le cadmium fait partie des éléments en traces métalliques dits non essentiels (Chiffolleau *et al.*, 2001 ; Miquel, 2001 ; Türkmen *et al.*, 2005 mais voir aussi Lane *et al.*, 2005). Du fait de sa forte toxicité, de sa capacité à être bioaccumulé (Jin *et al.*, 1998 ; Lehoczky *et al.*, 1998 ; Kabata-Pendias, 2000 ; Adriano, 2001 ; Jurado *et al.*, 2007) et de ses nombreuses utilisations, il est à l'origine de grandes préoccupations environnementales (Erk *et al.*, 2005 ; Yu *et al.*, 2006). Il provoque des dysfonctionnements du système rénal, hépatique, gastro-intestinal, immunitaire et reproductif des êtres vivants (Chaney *et al.*, 1999 ; Satarug *et al.*, 2000 ; Goyer & Clarkson, 2001 ; Hsu & Guo, 2002 ; Kim, 2004).

Chez l'homme, sa toxicité est connue depuis 1950 avec la maladie d'Itai-Itai qui est apparue au Japon chez des personnes ayant consommé du riz récolté sur un sol apparemment fortement contaminé en cadmium par une mine d'extraction de zinc et de plomb (Kjellström, 1986 ; Ogawa *et al.*, 2004 ; Mahara *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2006).

Le cobalt est un élément trace dit essentiel. Il joue un rôle important en tant que micronutriment pour le phytoplancton marin (Morel *et al.*, 1994), en particulier pour les organismes photosynthétiques du genre *Cyanobacteria* (Sunda & Huntsman, 1995 ; Saito & Moffett, 2002). Les données disponibles sur les concentrations en cobalt dans le milieu marin sont très faibles et les facteurs contrôlant la distribution du cobalt dans l'eau de mer sont peu connus. Ainsi, l'impact de fortes concentrations en cobalt sur les écosystèmes marins est inconnu (Saito & Moffett, 2002).

Le chrome est un élément trace dit essentiel. Il peut néanmoins être toxique selon l'état physico-chimique dans lequel il se trouve (Zhang & Li, 1987 ; Smith *et al.*, 1989 ; Katz & Salem, 1994 ; Elbetieha & Al-Hamood, 1997 ; Uzun *et al.*, 2002 ; Goyal *et al.*, 2003 ; Kowalski *et al.*, 2007). Sous la forme Cr(VI), forme apparaissant la plus toxique, il est considéré comme un danger réel pour l'environnement (Suzuki *et al.*, 1992 ; Wang & Shen, 1995) puisqu'il peut entraîner des effets mutagènes et carcinogènes sur les êtres vivants (Kaim & Schwederski, 1994 ; McLean & Beveridge, 2001).

Le cuivre est indispensable au métabolisme des êtres vivants (Clemens, 2001 ; Muñoz-Olivas & Cámara, 2001 ; Gaetke & Chow, 2003 ; Elisabetta & Gioacchino, 2004). Cependant, en excès, il peut interférer avec de nombreux processus physiologiques et devenir alors toxique (De Vos *et al.*, 1991 ; Fernandes & Henriques, 1991 ; Ouzounidou *et al.*, 1992 ; Chang & Sibley, 1993). Chez l'homme, une forte exposition au cuivre entraîne des cirrhoses du foie, des épisodes d'hémolyse et dommages au niveau des reins, du cerveau et d'autres

organes (Winge & Mehra, 1990 ; Goyer & Clarkson, 2001). La toxicité vis à vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation. En outre, le cuivre complexé est moins toxique que le cuivre à l'état ionique (Bae & Freeman, 2007). En Méditerranée, du fait de l'importance du ruissellement et de l'érosion, cet élément trace, entrant dans la composition de nombreux produits phytosanitaires, se retrouve rapidement dans le milieu marin et est à l'origine de perturbations au niveau des espèces (Bae & Freeman, 2007).

Le mercure n'a pas de rôle biologique connu (Suszeysky & Shann, 1995). Sa toxicité élevée provient essentiellement du fait que, contrairement à la plupart des autres éléments en traces métalliques, il forme des liaisons très stables avec le carbone et donne naissance à des composés difficilement dégradables dont le méthyl-mercure, composé très toxique entrant facilement dans les systèmes biologiques et étant biomagnifié le long des chaînes trophiques (Wood *et al.*, 1968 ; Greenwood, 1985 ; Cossa *et al.*, 1990 ; Lindqvist, 1991 ; Palheta & Taylor, 1995 ; Kinjo *et al.*, 1996 ; US Environmental Protection Agency, 1997 ; Porto *et al.*, 2005 ; Pacyna *et al.*, 2006). Le mercure est devenu, ces dernières années, un problème environnemental majeur (GESAMP, 1997 ; Schroeder & Munthe, 1998 ; Boening, 2002) et est à l'origine de nombreuses préoccupations en terme de santé publique (Roméo, 1991 ; WHO, 1991). Les empoisonnements au mercure des mineurs d'Almadén en Espagne au XVI^{ème} siècle (Menendez-Navarro, 1996) ; plus récemment, ceux des pêcheurs et de leur famille de la Baie de Minamata au Japon en 1953 (Fujiki & Tajima, 1992 ; Osame & Takizawa, 2001) et ceux des populations en Iraq en 1970 (Bakir *et al.*, 1973) ont révélé le potentiel létal du mercure (De Marco *et al.*, 2006 ; Israr *et al.*, 2006).

Le nickel est classé parmi les éléments traces dits essentiels (Marschner, 1995 ; Muñoz-Olivas & Camara, 2001). En excès, il peut néanmoins inhiber certains processus biochimiques au niveau des systèmes biologiques (Bhuiya & Cornfield, 1972 ; Cornfield, 1977 ; Juma & Tabatabai, 1977 ; Liang & Tabatabai, 1978 ; Al-Khafaji & Tabatabai, 1979). Chez l'homme, il peut causer des allergies de contact et être à l'origine d'eczéma des mains (Vahter *et al.*, 2007).

Le plomb fait partie des ETM non essentiels (Miquel, 2001 ; Türkmen *et al.*, 2005) les plus abondants et les plus largement répandus (Mishra *et al.*, 2006). De même que le mercure, il peut être bio-amplifié dans les systèmes biologiques devenant un potentiel contaminant pour les différents maillons trophiques (Jurado *et al.*, 2007). La toxicité du plomb s'exerce aussi bien sur les végétaux que sur les animaux et les êtres humains (Body *et al.*, 1991 ; Singh *et al.*, 1997 ; Begonia *et al.*, 1998 ; Barman *et al.*, 2000 ; Reddy *et al.*, 2005 ; Sharma & Dubey, 2005 ; Wang *et al.*, 2006). Une exposition chronique au plomb provoque des effets nocifs sur la santé humaine en affectant le système nerveux, immunitaire, rénal, gastro-intestinal, cardio-vasculaire et reproductif (WHO, 1995 ; Johnson, 1998 ; Goyer & Clarkson, 2001 ; Hsu & Guo, 2002 ; Kim, 2004).

Le zinc est un métal dit essentiel, il est impliqué dans de nombreux processus physiologiques et est donc indispensable à la vie d'un grand nombre d'organismes (Rengel, 1999). Néanmoins, à de fortes concentrations, il devient toxique pour les végétaux et les animaux et constitue de ce fait un contaminant majeur pour le milieu terrestre et aquatique (Barak & Helmke, 1993 ; Hemalatha *et al.*, 2006).

1.2.3. ETM et réglementation

Face à la généralisation de la contamination de la biosphère par des quantités toujours croissantes de polluants d'origines diverses, les pouvoirs publics, tant au niveau national qu'international, ont décidé d'œuvrer à la mise en place de mesures et réglementations (Tableau I.2).

Tableau I.2 : ETM inscrits dans la Directive Cadre Eau (DCE ; Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001), le programme 33/50 de l'United States Environmental Protection Agency (US EPA ; US Environmental Protection Agency, 1999) et la Convention OSPAR (OSPAR ; Commission OSPAR, 2006).

	Ag	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
DCE			X				X	X	X	
US EPA			X		X		X	X	X	
OSPAR			X				X		X	

2. Évaluation de la contamination métallique dans le milieu marin

Jusqu'au début des années 1970, la surveillance de la contamination métallique du milieu marin reposait uniquement sur l'analyse chimique de l'eau. Cette méthode a atteint très rapidement ses limites du fait : (i) de la forte variabilité spatio-temporelle des masses d'eaux (Ostapczuk *et al.*, 1997a) ; (ii) de la dilution des contaminants dans l'eau à l'origine de valeurs de concentrations se situant souvent près ou au-dessous des seuils de détection des instruments d'analyse et (iii) de l'importante fluctuation des concentrations selon les courants marins et l'irrégularité des rejets (Boudouresque, 1993 ; Rainbow, 1995). En outre, cette technique analytique ne fournit pas d'informations sur la biodisponibilité des éléments en traces métalliques pour les organismes et ne permet pas d'évaluer, ni même de prévoir, l'impact de ces substances sur les organismes ou, *a fortiori*, sur l'écosystème dans son ensemble (Lagadic *et al.*, 1998 ; Morillo *et al.*, 2005). C'est dans ce contexte que Goldberg (1975) propose l'utilisation d'organismes pour évaluer la qualité du milieu et que naît le concept d'indicateur biologique.

2.1. Définition du terme « indicateur biologique » ou « bio-indicateur »

Blandin (1986) définit un indicateur biologique (ou bio-indicateur) comme « ... un organisme ou un ensemble d'organismes qui - par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques - permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un éco-complexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées ». Ainsi, l'intérêt des bio-indicateurs réside essentiellement dans le fait que, en intégrant l'ensemble des paramètres environnementaux, ils mettent en évidence les conditions moyennes et non fugaces du milieu (diagnostic de la santé du milieu) et permettent ainsi de révéler la présence d'un déséquilibre au sein de l'écosystème (Glémarec *et al.*, 1980 ; Bellan, 1993 ; Ramade, 1993). Aussi les espèces choisies, pour réaliser ce type de surveillance, doivent satisfaire à un certain nombre de critères : la sédentarité, une durée de vie compatible avec les variations temporelles que l'on

souhaite mesurer, une large répartition géographique, un pouvoir d'accumulation vis à vis de la substance considérée et qui soit corrélé aux teneurs de cette dernière dans l'eau, et une facilité de prélèvement (Goldberg, 1975 ; Phillips, 1977 ; Goldberg *et al.*, 1978 ; Phillips, 1980 ; Molfetas & Blandin, 1980 ; Blandin, 1986 ; Phillips & Segar, 1986 ; Phillips, 1990 ; Arnoux, 1993 ; Phillips, 1994 ; Phillips & Rainbow, 1993 ; Soltan, 1994 ; Rainbow, 1995). En outre, la physiologie de l'espèce doit être suffisamment connue pour expliquer les variations saisonnières ou la fixation sélective d'une substance en fonction de la taille, de l'âge ou du tropisme tissulaire de l'organisme considéré (Rainbow, 1995).

2.2. Les bio-indicateurs en milieu marin

Ces bio-indicateurs ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux.

La majorité des travaux visant à l'étude des contaminants chimiques dans les écosystèmes marins ont considéré des mollusques bivalves (voir synthèse *in* Rainbow *et al.*, 2000 ; Nakhlé *et al.*, 2006). Les moules du genre *Mytilus* ont été très tôt utilisées en Europe pour la détection de contaminants (e.g. en Italie ; Majori & Petronio, 1973) mais c'est surtout aux U.S.A. que des projets ambitieux d'utilisation de ces organismes dans le cadre de réseaux de surveillance ont initialement vu le jour. En 1975, Goldberg introduit le concept de Mussel Watch. L'idée est d'utiliser les moules pour surveiller la pollution marine à une grande échelle, grâce à la très large répartition géographique de ces animaux et à leur capacité à accumuler de nombreux contaminants (Goldberg *et al.*, 1978).

Depuis, dans le cadre du concept du Mussel Watch, plusieurs espèces de moules sont utilisées dans le monde entier pour évaluer la contamination métallique des eaux littorales (e.g. Goldberg *et al.*, 1983 ; Lauenstein *et al.*, 1990 ; Rodriguez *et al.*, 1995 ; Sellali *et al.*, 1995 ; Ostapczuk *et al.*, 1997a, b ; Beliaeff *et al.*, 1998 ; Rainbow *et al.*, 2000 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Andral *et al.*, 2004b).

Outre les moules, plusieurs bivalves ont été utilisés, ou tout au moins testés, comme bio-indicateurs ; en particulier des huîtres (e.g. Catsiki & Florou, 1984 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Olivier *et al.*, 2002) mais aussi d'autres bivalves (e.g. Catsiki

& Florou, 1984 ; Roméo *et al.*, 1993 ; voir synthèse in Rainbow, 1995 ; Roméo & Gnassia-Barelli, 1995 ; Castro *et al.*, 1996 ; Usero *et al.*, 2005).

D'autres groupes sont à l'origine de travaux sur l'utilisation d'organismes dans un objectif d'évaluation de la contamination métallique du milieu marin. C'est le cas de différentes espèces d'échinodermes (e.g. Phillips, 1990 ; Warnau *et al.*, 1995 ; Flammang *et al.*, 1997 ; Warnau *et al.*, 1998 ; Bielmyer *et al.*, 2005) ; de crustacés (e.g. voir synthèse in Rainbow & Phillips, 1993 ; Guhathakurta & Kaviraj, 2000 ; Kargin *et al.*, 2001 ; Hashmia *et al.*, 2002 ; Pourang *et al.*, 2004 ; Yilmaz & Yilmaz, 2007) ; de poissons (e.g. Roméo *et al.*, 1994 ; Burgeot *et al.*, 1996 ; Guhathakurta & Kaviraj, 2000) et de cétacés (plus particulièrement de Delphinidés ; e.g. Honda *et al.*, 1983 ; Marcovecchio *et al.*, 1990, 1994 ; Frodello *et al.*, 2000 ; Zhou *et al.*, 2001 ; Monteiro-Neto *et al.*, 2003).

On note, depuis quelques années, un intérêt croissant pour l'utilisation des végétaux marins dans les études d'évaluation de la contamination du milieu (voir synthèse in Phillips, 1994 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003b). Sessiles, sensibles aux modifications de leur environnement (tant au niveau de la colonne d'eau que du sédiment), ils réagissent à la présence de contaminants de façon plus rapide (en tant que premiers échelons de la chaîne alimentaire) que les organismes occupant des niveaux plus élevés (Lovett-Doust *et al.*, 1994).

Les Chlorobiontes, Rhodobiontes et Chromobiontes ont fait l'objet de nombreux travaux quant à leur potentielle utilisation en tant que bio-indicateurs de la contamination métallique (voir synthèse in Phillips, 1994). La plupart des études s'intéressent aux espèces du genre *Enteromorpha*, *Fucus* et *Ulva* (voir synthèse in Rainbow & Phillips, 1993 ; Favero *et al.*, 1996 ; Amado Filho *et al.*, 1997 ; Leal *et al.*, 1997 ; Ostapczuk *et al.*, 1997a ; Giusti, 2001 ; Villares *et al.*, 2001 ; Barreiro *et al.* 2002 ; Caliceti *et al.*, 2002 ; Tabudravu *et al.*, 2002 ; Coelho *et al.*, 2005). Quelques études s'intéressent à d'autres genres : e.g. *Padina* (Karez *et al.*, 1994 ; Amado Filho *et al.*, 1999 ; Campanella *et al.* 2001) ; *Sargassum* (Amado Filho *et al.*, 1997, 1999) ; *Hypnea* (Amado Filho *et al.*, 1997) ; *Spyridia* (Amado

Filho *et al.*, 1997) ; *Caulerpa* (Gnassia-Barelli *et al.*, 1995 ; Warnau *et al.*, 1996 ; Sanchiz *et al.*, 1999, 2001).

Depuis quelques années, l'utilisation de plusieurs espèces de magnoliophytes marines dans une optique de surveillance et de gestion des écosystèmes littoraux est envisagée (Brix *et al.*, 1983 ; Augier, 1985 ; Ward, 1987 ; Maserti *et al.*, 1988 ; Pergent, 1991 ; Phillips, 1994 ; Abal & Dennison, 1996 ; Fourqurean *et al.*, 1997). Du fait de leur large répartition géographique (Hartog, 1970), de leur longévité, de la permanence de leur population au cours des saisons, de leur facilité de prélèvement, de leur abondance, et de leur capacité à concentrer une vaste gamme de xénobiotiques (Mc Roy & Helferich, 1980 ; Ward, 1989), les magnoliophytes marines apparaissent comme des organismes très intéressants dans le cadre d'une surveillance du milieu (Boudouresque, 2006). S'il existe de nombreuses études considérant les magnoliophytes, elles intéressent surtout les espèces *Posidonia oceanica* et *Zostera marina* (voir synthèses in Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003b ; Boudouresque, 2006). Quelques études prennent toutefois en compte d'autres espèces de magnoliophytes : e.g. *Amphibolis antarctica* (Labill.) Sonder *et* Aschers. *ex* Aschers (Harris *et al.*, 1979) ; *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson (Catsiki & Florou, 1984 ; Catsiki & Panayotidis, 1993 ; Malea, 1993 ; Malea & Haritonidis, 1995 ; Sanchiz *et al.*, 1999, 2001) ; *Cymodocea rotundata* Enreb. & Hempr. *ex* Aschers. *et* *Cymodocea serrulata* (R.Br.) Asch. & Magnus (Nienhuis, 1986) ; *Enhalus acoroides* (L.) Royle (Nienhuis, 1986) ; *Halodule uninervis* (Forssk.) Asch. *et* *Halodule pinifolia* (Miki) Hartog (Nienhuis, 1986) ; *Halodule wrightii* Aschers. (Amado Filho *et al.*, 2004) ; *Halophila ovalis* (R. Br.) Hook. *f.* (Nienhuis, 1986) ; *Halophila stipulacea* (Forsk.) Ascherson (Malea & Haritonidis, 1989b ; Malea, 1994a, b ; Malea & Haritonidis, 1996) ; *Heterozostera tasmanica* (Martins *ex* Aschers) den Hartog (Harris *et al.*, 1979 ; Fabris *et al.*, 1982) ; *Posidonia australis* Hooker (Ward, 1987), *Syringodium isoetifolium* (Aschers.) Dandy (Nienhuis, 1986) ; *Thalassia hemprichii* (Ehrenb.) Asch. (Nienhuis, 1986) ; *Thalassodendron ciliatum* (Forssk.) den Hartog (Nienhuis, 1986) ; *Zostera muelleri* Irmisch *ex* Aschers. (Harris *et al.*, 1979 ; Carter & Eriksen, 1992) ; *Zostera noltii* Hornem. (Sanchiz *et al.*, 1999).

3. *Posidonia oceanica* L. Delile

3.1. Bio-indicateur?

En Méditerranée, l'herbier à *Posidonia oceanica* constitue un puissant intégrateur de la qualité globale des eaux marines (Augier, 1985 ; Pergent, 1991 ; Pergent *et al.*, 1995 ; Pergent-Martini *et al.*, 2005b). Très largement distribué sur tout le littoral, particulièrement « réceptif » à la pollution (Augier *et al.*, 1984 ; Bourcier, 1989) et aux agressions liées aux activités humaines (Meinesz & Laurent, 1978 ; Boudouresque & Meinesz, 1982 ; Ardizzone & Pelusi, 1984 ; Tunesi & Boudouresque, 2006), solidaire du fond, il rend compte, par sa présence et sa vitalité (ou sa régression matérialisée par des « mattes mortes »), de la qualité des eaux qui dérivent au-dessus de lui. L'empreinte de la qualité des eaux sur les herbiers à *Posidonia oceanica* est permanente ; elle ne dépend pas du sens du vent ou des courants au moment de l'observation. Ainsi, de nombreux paramètres sont à même d'être enregistrés par l'herbier : (i) Turbidité moyenne des eaux (matérialisée par la position de sa limite inférieure et par la densité des faisceaux), (ii) Courants et hydrodynamisme (matérialisés par les structures érosives qui affectent la « matte »), (iii) Taux de sédimentation (matérialisé par la vitesse de croissance des rhizomes et, en cas de déficit, par leur déchaussement), (iv) Polluants stables (concentration et mémorisation des teneurs au cours du temps), (v) Dessalure au débouché de fleuves côtiers ou de nappes phréatiques (matérialisée par la disparition de l'herbier), (vi) Stress (matérialisé en particulier par la teneur de la plante en acides phénoliques et enzymes de détoxification), (vii) Matière organique et nutriments (matérialisés par les épiphytes des feuilles et la composition chimique de la plante ; Pergent, 2006). Toutefois, si plusieurs de ces descripteurs sont à ce jour bien appréhendés (normalisation des mesures, grilles de qualité) et fournissent des informations fiables et reproductibles, pour d'autres, en revanche, le décryptage se poursuit (Pergent *et al.*, 1995).

Un autre descripteur particulièrement intéressant à prendre en compte, même si sa standardisation est encore en cours, est la concentration en

contaminants (Pergent-Martini & Pergent, 2000). En effet, comme de nombreuses magnoliophytes, *Posidonia oceanica* présente à la fois (i) Un fort pouvoir de concentration en éléments traces, proportionnel aux teneurs présentes dans le milieu (Augier, 1985 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Baroli *et al.*, 2001), et (ii) Une bonne résistance à la contamination métallique (l'espèce persiste au voisinage de sources importantes). De plus, sa capacité à être maintenue en aquarium pour des expériences de contamination artificielle de courte durée (Ferrat *et al.*, 2002) et surtout sa capacité à mémoriser, au sein de ses tissus, les teneurs anciennes, alliée aux possibilités de datation offerte par la lépidochronologie, ouvrent des perspectives uniques dans le suivi au cours du temps de la pollution (Calmet *et al.*, 1988, 1991 ; Carlotti *et al.*, 1992 ; Pergent-Martini, 1998 ; Pergent & Pergent-Martini, 1999) et permettent de disposer de véritables archives biologiques à même de nous renseigner sur l'évolution temporelle d'une pollution. Aussi, *Posidonia oceanica* est souvent considérée comme un bio-indicateur de contamination métallique depuis de nombreuses années (Maserti *et al.*, 1988 ; Malea & Haritonidis, 1989a ; Sanchiz *et al.*, 1990 ; Costantini *et al.*, 1991 ; Gnassia-Barelli *et al.*, 1991 ; Catsiki & Bei, 1992 ; Catsiki & Panayotidis, 1993 ; Malea, 1993 ; Catsiki *et al.*, 1994 ; Malea *et al.*, 1994 ; Roméo *et al.*, 1995 ; Warnau *et al.*, 1995, 1996 ; Pergent-Martini, 1998 ; Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; voir synthèse in Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a).

3.2. Les herbiers à *Posidonia oceanica*

Les Magnoliophytes¹ (Plantae) continentales sont retournées dans le milieu marin il y a 120 à 100 millions d'années (Ma), au Crétacé. Leurs lointains ancêtres avaient quitté ce même milieu marin pour partir à la conquête des continents il y a environ 475 Ma, à l'Ordovicien (Boudouresque & Meinesz, 1982 ; Wellman *et al.*, 2003 ; Boudouresque, 2006).

¹ Les Magnoliophytes correspondent à ce que l'on nommait autrefois Phanérogames.

Les Magnoliophytes marines représentent 12 genres (*Amphibolis*, *Cymodocea*, *Enhalus*, *Halodule*, *Halophila*, *Heterozostera*, *Phyllospadix*, *Posidonia*, *Syringodium*, *Thalassia*, *Thalassodendron* et *Zostera*) et 60 espèces (Kuo & Hartog, 2001). Toutefois, si les Magnoliophytes marines sont peu nombreuses, leur poids écologique est considérable dans les milieux littoraux : un grand nombre d'entre elles sont des ingénieurs d'écosystèmes² ou au moins des espèces-clé³. Les écosystèmes qu'elles édifient, ou dont elles sont des acteurs majeurs, jouent un rôle considérable dans de nombreuses régions du monde dont la Méditerranée (Boudouresque, 2006).

En Méditerranée, on recense 5 espèces de Magnoliophytes marines : *Cymodocea nodosa*, *Halophila stipulacea*⁴, *Posidonia oceanica*, *Zostera marina* (Linnaeus) et *Zostera noltii* (Hornemann) ; l'espèce la plus répandue étant *Posidonia oceanica* (Hartog, 1970 ; Por, 1978 ; Kuo & Hartog, 2001 ; Short *et al.*, 1989).

3.2.1. Répartition géographique

Posidonia oceanica (Figure I.1) est une espèce endémique de la Méditerranée ; elle est présente dans presque tout le bassin méditerranéen (Boudouresque, 2006). A l'ouest, elle disparaît un peu avant le détroit de Gibraltar (Conde Poyales, 1989). A l'est, elle est absente des côtes d'Egypte (à l'Est du delta du Nil), de Palestine, d'Israël, du Liban (Por, 1978) et de la Syrie. Elle ne pénètre pas en mer Noire. Enfin, elle est rare ou absente dans l'extrême nord de l'Adriatique (Zalokar, 1942 ; Gamulin-Brida *et al.*, 1973 ; Gamulin-Brida, 1974) et le long des côtes languedociennes (Boudouresque & Meinesz, 1982).

² Un ingénieur d'écosystème (*ecosystem engineer* ou *engineering species*) est un organisme qui, directement ou indirectement, module la disponibilité des ressources (autres que la ressource qu'il peut constituer lui-même), pour les autres espèces, en provoquant des changements physiques dans le matériel biotique ou abiotique (Lawton, 1994).

³ Une espèce-clé (*key species*) est une espèce dont l'impact sur le fonctionnement de l'écosystème auquel elle participe est plus important que ce que l'on pourrait déduire de son abondance (Bond, 2001).

⁴ Espèce de mer Rouge entrée en Méditerranée par le canal de Suez.



Figure I.1 : Aspect de l'herbier à *Posidonia oceanica* (Rondinara – Corse du Sud).

3.2.2. Biologie

Posidonia oceanica est constituée par des tiges rampantes ou dressées, généralement enfouies dans le sédiment, que l'on nomme rhizomes. Les rhizomes rampants sont dits plagiotropes et les rhizomes dressés sont dits orthotropes. Les rhizomes se terminent par des groupes de 4 à 8 feuilles (faisceaux), larges de 8-11 mm et longues de 20-80 cm. Les rhizomes portent également des racines qui peuvent descendre jusqu'à 70 cm dans le sédiment (Figure I.2 et Figure I.3 ; Giraud, 1979 ; Caye, 1980 ; Boudouresque & Meinesz, 1982).

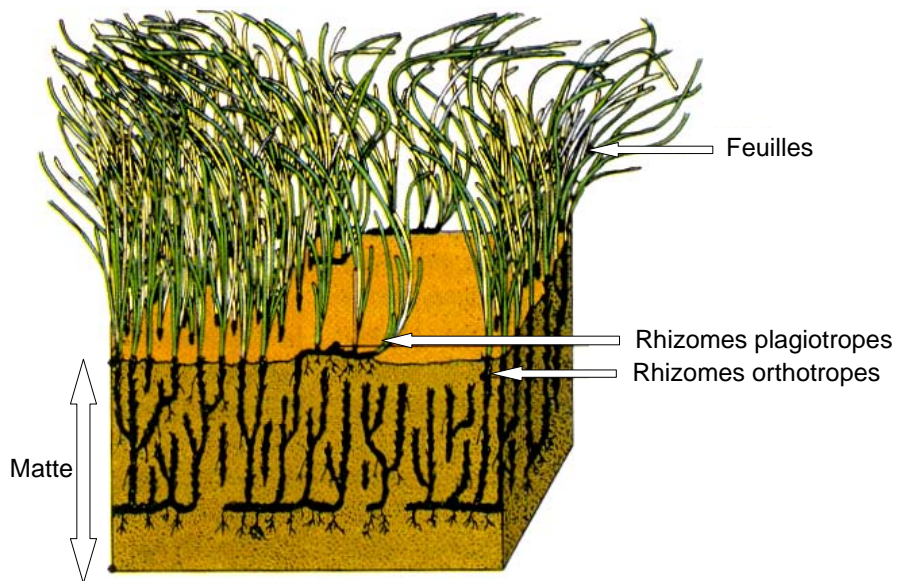


Figure I.2 : Arrangement caractéristique des rhizomes de *Posidonia oceanica* (D'après Boudouresque & Meinesz, 1982).

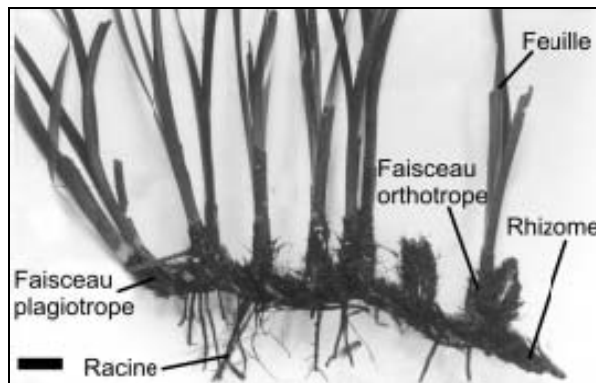


Figure I.3 : Rhizome plagiotrope de *Posidonia oceanica* dont partent vers le haut une demi-douzaine de rhizomes orthotropes et vers le bas des racines. Chaque rhizome porte un faisceau de feuilles. La barre d'échelle mesure 2 cm (D'après Boudouresque & Meinesz, 1982).

De nouvelles feuilles se forment toute l'année. Elles vivent entre cinq et huit mois, plus rarement jusqu'à 13 mois. La zone de croissance des feuilles est située à leur base. On nomme feuilles juvéniles les feuilles de moins de cinq centimètres de longueur et feuilles intermédiaires les feuilles de plus de cinq centimètres sans gaine basale (= pétiole) ; lorsque la croissance est terminée, une gaine basale se met en place : la feuille est alors dite adulte (Figure I.4 ; Giraud, 1979 ; Ott, 1980 ; Thélin & Boudouresque, 1983).

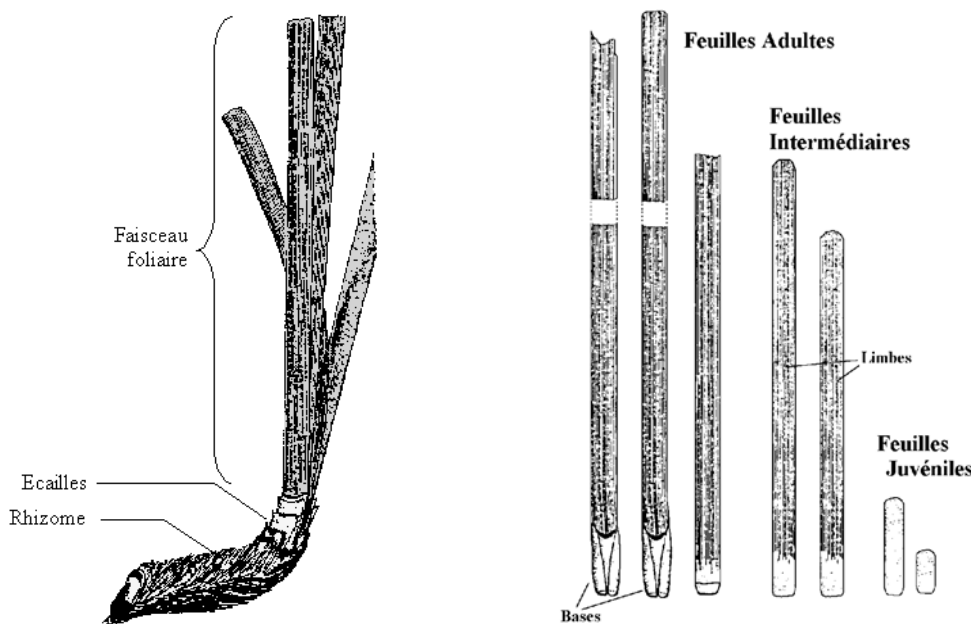


Figure I.4 : Morphologie de *Posidonia oceanica* (D'après Boudouresque & Meinesz, 1982).

A leur mort, les feuilles ne se détachent pas en totalité : seul le limbe⁵ est caduc, tandis que la gaine basale (pétiole), de quelques centimètres de longueur, reste fixée au rhizome. On lui donne alors le nom d' « écaille » (Figure I.4). La chute des feuilles, comme leur formation, se produit tout au long de l'année (Pergent & Pergent-Martini, 1991). Les écailles (comme les rhizomes) sont peu putrescibles et se conservent donc pendant plusieurs siècles ou millénaires. Toute une série de paramètres des écailles (longueur, épaisseur, anatomie) varie de façon cyclique le long d'un cycle annuel (Figure I.5). On désigne sous le nom de lépidochronologie l'analyse de ces cycles annuels (Crouzet, 1981 ; Crouzet *et al.*, 1983 ; Pergent *et al.*, 1983 ; Pergent, 1990a).

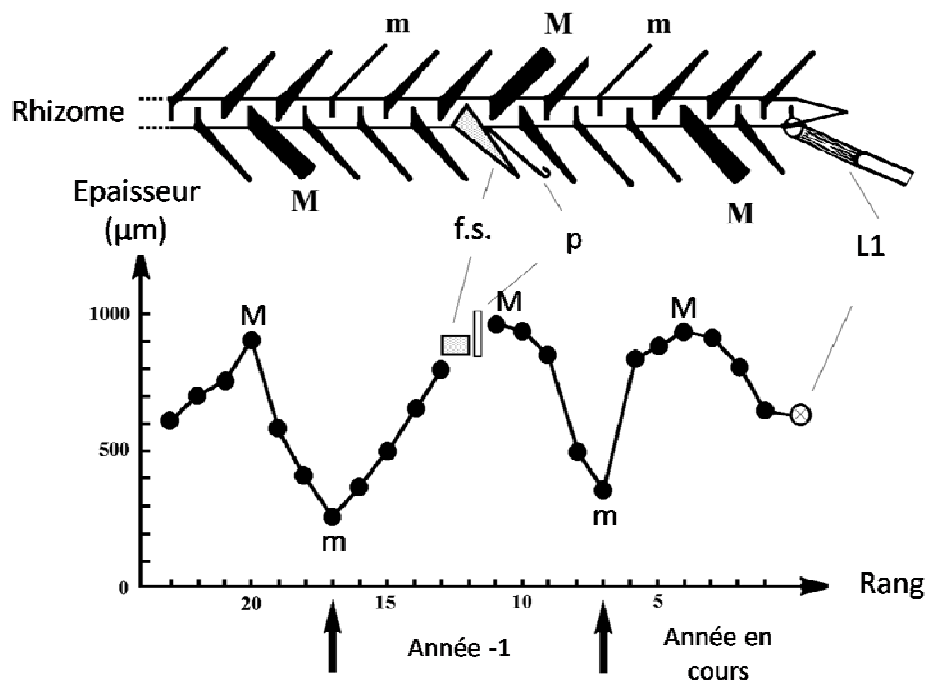


Figure I.5 : La lépidochronologie. En haut : disposition des écailles le long d'un rhizome de *Posidonia oceanica*. En bas : épaisseur des écailles (en μm). M : maximum d'épaisseur. m : minimum d'épaisseur. f.s. : restes d'un pédoncule floral. P : prophyllé (= préfeuille) accompagnant le pédoncule floral. L1 : feuille vivante la plus âgée (D'après Pergent *et al.*, 1989b).

⁵ Une feuille comporte un pétiole (base ou gaine), par lequel elle est fixée à la tige ou au rhizome, et un limbe, partie où s'effectue la photosynthèse.

La lépidochronologie constitue un outil puissant pour mesurer la vitesse de croissance des rhizomes, le nombre de feuilles formées chaque année, la dynamique d'édification des herbiers, la production primaire passée, les teneurs anciennes en contaminants, etc. (Pergent, 1990b ; Pergent & Pergent-Martini, 1990, 1991 ; Pergent *et al.*, 1992 ; Pergent-Martini & Pergent, 1994 ; Pergent-Martini, 1998).

La floraison de *Posidonia oceanica* se produit en automne. Les fleurs sont hermaphrodites et sont regroupées (4 à 10 fleurs) en une inflorescence portée par un pédoncule de 10-30 cm de longueur (Figure I.6). La floraison ne se produit pas tous les ans, surtout dans les eaux relativement froides du nord de la Méditerranée Occidentale. Certaines années (e.g. 1971, 1982, 1993, 1997 et 2003) ont été marquées par une floraison particulièrement intense à l'échelle de l'ensemble de la Méditerranée (Giraud, 1977b ; Boudouresque & Meinesz, 1982 ; Mazzella *et al.*, 1983, 1984 ; Caye & Meinesz, 1984 ; Pergent, 1985 ; Pergent *et al.*, 1989a ; Acunto *et al.*, 1996 ; Piazzini *et al.*, 1999 ; Gobert *et al.*, 2005). La floraison semble induite par des températures printanières et/ou estivales élevées et par une température avoisinant 20°C en octobre (Caye & Meinesz, 1984 ; Pergent *et al.*, 1989a ; Stoppelli & Peirano, 1996).

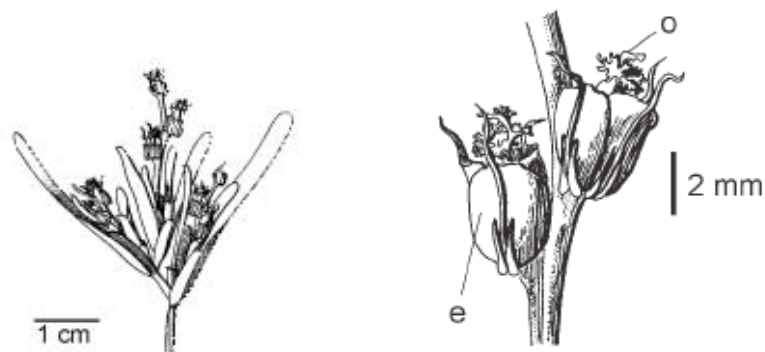


Figure I.6 : A gauche : une inflorescence de *Posidonia oceanica*. A droite : deux fleurs ; les étamines (e) sont situées à l'extérieur ; on aperçoit le sommet de l'ovaire doté de denticulations susceptibles d'accrocher le pollen filamenteux (o). D'après Hartog (1970).

La fécondation donne naissance à des fruits (Figure I.7) qui se détachent de la plante à maturité, au printemps (6 à 9 mois de maturation). Ces fruits ont la forme

et la dimension d'une olive ; leur couleur est vert foncé puis brun foncé à noir (Figure I.7). Ils contiennent une seule graine. Ces fruits flottent un certain temps. Selon l'orientation des courants ils s'échouent sur la plage ou s'ouvrent libérant la graine qui coulera vers le fond, où elle germera, sans période de dormance, si les conditions du substrat sont favorables (Hartog, 1970 ; Boudouresque & Meinesz, 1982 ; Caye & Meinesz, 1984 ; Cinelli *et al.*, 1995). Bien que le potentiel de germination des graines soit élevé (Balestri *et al.*, 1998) et que de jeunes plants issus de graines aient déjà été observés *in situ* (Acunto *et al.*, 1996 ; Piazzini *et al.*, 1996 ; Balestri *et al.*, 1998 ; Gambi & Guidetti, 1998 ; Piazzini *et al.*, 1999), la reproduction sexuée n'aboutit que rarement à l'installation de nouveaux individus en milieu naturel, de telle sorte que la reproduction asexuée (végétative) par bouturage constitue le mode de reproduction privilégié de l'espèce (Molinier & Picard, 1952 ; Meinesz *et al.*, 1992 ; Procaccini & Mazzella, 1996).

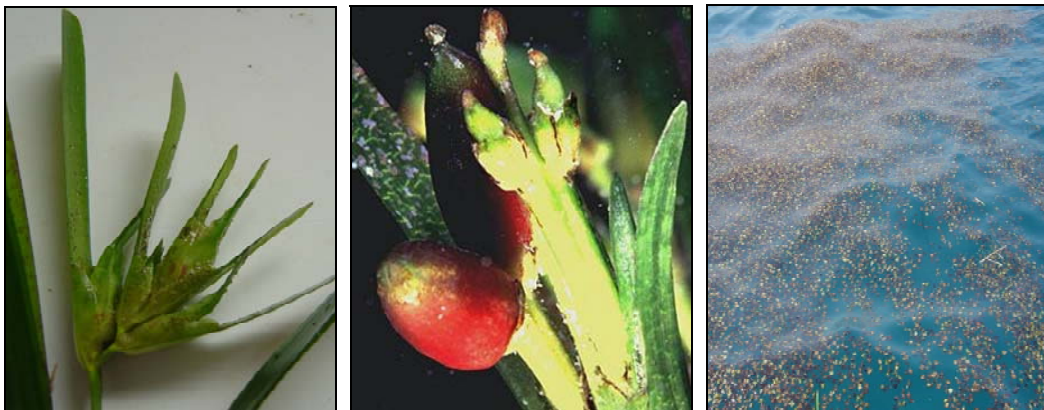


Figure I.7 : Fruits de *Posidonia oceanica* (« olives de mer »). A gauche : Début de fructification (Photo de G. Pergent). Au centre : Fruits mûrs (couleur brun-rouge ; Photo internet France 3). A droite : Fruits à la surface de l'eau (Photo de G. Pergent).

3.2.3. Ecologie

Comme l'ensemble des magnoliophytes, *Posidonia oceanica* est très sensible à la disponibilité en lumière et ne peut survivre en dessous de 10 à 16% de l'irradiance de surface (Alcoverro *et al.*, 2001 ; Ruiz & Romero, 2001). La lumière constitue l'un des facteurs les plus importants pour la répartition et la densité des herbiers à *Posidonia oceanica* (Elkalay *et al.*, 2003).

Posidonia oceanica est une espèce sténohaline, ne pouvant survivre en dessous de 33‰ (Ben Alaya, 1972) ; ce qui explique son absence au niveau des étangs saumâtres de la côte languedocienne et au voisinage de l'embouchure des fleuves côtiers. Elle semble mieux résister aux salinités élevées, bien que Ben Alaya (1972) ait indiqué que 41‰ constituait sa limite supérieure de tolérance, puisqu'elle a été observée dans des lagunes hypersalines en Tunisie et Lybie (Pergent & Zaouali, 1992 ; Pergent *et al.*, 2002).

Posidonia oceanica est présente pour des températures situées entre 10.5 et 30.0°C ; sa croissance est optimale entre 17.0 et 20.0 °C (Hartog, 1970 ; Ben Alaya, 1972 ; Augier *et al.*, 1980). Les températures extrêmes mesurées dans un herbier sont 9.0 et 29.2 °C (récif-barrière de la baie de Port-Cros, Var, France ; Augier *et al.*, 1980 ; Robert, 1988). Celebi *et al.* (2006) indique comme limite maximale de température pour la croissance de *Posidonia oceanica* la valeur de 28.4 °C.

Posidonia oceanica craint un hydrodynamisme trop intense. Les tempêtes arrachent des faisceaux de feuilles, dont certains constitueront des boutures. Elles peuvent éroder la « matte⁶ », soit directement, soit en la vidant de son sédiment, ce qui la fragilise (Boudouresque, 2006).

3.2.4. Rôles

Les herbiers à *Posidonia oceanica* jouent un rôle écologique fondamental : e.g. puits de carbone atmosphérique, stabilisation des sédiments, atténuation de l'hydrodynamisme et protection des côtes, maintien de la biodiversité et de la

⁶ On nomme « matte » l'ensemble constitué par les rhizomes, les écailles, les racines et par le sédiment qui remplit les interstices. Les rhizomes, les écailles et les racines sont peu putrescibles et se conservent donc à l'intérieur de la « matte » pendant plusieurs siècles ou millénaires (Boudouresque *et al.*, 1980 ; Boudouresque & Jeudy de Grissac, 1983).

productivité des zones côtières, base des réseaux trophiques, frayères, nurseries et habitats pour nombre d'organismes, oxygénation des sédiments et de la canopée, participation à la clarification des eaux (synthèse *in* Boudouresque, 2006). De ce fait, ils jouent également un rôle économique majeur (synthèse *in* Boudouresque, 2006). La prise de conscience de l'importance des herbiers à *Posidonia oceanica* au niveau écologique et économique s'est traduite par la mise en œuvre de dispositions nationales, de directives communautaires (Union Européenne ; e.g. Directive Habitats 92/43/CEE) et de conventions internationales pour la protection de ces formations végétales (e.g. Convention de Berne et Convention de Barcelone ; synthèse *in* Pergent-Martini *et al.*, 2006).

Depuis quelques années, plusieurs études s'intéressent également à l'utilisation de *Posidonia oceanica* en tant que bio-indicateur de la qualité des eaux (voir 2.2. Les bio-indicateurs en milieu marin).

4. Cadre de l'étude et objectifs

4.1. Cadre de l'étude

Cette thèse de doctorat s'inscrit dans le cadre de recherches menées au sein de l'équipe « Ecosystèmes Littoraux » de l'Université de Corse et plus particulièrement dans le cadre du Groupement de Recherches (GdR) « Gestion des écosystèmes littoraux méditerranéens » réalisé en collaboration avec le centre Ifremer Provence-Azur-Corse, la Station de Recherche Sous Marines et Océanographiques (STARESO), située à Calvi, et le Groupement d'Intérêt Scientifique Posidonie (GIS Posidonie). Ce GdR visait notamment à tester les potentialités de deux organismes bioindicateurs (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 et *Posidonia oceanica*) dans l'optique d'une surveillance de la contamination métallique du milieu marin. Une partie de ce travail de thèse s'inscrit également dans le cadre du programme communautaire INTERREG (N° MCD IIIA-03/08) associant la Province sarde de Sassari, la région Corse et la région Toscane. Ce programme a été mis en place en renforcement du GdR dans une optique de surveillance des écosystèmes aquatiques côtiers et a concerné la

protection et la mise en valeur de l'environnement marin méditerranéen et la mise en œuvre d'un « Monitoring de la Qualité de l'eau et de l'environnement marin » (MoniQua). Des résultats, issus d'autres programmes de recherches, menés par l'équipe « Ecosystèmes littoraux » ou le GIS Posidonie – Centre de Corse (e.g. INTERREG IIIA « Porime », INTERREG IIIB « Posidonia ») sont également utilisés dans le cadre de cette thèse.

4.2. Objectifs

L'objectif de ce travail est d'évaluer les potentialités de la magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* dans l'étude de la contamination métallique des écosystèmes littoraux. Ce thème, bien qu'ayant donné lieu à plusieurs études récentes (Pergent-Martini, 1998 ; Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a), pose encore un certain nombre d'interrogations auxquelles nous allons tenter de répondre :

- i. Plusieurs études (voir synthèse *in* Pergent-Martini & Pergent, 2000) soulignent la présence de variations saisonnières importantes des concentrations métalliques mesurées dans les tissus de *Posidonia oceanica*. Il semble donc nécessaire de quantifier et rechercher l'origine de telles variations. Dans le cadre de ce travail, nous étudierons donc l'évolution temporelle des concentrations de plusieurs métaux traces dans les tissus foliaires de *Posidonia oceanica* dans deux sites présentant des niveaux d'anthropisation différents.
- ii. Du fait de sa situation géographique et d'une pression humaine réduite, la Corse est généralement considérée comme peu soumise aux apports métalliques d'origine anthropique. Toutefois, la plupart des études réalisées dans cette région ne concernent qu'un petit nombre de sites (souvent le site de Calvi) et/ou se focalisent uniquement sur l'accumulation du mercure (Maserti *et al.*, 1988 ; Warnau *et al.*, 1995, 1996 ; Pergent-Martini, 1998 ; Capiomont

et al., 2000 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a). La question qui se pose alors est la suivante : Est-il correct de considérer l'ensemble du littoral de la Corse comme une zone de référence en termes de contamination métallique ? Afin de mieux évaluer les niveaux de contamination métallique de ce secteur, nous nous emploierons donc à déterminer les concentrations en métaux (six considérés) de plusieurs herbiers (16) du littoral insulaire.

- iii. *Posidonia oceanica* est souvent considérée comme un bio-indicateur fiable de la contamination métallique des écosystèmes littoraux. Dans le cadre de ce travail, il a semblé intéressant de vérifier cette hypothèse en comparant ses potentialités de bio-indicateur à celles d'outils de surveillance utilisés dans le cadre de réseau reconnu (O'Connor, 1996 ; Goldberg & Bertine, 2000 ; Andral *et al.*, 2004b ; Morillo *et al.*, 2005 ; Usero *et al.*, 2005). A cet effet nous comparerons les concentrations métalliques mesurées dans les tissus de *Posidonia oceanica* à celles mesurées dans l'eau, le sédiment, et le bio-indicateur *Mytilus galloprovincialis*, au niveau de trois sites du bassin méditerranéen.
- iv. La mise en place d'une gestion durable de la biodiversité requiert aujourd'hui de disposer d'outils à même de caractériser la qualité des masses d'eau et d'en suivre l'évolution. C'est dans ce contexte, que plusieurs démarches internationales ont été initiées (e.g. Directive Cadre Eau, Directive Stratégie Marine, Stratégie Méditerranéenne de Développement Durable, Stratégie Horizon 2020). Aussi, dans le cadre de ce travail, nous proposerons des grilles visant à évaluer et à comparer les niveaux de contamination métallique d'herbiers à *Posidonia oceanica*, à partir de mesures réalisées dans une quarantaine de sites du bassin nord-occidental méditerranéen.
- v. Roméo *et al.* (1995) et Pergent-Martini (1998) ont émis l'hypothèse selon laquelle *Posidonia oceanica* était en mesure de « mémoriser » les teneurs anciennes en contaminants métalliques, et plus particulièrement en mercure. Nous chercherons donc à vérifier si cette espèce peut effectivement être

utilisée comme “traceur” de la contamination mercurielle passée. Pour ce faire, nous tenterons de reconstituer les teneurs en mercure qui avaient prévalu dans les limbes foliaires, formés il y a plusieurs années, à partir de celles mesurées dans les écailles correspondantes conservées au sein de la matte.

CHAPITRE II

Temporal evolution of metal

concentrations in Posidonia

oceanica

CHAPITRE II

Temporal evolution of metal concentrations in *Posidonia oceanica*⁷

Abstract

Ten trace metals (Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, and Zn) have been measured in foliar tissues of *Posidonia oceanica* in four sites (Calvi, Canari, Marseilles and Toulon) which have different levels of human impact. The metal concentration, in a given tissue, was followed over time by successive samplings. The results show that most of the metals' concentration increase over time (/ageing of the tissues). They equally show that the temporal evolution is more pronounced in the site of Toulon, which is the most contaminated site. A phenomenon of biological dilution of metal accumulation by *Posidonia oceanica* is hypothesized and quantified. This study shows the necessity of considering the age of the tissues and the biological dilution, in order to compare data from literature and to set up biomonitoring networks based on this bio-integrator of metal contamination.

Keywords : metal contamination, temporal evolution, *Posidonia oceanica*, tissue age, biological dilution, Mediterranean Sea

⁷ Pergent, G., Lafabrie, C., Kantin, R., Pergent-Martini, C., submitted (*Aquatic Toxicology*). Temporal evolution of metal concentration in *Posidonia oceanica*.

1. Introduction

Several marine organisms are able to accumulate in their tissues a wide range of pollutants (Phillips, 1977 ; Goldberg *et al.*, 1978 ; Franke *et al.*, 1994). Among these organisms, mussels of the genus *Mytilus* are proposed as good metal bio-indicators and have been extensively used in “Mussel Watch” programs in the US and Europe (Goldberg *et al.*, 1978 ; Zatta *et al.*, 1992 ; Ostapczuk *et al.*, 1997a ; Beliaeff *et al.*, 1998 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Andral *et al.*, 2004b). However, many biological and environmental factors influence the metal accumulation, such as body size (Wang & Fisher, 1997), sex and reproductive status (Lobel *et al.*, 1991), salinity, season and organic matter (De Kock & Kramer, 1994 ; Fisher *et al.*, 1996) and tidal height (Phillips, 1976 ; Lobel & Wright, 1982). Thus, some studies aimed at developing protocols which take into account biological and ecological parameters in the determination of metal contamination levels (Lobel *et al.*, 1991).

Seagrass are also able to accumulate trace metals (Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003b) ; however, as for mussels, seasonal changes can modify these values (Pergent-Martini & Pergent, 2000). In the case of *Posidonia oceanica* L. Delile, an endemic species of the Mediterranean Sea, seasonal variations in metal contamination levels could be explained by a dilution of contaminants due to the biomass increase and/or to the type and age of the tissue taken into account (Capiomont *et al.*, 2000). This highlights the necessity of an improved knowledge on the origin of these variations in order to develop the use of seagrass as metal bio-indicator.

Therefore, the aim of this study is, firstly to understand the temporal evolution of metal concentrations in a given tissue of *Posidonia oceanica* according to its age, and secondly to quantify the effect of biological dilution involved in metal accumulation.

2. Material and methods

Samples were collected in four locations of the French Mediterranean coast : Calvi, Canari, Marseille and Toulon (Figure II.1).

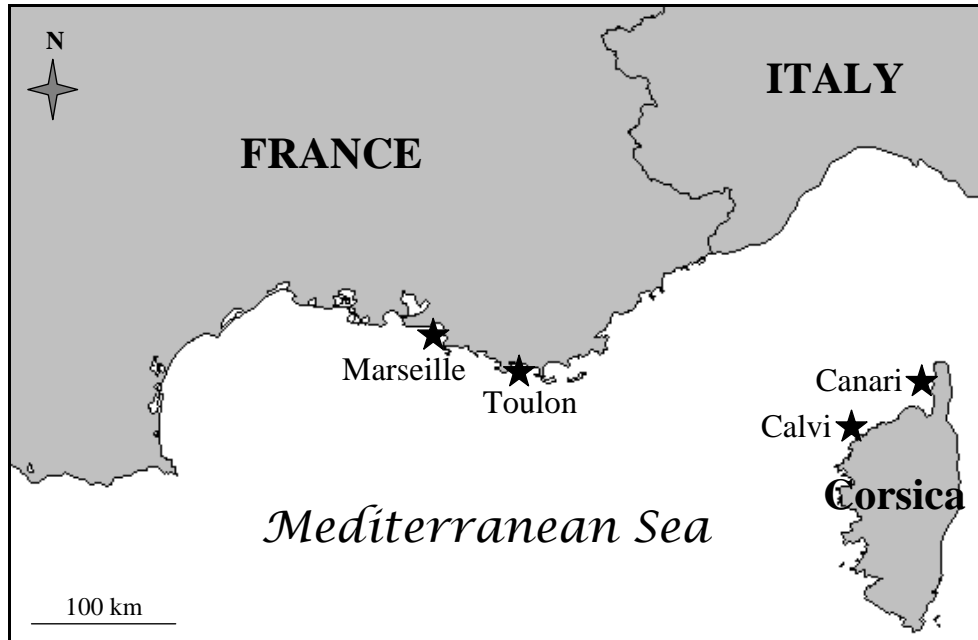


Figure II.1 : Sampling locations (Calvi, Canari, Cortiou and Toulon).

In Corsica, Calvi is situated in a zone considered to be pristine or with a low human impact (Pergent-Martini, 1998) whereas Canari is situated in proximity of a previous asbestos mine. On the French Riviera, Cortiou is situated in proximity of the outlet of the depuration plant of the town of Marseilles whereas Toulon is subject to its industrial and commercial harbour.

Posidonia oceanica shoots were collected at 10 ± 1 m depth by scuba divers between March and July 2003, in three sites (Calvi, Canari and Toulon ; Table II.1) ; in April (t0) and July (t8) 2004, in four sites (Calvi, Canari, Cortiou and Toulon) and between April and December 2004 in Calvi.

Table II.1 : Sampling dates of *Posidonia oceanica* shoots collected in 2003.

	t0	t1	t2	t3	T4	t5	t6	t7	t8
Calvi	5 April	18 April	30 April	14 May	27 May	11 June	26 June	10 July	19 July
Canari	3 April	-	-	-	-	-	-	-	17 July
Toulon	26 March	23 April	29 April	14 May	27 May	11 June	24 June	07 July	-

Leaves were sorted according to the protocol of Giraud (1979) and lepidochronology was performed on rhizomes and dead sheath (Pergent & Pergent-Martini, 1990). The leaf renewal cycle, which takes into account the rhythm of leaf formation, of leaf fall and leaf longevity, was then determined (Pergent & Pergent-Martini, 1990). Epiphytes and sediments were removed from the leaves using a glass strip. Samples were rinsed (ultrapure water), frozen, lyophilized and reduced to a powder.

In this study, the metals analysed were : arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), copper (Cu), chromium (Cr), mercury (Hg), nickel (Ni), lead (Pb), silver (Ag) and zinc (Zn). Hg concentrations were determined using a cold vapour atomic absorption spectrometer (CV-AAS ; see method used in Capiomont *et al.*, 2000). Other trace metals analyses were run by atomic absorption spectrometry with quality assurance procedures at the Laboratory of Rouen / ETSA (France). The accuracy of the method was evaluated by calibration vs. an international standard (CRM 60 : *Lagarosiphon major*, Community Bureau of Reference – BCR, Brussels).

3. Results

Determination of the age of leaf tissues

The lepidochronological method, associated to phenological data, gives the opportunity to determine precisely the leaf renewal cycle ; that is to say the rhythm of leaf formation, leaf longevity and rhythm of leaf fall (Pergent &

Pergent-Martini, 1990). It is then possible to follow, over time, the composition of the shoot (number and type of leaves) and the evolution of the rank of a given tissue (Figure II.2). For instance, in the site of Calvi, the youngest adult leaf in t0 (Rank A1), became Rank A2 in t3, Rank A3 in t6 and finally Rank A4 in t8 (Figure II.2).

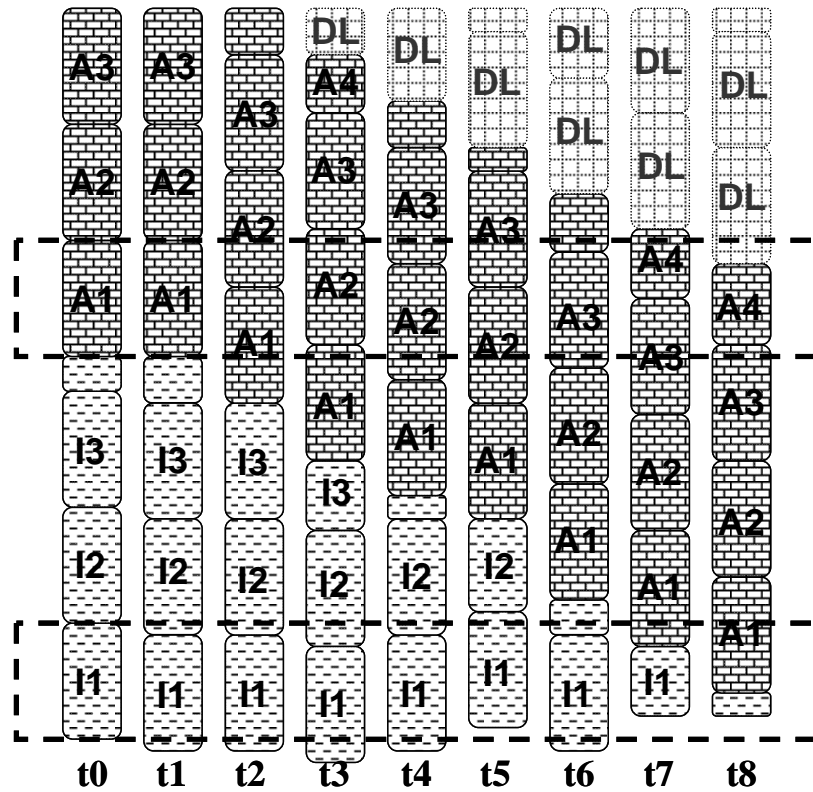


Figure II.2 : Mean evolution of shoots, over time (t0 to t8), in the site of Calvi. A = Adult leaves, I = Intermediate leaves, DL = Dead leaf.

Temporal evolution of mercury concentrations

The analysis of mercury contamination over time is based on the position of a given tissue according to the sampling period (Table II.2).

Table II.2 : Rank of analyzed tissues according to the date of sampling in the site of Calvi.

Sampling date	t0	t1	t2	T3	T4	t5	T6	t7	T8
Adult tissues	A1	A1	A1+A2	A2	A2	A2+A3	A3	A3+A4	A4
Intermediate tissues	I1	I1	I1	I1	I1	I1	I1	I1	A1

The contamination of tissues increases regularly over time (Figure II.3 and Figure II.4) ; this temporal evolution is more pronounced in the site of Toulon, which shows a higher contamination level than the other sites.

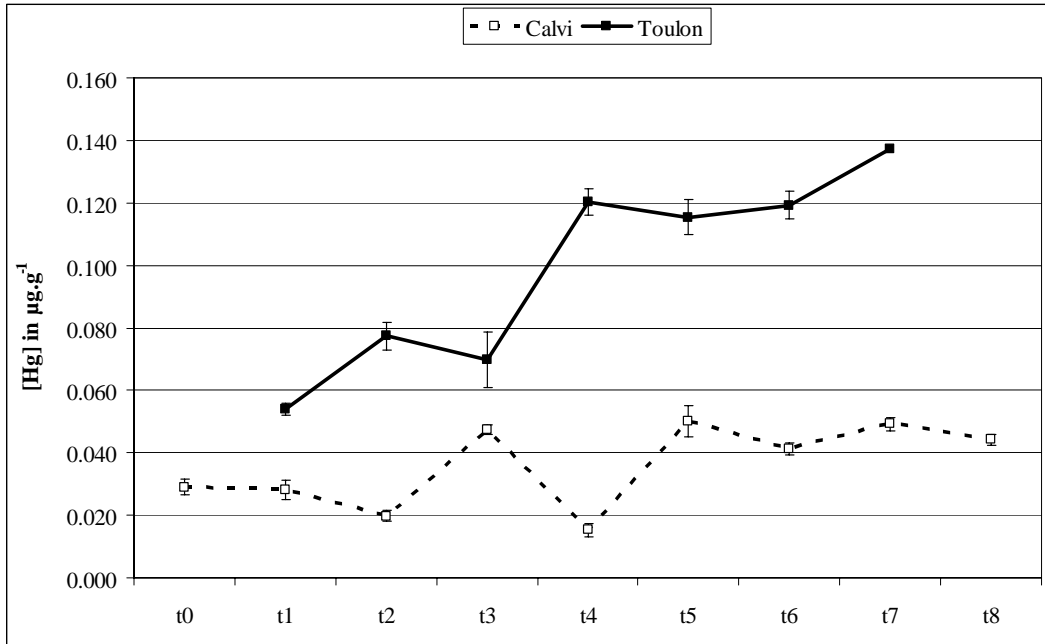


Figure II.3 : Evolution of Mercury concentrations in the blades of adult leaves over time (mean and SE in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.).

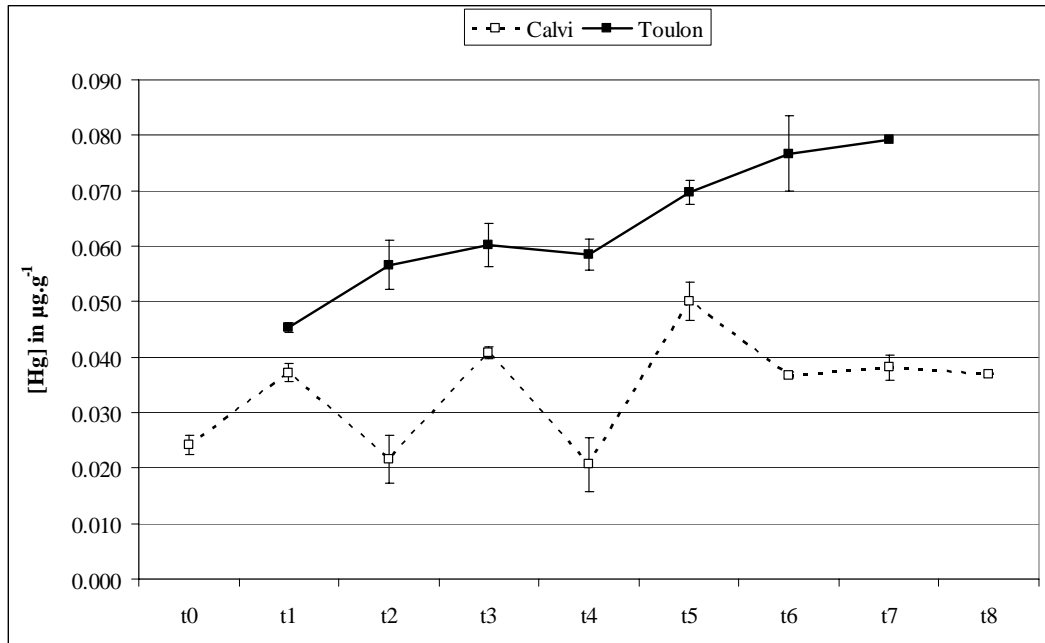


Figure II.4 : Evolution of Mercury concentrations in intermediate leaves over time (mean and SE in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.).

For instance, the contamination ranges in adult blades from 0.029 ± 0.002 to $0.044 \pm 0.002 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. for Calvi and 0.054 ± 0.004 to $0.137 \pm 0.005 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. for Toulon. In intermediate leaves it ranges from 0.024 ± 0.002 to $0.037 \pm 0.000 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. for Calvi and 0.045 ± 0.003 to $0.079 \pm 0.007 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. for Toulon.

The temporal evolution observed between April and December 2004 in Calvi, from young intermediate leaves to old adult blades, exhibits the same pattern, with an increase of Mercury contamination according to the age of tissues (Figure II.5). Moreover, the evolution between 2003 (t1, t3, t5 and t7) and 2004 (April to July), for intermediate leaves, is similar with an interval of one month ($r=0.91$ with $k=1$).

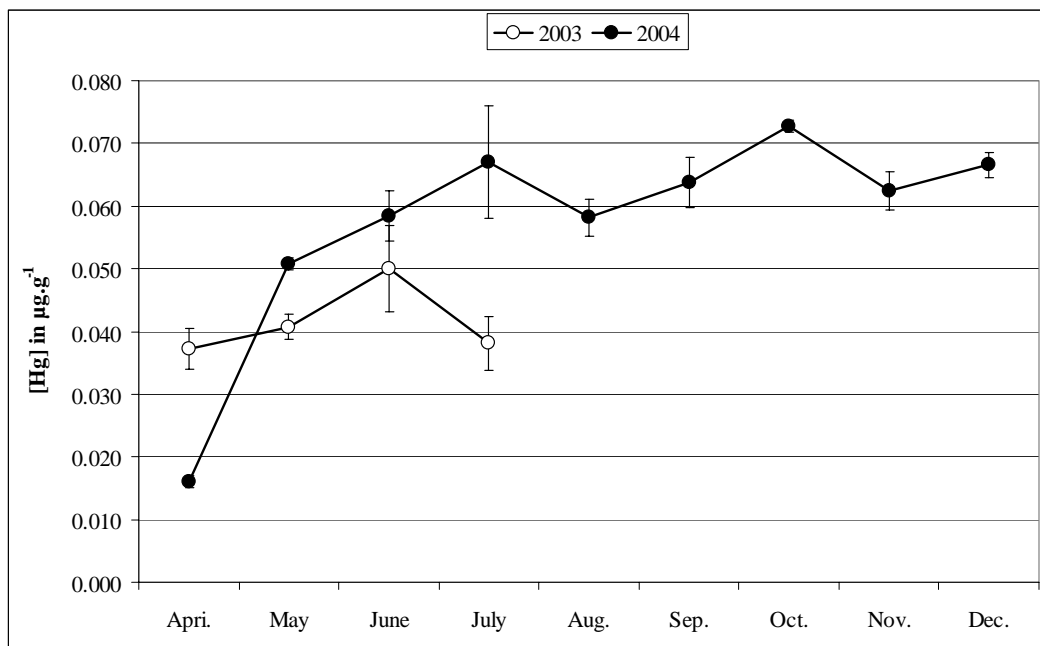


Figure II.5 : Evolution of Mercury concentrations in the foliar tissues according to their age (mean and SE in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).

Temporal evolution of the concentrations of the others metals

The evolution of metal concentration in a given tissue (blade of adult leaves) between April and July 2004 is determined (Table II.3).

Table II.3 : Metal concentrations measured in the four studied sites in April and July 2004 (mean \pm S.E. ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; the location presenting the maximum value for a given metal is in bold).

	CALVI		CANARI	
	April	July	April	July
Ag	0.47 \pm 0.03	0.15 \pm 0.04	0.70 \pm 0.00	0.40 \pm 0.00
As	1.03 \pm 0.03	1.33 \pm 0.09	1.20 \pm 0.10	1.63 \pm 0.22
Cd	4.97 \pm 0.11	2.18 \pm 0.23	5.56 \pm 0.15	5.38 \pm 0.14
Co	3.03 \pm 0.09	2.33 \pm 0.22	8.30 \pm 0.36	12.07 \pm 0.52
Cr	0.13 \pm 0.03	0.33 \pm 0.03	0.70 \pm 0.06	1.27 \pm 0.23
Cu	12.73 \pm 1.06	9.40 \pm 0.06	24.37 \pm 0.49	18.43 \pm 0.98
Hg	0.020 \pm 0.003	0.067 \pm 0.004	0.059 \pm 0.005	0.073 \pm 0.001
Ni	26.43 \pm 1.34	17.50 \pm 1.06	55.33 \pm 0.99	60.30 \pm 3.67
Pb	2.20 \pm 0.31	2.67 \pm 0.82	0.97 \pm 0.03	1.47 \pm 0.03
Zn	130.67 \pm 1.20	111.97 \pm 9.84	136.33 \pm 2.96	167.67 \pm 8.82
	CORTIOU		TOULON	
	April	July	April	July
Ag	1.07 \pm 0.03	0.60 \pm 0.10	0.47 \pm 0.03	0.40 \pm 0.00
As	1.13 \pm 0.03	1.23 \pm 0.03	1.40 \pm 0.06	2.20 \pm 0.15
Cd	3.14 \pm 0.07	2.14 \pm 0.11	2.27 \pm 0.03	1.81 \pm 0.14
Co	2.20 \pm 0.12	2.10 \pm 0.06	2.13 \pm 0.09	4.67 \pm 1.27
Cr	0.27 \pm 0.03	0.30 \pm 0.06	0.13 \pm 0.03	0.50 \pm 0.10
Cu	21.37 \pm 2.02	9.97 \pm 0.22	27.27 \pm 0.92	15.73 \pm 0.69
Hg	0.092 \pm 0.004	0.069 \pm 0.002	0.099 \pm 0.002	0.118 \pm 0.009
Ni	18.87 \pm 1.42	20.67 \pm 0.56	14.50 \pm 0.10	20.00 \pm 0.81
Pb	2.53 \pm 0.27	3.23 \pm 0.32	3.40 \pm 0.28	5.57 \pm 0.30
Zn	103.67 \pm 0.88	83.60 \pm 1.35	154.33 \pm 4.84	174.67 \pm 12.14

The site of Canari shows the highest Cd, Co, Cr and Ni values, the site of Cortiou the highest Ag values and the site of Toulon the highest As, Cu, Hg, Pb and Zn values (ANOVA, $P < 0.05$; Table II.3). The site of Calvi, on the other hand, generally shows the lowest values for all contaminants.

Most of the contaminants (As, Co, Cr, Hg and Pb) significantly ($P \geq 0.05$) increase over time (/ageing tissues) or remain stable (Ni and Zn ; Table II.3). However, the concentrations of Ag, Cd and Cu decrease significantly over time (ANOVA, $P < 0.05$).

Biological dilution

The foliar biomass, estimated from the length of the leaves, allows to consider and investigate the potential phenomenon of biological dilution. Thus, a corrective coefficient, which corresponds to the ratio between the actual length of the blade at a given time and the mean length of blades, is applied (Table II.4).

Table II.4 : Evolution over time of blade length (Bl. L., in mm), in Calvi and in Toulon, and determination of the corrective coefficient (Coef.).

Calvi	t0	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7	t8	Mean
Bl. L.	544.5	473.6	553.4	605.7	703.4	650.9	753.6	786.7	835.0	656.3
Coef.	0.83	0.72	0.84	0.92	1.07	0.99	1.15	1.20	1.27	
Toulon	t0	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7	t8	Mean
Bl. L.	-	344.0	430.9	504.9	518.7	606.2	691.5	705.4	-	543.1
Coef.	-	0.63	0.79	0.93	0.96	1.12	1.27	1.30	-	

The application of this corrective coefficient to the mercury concentrations measured in the blades of the adult leaves allows to obtain a corrected concentration, which will be independent of the tissue biomass (Figure II.6). The temporal evolution of metal concentrations obtained with the corrected values is similar to that obtained with the measured values, however it leads to an increase in the coefficient of determination (R^2) ; it ranges from 0.34 to 0.66 for the site of Calvi, and from 0.86 to 0.98 for the site of Toulon.

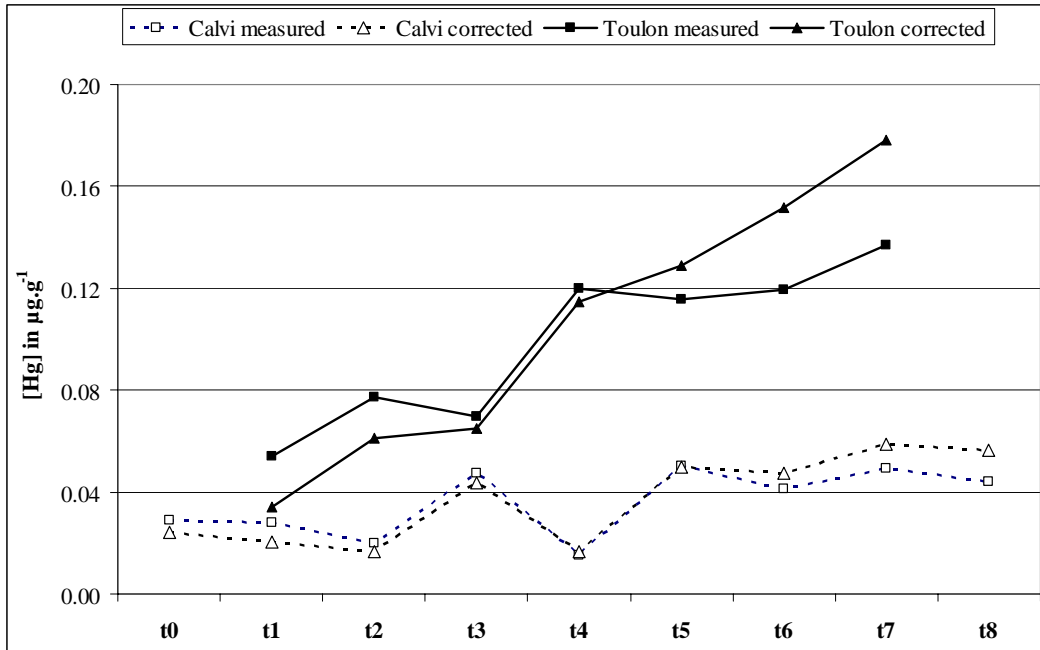


Figure II.6 : Evolution of Mercury concentration in the blades of adult leaves according to time, in Calvi and Toulon (measured and corrected values, in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.).

The same approach is applied to the others metals in sites for which we have a temporal evolution of contamination that allows the definition of the corrective coefficient (Calvi and Toulon ; Table II.5).

Table II.5 : Metal concentrations (corrected values) in Calvi and Toulon in April and July 2004 (mean \pm S.E. ; in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.).

	CALVI		TOULON	
	April	July	April	July
Ag	0.39 \pm 0.03	0.19 \pm 0.06	0.29 \pm 0.02	0.52 \pm 0.00
As	0.86 \pm 0.03	1.69 \pm 0.11	0.88 \pm 0.04	2.86 \pm 0.20
Cd	4.13 \pm 0.09	2.77 \pm 0.29	1.43 \pm 0.02	2.35 \pm 0.18
Co	2.52 \pm 0.07	2.96 \pm 0.28	1.34 \pm 0.06	6.07 \pm 1.65
Cr	0.11 \pm 0.03	0.42 \pm 0.04	0.08 \pm 0.023	0.65 \pm 0.13
Cu	10.57 \pm 0.88	11.94 \pm 0.07	17.18 \pm 0.58	20.45 \pm 0.90
Hg	0.016 \pm 0.002	0.086 \pm 0.005	0.062 \pm 0.001	0.153 \pm 0.012
Ni	21.94 \pm 1.12	22.23 \pm 1.34	9.14 \pm 0.06	26.00 \pm 1.05
Pb	1.830 \pm 0.25	3.39 \pm 1.04	2.14 \pm 0.13	7.24 \pm 0.39
Zn	108.45 \pm 1.00	142.20 \pm 12.50	97.23 \pm 3.05	227.07 \pm 15.79

These results confirm the temporal evolution of metal concentrations in relation to the age of the tissue. Thus, using the corrected values of metal concentration ; in Toulon, all the considered trace metals increase (Mann-Whitney

test, $P < 0.05$; Table II.5) ; and in Calvi, where the contamination is lower, six metals out of ten (As, Co, Cr, Hg, Pb and Zn) equally increase significantly.

4. Discussion

The lepidochronology technique, which gives information on the age of the foliar tissues whatever the period of the year, allows to determine precisely the temporal evolution of metal concentrations. This temporal evolution appears to be synchronous from year to year, especially when considering the small gaps which can occur naturally in the vegetative cycle of the plant according to the meteorological conditions. Indeed, the higher temperatures recorded during the spring 2003 (in comparison to 2004) induced an earlier and faster growth of the foliar shoot during the spring period (Table II.6).

Table II.6 : Mean water temperature (T° in °C ; STARESO, unpublished data) and foliar surface (FS ; in cm²) of *Posidonia oceanica* in Calvi.

		April	May	June	July
2003	T°	14.2	18.2	29.9	25.5
	FS	32.2	51.7	52.2	59.6
2004	T°	13.5	15.7	19.6	23.0
	FS	23.1	37.7	52.3	41.0

Variations in metal concentration in *Posidonia oceanica* tissues have been observed : according to the period of sampling, metal concentrations vary from 3% (Cd in Canari) to 73% (Cu in Toulon ; Table II.3). Several hypotheses can be proposed to explain this phenomenon : the effect of the age of the tissue, the biological dilution and/or mechanisms of detoxification (see synthesis in Pergent-Martini & Pergent, 2000 and in Ferrat *et al.*, 2003a).

- ✓ Several authors highlight the importance of the age of tissues in metal accumulation (Drifmeyer *et al.*, 1980 ; Brix *et al.*, 1983 ; Brix & Lyngby, 1984 ; Ward, 1987 ; Lyngby & Brix, 1989 ; Malea, 1994a ; Capiomont *et al.*, 2000). Indeed, they observed an increase in metal concentrations related to the increasing age of tissues in several seagrass species (Drifmeyer *et al.*, 1980 ; Brix *et al.*, 1983 ; Brix & Lyngby, 1984 ; Ward,

1987 ; Lyngby & Brix, 1989 ; Malea, 1994a ; Capiomont *et al.*, 2000). In the same way, Warnau *et al.* (1996) showed, in controlled laboratory experiments, that, in *Posidonia oceanica*, Zn and Cd were linearly accumulated over time. Moreover, in the same sites and during the same period as our study, a similar pattern of metal accumulation in relation to age is observed in *Posidonia oceanica* and in the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 (see Kantin & Pergent, 2007 ; Figure II.7).

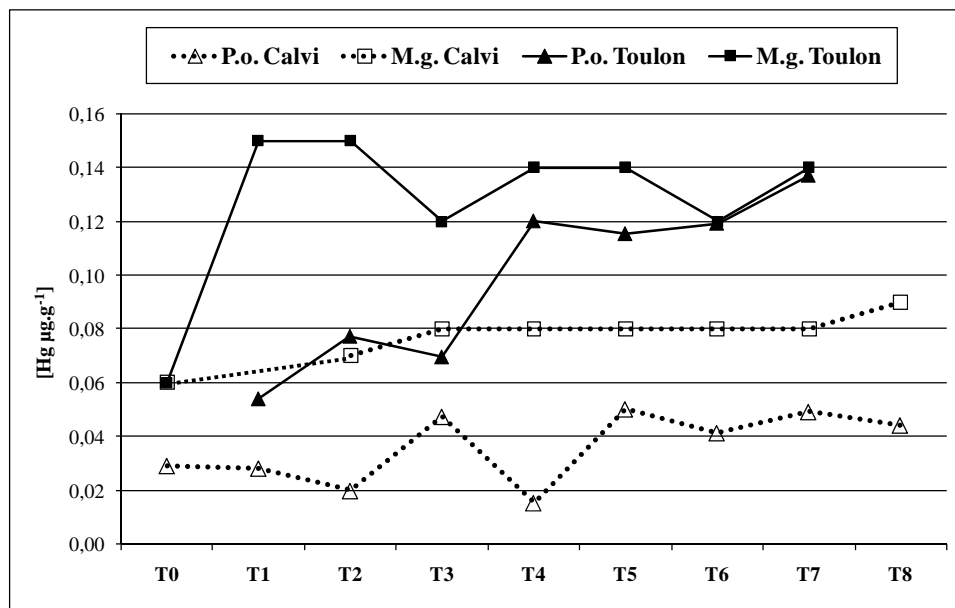


Figure II.7 : Temporal evolutions of mercury concentrations by *Posidonia oceanica* (P.o.) and *Mytilus galloprovincialis* (M.g.) in Calvi and Toulon (from Kantin & Pergent, 2007).

- ✓ On the other hand, the biological dilution phenomenon is also able to induce variations in metal concentration (Table II.4). Indeed, several authors have highlighted the importance of this phenomenon in seagrass (Lyngby & Brix, 1982 ; Ward, 1987 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003a). The effect of this biological dilution could be more important in young tissues, as they have a high foliar growth, especially in spring (Zupo *et al.*, 1997). Moreover a distinct decline in metal concentration at the beginning of the growth season has been reported for several seagrasses (Lyngby & Brix, 1982 ; Brix *et al.*, 1983 ; Brix & Lyngby, 1984 ; Ward, 1987 ; Malea & Haritonidis, 1989a ; Malea, 1994a ; Malea & Haritonidis,

1995 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003a) and has been explained by several authors (Lyngby & Brix, 1982 ; Ward, 1987) as the dilution of the metals per unit mass of the tissues considered. Indeed, the months considered in this study correspond to the period in which the foliar biomass and the rhythm of growth of new leaves increase (Pergent & Pergent-Martini, 1990) and could induce a biological dilution of the metal content.

- ✓ Finally, detoxification mechanisms could interfere with the apparent metal concentration in foliar tissues of *Posidonia oceanica* (Ferrat *et al.*, 2003a). Indeed, non-protein thiol compounds, which play a key role in the detoxification from trace metals, can be found in seagrasses (Cobbett, 2000). In this way, Ferrat *et al.* (2003a, b) and Ranvier *et al.* (2000) showed an increase in activity of glutathione S-transferase and of non-protein thiol contents in response to an exposure to strong concentrations of mercury in *Posidonia oceanica*. Thus, *Posidonia oceanica* could be able to eliminate, at least in part, the xenobiotics accumulated during its development. The level of contamination measured corresponds in fact to the result of both accumulation and detoxification mechanisms, as the accumulation of a xenobiotic compound is achieved through mechanisms of absorption, desorption and translocation from one plant compartment to the next (Roméo, 1991).

The understanding of the temporal evolution of metal concentrations in foliar tissues of *Posidonia oceanica* allows thus the optimization of biomonitoring metal contamination in the coastal environment using this seagrass, and consequently in the set up of such a monitoring network (tissues to take into consideration, dates of sampling).

Acknowledgements

This study was carried out within the framework of the *Groupement de recherches Gestion des écosystèmes littoraux méditerranéens*. We wish to thank B. Mimault for diving assistance.

CHAPITRE III

Metal contamination of Posidonia

oceanica meadows along the

Corsican coastline (Mediterranean)

CHAPITRE III
Metal contamination of *Posidonia oceanica*
meadows along the Corsican coastline
(Mediterranean)⁸

Abstract

The aim of this study is to determine metal (Cd, Co, Cr, Hg, Ni, Pb) concentrations in *Posidonia oceanica* tissues along the Corsican coastline. The results show that except for Cr, all the metals are preferentially accumulated in the blades ; this is particularly interesting as it means that future metal analyses may be carried out only on the blades avoiding thus the removal of the shoots. Moreover, they show that metal concentrations may reflect the “background noise” of the Mediterranean Sea. Station 15 (Canari) can however be distinguished from the others due to its high Co, Cr and Ni concentrations. This result may be related to the presence of a previous asbestos mine, located near this station. Therefore, this study reinforces the usefulness and the relevance of *Posidonia oceanica* as a tracer of spatial metal contamination and as an interesting tool for water quality evaluation.

Capsule : The seagrass *Posidonia oceanica* is a relevant tracer of spatial metal contamination and an interesting tool for water quality evaluation.

Keywords : Trace metals, seagrass, Corsica, *Posidonia oceanica*, asbestos mine, Mediterranean

⁸ Lafabrie, C., Pergent-Martini, C., Pergent, G., in press. Metal contamination of *Posidonia oceanica* meadows along the Corsican coastline (Mediterranean). *Environmental Pollution*.

1. Introduction

The major sources of pollution of surface waters include effluent discharges by industries, atmospheric depositions of pollutants and occasional accidental spills of toxic chemicals (Ikem & Egiebor, 2005). Trace metals are regarded as serious pollutants of the aquatic environment because of their toxicity, their persistence, their difficult biodegradability and their tendency to concentrate in aquatic organisms (Schüürmann & Market, 1998 ; Ikem & Egiebor, 2005). They enter the marine environment through atmospheric and land-based effluent sources (Islam & Tanaka, 2004).

There is currently a great interest in the use of living organisms as pollution biomonitors in aquatic ecosystems (Goldberg, 1986 ; Andersen *et al.*, 1996 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Morillo *et al.*, 2005 ; Usero *et al.*, 2005 ; Demirezen & Aksoy, 2006), given that the method used previously – chemical analysis of water – does not provide sufficient information on the bioavailability of metals present in the environment (Morillo *et al.*, 2005). In the Mediterranean Sea, the endemic seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile has been used as a metal bioindicator for several decades (Maserti *et al.*, 1988 ; Sanchiz *et al.*, 1990 ; Costantini *et al.*, 1991 ; Catsiki & Panayotidis, 1993 ; Malea *et al.*, 1994 ; Warnau *et al.*, 1995, 1996 ; Pergent-Martini, 1998 ; Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001).

The Corsican island is subject to few sources of contaminants that are of anthropic origin (low population density on its coasts : < 60 inhabitants/km² ; IFEN, 2000 ; and, low industrialization rate ; INSEE, 1999) and it is therefore usually considered a pristine region with healthy widespread *Posidonia oceanica* meadows (Pasqualini *et al.*, 1998). However, only little quantitative data is available on the general pollution of the area, that would allow to compare different stations (Roméo *et al.*, 1995 ; Benlahcen *et al.*, 1997 ; Pergent-Martini, 1998 ; Baumard *et al.*, 1999 ; Michel *et al.*, 2001 ; Andral *et al.*, 2004a, b). Most studies are relative to a single, punctual station (Warnau *et al.*, 1995, 1996) and/or

are focused only on mercury accumulation (Maserti *et al.*, 1988 ; Pergent-Martini, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a).

Thus, the aim of this study is to evaluate the state of metal contamination of the Corsican coastline using *Posidonia oceanica* as a bioindicator.

2. Materials and methods

2.1. Sampling and sample preparation

Shoots of *Posidonia oceanica* were collected during the summer 2003, at 10±1m depth and in 16 stations located along the Corsican coastline (France ; Figure III.1).

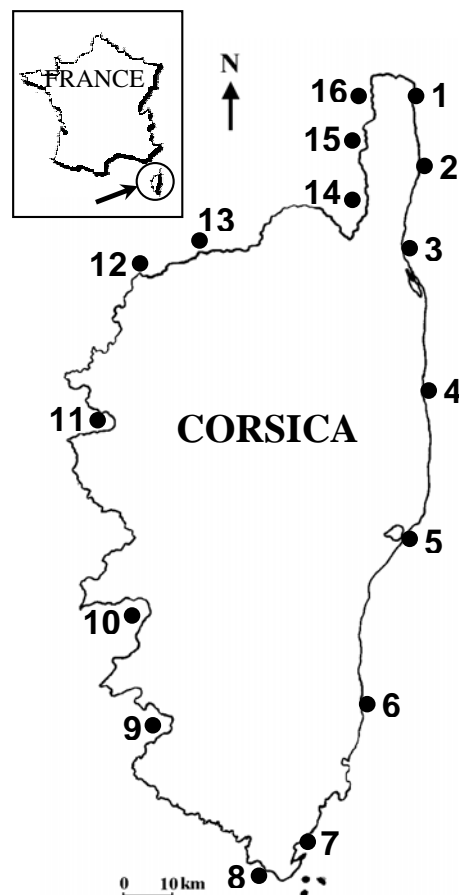


Figure III.1 : Study area and sampling stations. 1 : Macinaggio ; 2 : Sisco ; 3 : Bastia ; 4 : Campoloro ; 5 : Diane ; 6 : Solenzara ; 7 : Sant' Amanza ; 8 : Bonifacio ; 9 : Propriano ; 10 : Ajaccio ; 11 : Porto ; 12 : Calvi ; 13 : Lumio ; 14 : Saint Florent ; 15 : Canari ; 16 : Centuri.

For each station, shoots were divided randomly into three replicates and only the blades and sheaths of the adult leaves were then analysed (Giraud, 1979). Epiphytes and sediment were removed using a glass strip. Samples were rinsed (ultrapure water), frozen (-20° C), lyophilized (> 72 h in Heto[®] FD4-85 freeze dryer, HetoHolten A/S) and then manually reduced to a coarse powder.

2.2. Trace metals analysis

Mercury (Hg) : 50 mg of each sample was weighed in a Teflon digestion vessel CEM[®] ACV of 100 ml (CEM Corporation, USA). 5 ml of 69% HNO₃ (Normapur 20 428 .297 Prolabo[®]) and 1 ml of H₂O₂ 30% (Normapur 23 619 .297 Prolabo[®]) were added. The vessels were sealed and placed into the CEM[®] MARS 5 chamber (20 minutes at 200°C and 20 minutes of cooling). The content of each vessel was poured into 25 ml volumetric flasks and diluted to volume with ultrapure water and then transferred to 60 ml polypropylene flasks. Mineralized samples were analysed with a cold vapour atomic absorption spectrometer (CV-AAS - Perkin Elmer[®]) equipped with a flow injection system (FIMS 100) and an autosampler (AS-90). A carrier solution of 5% (v/v) nitric acid and a reducing solution of 1.1% (p/v) tin chloride (23 742.260 Prolabo[®]) and 0.5% (p/v) hydroxylammonium chloride (24 708.235 Prolabo[®]) in 3% (v/v) hydrochloric acid (20 253.293 Prolabo[®]) were used. The standard addition method was applied for calibration. Calibration standards were prepared from a mercury standard solution 1 000 mg.L⁻¹ (30 130.263 Prolabo[®]).

Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Cobalt (Co), Lead (Pb) and Nickel (Ni) : The analyses of these metals were run with quality assurance procedures at the Laboratory of Rouen / ETSA (Rouen, France). They were realised using a graphite furnace atomic absorption spectrometer (GF-AAS) with a detection limit of 0.1 µg.L⁻¹ for Cd, 0.3 µg.L⁻¹ for Cr, 0.2 µg.L⁻¹ for Co, 0.3 µg.L⁻¹ for Pb and 0.7 µg.L⁻¹ for Ni. The standard addition method was applied for calibrations and calibration standards were prepared from standard solutions of 1 000 mg.L⁻¹ (Merck).

The analytic procedure was verified using certified reference material (*Lagarosiphon major*, CRM 60 ; Community Bureau of Reference - Commission of the European Communities ; Table III.1).

Table III.1 : Analysis of trace metals in the certified reference material *Lagarosiphon major*. Results are expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt. (mean value \pm 95% confidence interval).

	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Certified values	2.20 \pm 0.10			0.34 \pm 0.04		63.80 \pm 3.20
Uncertified values		4.00	26.00		40.00	
Our values	2.03 \pm 0.01	3.70 \pm 0.20	24.00 \pm 1.00	0.35 \pm 0.01	37.00 \pm 1.00	62.40 \pm 0.40

To compare the total metal content at the different stations, the metal pollution index (MPI) defined by Usero *et al.* (2005) was used. It is obtained with the following equation : $\text{MPI} = (\text{Cf}_1 \times \text{Cf}_2 \dots \text{Cf}_n)^{1/n}$; where Cf_n = concentration of the metal n in the sample.

2.3. Statistical analysis

Significant differences between tissues and between stations were determined by a two-way analysis of variance (ANOVA). Where a difference was found, Tukey's HSD post-hoc comparison was used to determine which stations were different. Correlations between metals were performed by analysis of Pearson's correlations. For these statistical analyses, the values below the detection limit have been considered as half the value of the detection limit, as in the study of Sanchiz *et al.* (2001).

3. Results

3.1. Comparison of the tissues

The data concerning metal concentrations in the blades and in the sheaths of adult leaves are reported respectively in Table III.2 and Table III.3. The mean

concentrations of Cd, Co, Hg, Ni and Pb are significantly higher in blades than in sheaths ($P < 0.05$) whereas Cr has accumulated more in the sheaths ($P < 0.05$).

Table III.2 : Metal concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.), mean values and metal pollution index (MPI) in the blades of adult leaves of *Posidonia oceanica* (St. : station ; M : Mean ; mean \pm E.S. ; the maximum values are in bold and the minimum values are in italic).

St.	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb	MPI
1	2.88 \pm 0.75	3.13 \pm 0.15	0.37 \pm 0.03	0.03 \pm 0.01	27.67 \pm 1.23	1.73 \pm 0.07	1.30
2	3.89 \pm 0.14	4.03 \pm 0.28	0.30 \pm 0.10	0.06 \pm 0.00	24.67 \pm 0.38	2.63 \pm 0.35	1.62
3	<i>1.47 \pm 0.06</i>	3.20 \pm 0.12	0.33 \pm 0.03	0.07 \pm 0.00	19.57 \pm 0.22	2.53 \pm 0.09	1.31
4	2.26 \pm 0.06	5.30 \pm 0.20	0.33 \pm 0.03	0.06 \pm 0.00	21.13 \pm 0.43	1.97 \pm 0.03	1.45
5	2.18 \pm 0.03	4.80 \pm 0.15	0.27 \pm 0.03	0.05 \pm 0.00	<i>14.60 \pm 0.46</i>	2.93 \pm 0.20	1.36
6	2.58 \pm 0.11	3.87 \pm 0.18	0.23 \pm 0.03	0.07 \pm 0.00	17.80 \pm 0.61	2.20 \pm 0.35	1.35
7	1.52 \pm 0.08	1.97 \pm 0.18	0.27 \pm 0.03	0.07 \pm 0.00	17.30 \pm 0.61	1.27 \pm 0.03	<i>1.03</i>
8	2.14 \pm 0.08	<i>1.83 \pm 0.07</i>	0.23 \pm 0.03	0.04 \pm 0.00	22.27 \pm 0.62	1.70 \pm 0.15	1.07
9	2.17 \pm 0.15	2.57 \pm 0.24	<i>0.15 \pm 0.05</i>	0.07 \pm 0.00	17.87 \pm 1.46	1.40 \pm 0.10	1.07
10	3.53 \pm 0.18	3.03 \pm 0.15	0.17 \pm 0.03	0.04 \pm 0.00	23.40 \pm 0.50	3.37 \pm 0.29	1.35
11	3.57 \pm 0.18	2.87 \pm 0.35	0.20 \pm 0.00	0.05 \pm 0.01	15.93 \pm 1.87	2.87 \pm 0.13	1.30
12	3.58 \pm 0.07	2.68 \pm 0.12	0.23 \pm 0.02	<i>0.02 \pm 0.00</i>	21.97 \pm 1.17	2.43 \pm 0.26	1.12
13	2.13 \pm 0.13	4.13 \pm 0.13	0.33 \pm 0.03	0.06 \pm 0.00	28.80 \pm 2.72	<i>1.30 \pm 0.12</i>	1.36
14	3.37 \pm 0.20	4.93 \pm 0.49	0.47 \pm 0.03	0.05 \pm 0.00	41.43 \pm 1.15	2.43 \pm 0.58	1.84
15	3.97 \pm 0.03	7.73 \pm 0.24	1.07 \pm 0.07	0.04 \pm 0.00	48.73 \pm 1.13	2.10 \pm 0.29	2.24
16	2.78 \pm 0.08	4.13 \pm 0.28	0.20 \pm 0.00	0.05 \pm 0.01	27.73 \pm 0.99	1.67 \pm 0.09	1.31
M	2.75 \pm 0.15	3.76 \pm 0.21	0.32 \pm 0.04	0.05 \pm 0.00	24.43 \pm 0.97	2.16 \pm 0.20	

Table III.3 : Metal concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.), mean values and metal pollution index (MPI) in the sheaths of adult leaves of *Posidonia oceanica* (St. : station ; M : Mean ; mean \pm E.S. ; the maximum values are in bold and the minimum values are in italic ; - : value below detectable limits).

St.	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb	MPI
1	0.91 \pm 0.06	-	0.15 \pm 0.05	0.04 \pm 0.00	3.10 \pm 0.30	0.27 \pm 0.07	0.34
2	1.08 \pm 0.01	-	0.33 \pm 0.19	0.04 \pm 0.00	3.20 \pm 0.15	0.15 \pm 0.05	0.37
3	0.69 \pm 0.03	-	0.35 \pm 0.25	0.05 \pm 0.00	3.50 \pm 0.36	0.43 \pm 0.07	0.44
4	0.77 \pm 0.06	0.20 \pm 0.00	0.23 \pm 0.03	0.04 \pm 0.00	3.53 \pm 0.42	-	0.35
5	0.88 \pm 0.02	0.13 \pm 0.03	0.30 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	2.10 \pm 0.12	0.20 \pm 0.00	0.28
6	0.85 \pm 0.06	-	-	0.05 \pm 0.00	3.63 \pm 0.29	0.27 \pm 0.09	0.44
7	<i>0.58 \pm 0.01</i>	-	-	0.04 \pm 0.00	<i>1.77 \pm 0.09</i>	-	0.35
8	0.82 \pm 0.08	-	-	0.03 \pm 0.00	3.97 \pm 0.37	-	0.46
9	1.07 \pm 0.03	0.27 \pm 0.03	-	0.04 \pm 0.01	5.57 \pm 0.91	0.20 \pm 0.06	0.42
10	1.00 \pm 0.06	-	0.15 \pm 0.05	0.03 \pm 0.00	1.83 \pm 0.23	0.30 \pm 0.06	0.30
11	0.97 \pm 0.03	0.20 \pm 0.06	-	0.03 \pm 0.01	3.63 \pm 0.54	0.50 \pm 0.12	0.40
12	1.64 \pm 0.01	-	-	<i>0.01 \pm 0.00</i>	6.65 \pm 0.25	0.28 \pm 0.02	0.39
13	1.02 \pm 0.06	-	-	0.05 \pm 0.00	4.47 \pm 0.29	0.17 \pm 0.03	0.44
14	1.10 \pm 0.12	0.17 \pm 0.03	3.75 \pm 1.15	0.05 \pm 0.00	10.07 \pm 0.75	0.25 \pm 0.05	0.66
15	1.67 \pm 0.07	0.20 \pm 0.00	2.03 \pm 0.42	0.02 \pm 0.00	8.37 \pm 0.26	0.17 \pm 0.03	0.54
16	1.18 \pm 0.10	0.10 \pm 0.00	0.23 \pm 0.03	0.02 \pm 0.00	2.93 \pm 0.33	-	<i>0.28</i>
M	1.01 \pm 0.05	0.18 \pm 0.02	0.84 \pm 0.24	0.04 \pm 0.00	4.27 \pm 0.35	0.26 \pm 0.05	

3.2. Comparison of the stations

The concentrations of most of the metals vary considerably depending on the location of the sampling stations. The Cd concentrations in stations 2, 10, 11, 12, 14, 15 are significantly higher than in stations 3, 4, 5, 7, 8, 9 ($P < 0.05$; Table III.2 and Table III.3). The highest Co, Cr and Ni concentrations are recorded in stations 14 and 15. Co concentration in station 15 and Cr and Ni concentrations in stations 14 and 15 are significantly higher than in all the other stations ($P < 0.05$; Table III.2 and Table III.3). The lowest Hg concentration is recorded in station 12 ($P < 0.05$), while the Hg concentration in the other stations reach levels similar to each other (Table III.2 and Table III.3). The Pb concentration in station 10 records the highest value ; it is significantly higher than in stations 1, 4, 7, 8, 9, 13 and 15 ($P < 0.05$; Table III.2 and Table III.3).

The MPI (metal pollution index) reaches the maximal value for station 15 in the blades (MPI = 2.24 ; Table III.2) and for station 14 in the sheaths (MPI = 0.66 ; Table III.3). The minimum MPI value is recorded for station 7 in the blades (MPI = 1.03 ; Table III.2) and for stations 5 and 16 in the sheaths (MPI = 0.28 ; Table III.3). The maximum MPI values found for stations 14 and 15 can be explained by the fact that the highest concentrations of three metals out of the six considered (Co, Cr and Ni) are recorded in these stations.

3.3 Metals correlation

Since data on metal concentrations suggested that some relation between trace metals may exist, they were tested for Pearson's correlations. Highly significant positive correlations in blades were found between Co and Cr, Co and Ni, Cr and Ni ; and significant ones were found between Cd and Ni, Cd and Pb (Table III.4). One negative correlation was found between Cd and Hg in blades (Table III.4). Highly significant positive correlations in sheaths were found between Cd and Ni, Cr and Ni, as well as a negative one between Cd and Hg (Table III.4).

Table III.4 : Matrix correlation of Pearson in the blades and in the sheaths (* : correlation significant at $P < 0.05$; ** : correlation significant at $P < 0.01$).

Blades	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Cd	1.000					
Co	0.377	1.000				
Cr	0.353	0.799 **	1.000			
Hg	-0.573 *	-0.045	-0.193	1.000		
Ni	0.505 *	0.687 **	0.827 **	-0.331	1.000	
Pb	0.501 *	0.135	-0.050	-0.260	-0.094	1.000
Sheaths	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Cd	1.000					
Co	0.223	1.000				
Cr	0.335	0.346	1.000			
Hg	-0.658 **	-0.078	0.135	1.000		
Ni	0.641 **	0.434	0.801 **	-0.060	1.000	
Pb	0.050	0.037	0.030	0.114	0.086	1.000

3.4 Metal accumulation

Since all the metals considered except Cr are preferentially accumulated in the blades (Table III.2 and Table III.3), the metal accumulation is regarded in relation to this tissue. In the same way, since for this tissue the station 7 appears as the less contaminated (MPI = 1, 03 ; Table III.2), it will be used to observe the order of metal accumulation. Thus, the metal concentrations decrease in the following order : Ni > Co > Cd > Pb > Cr > Hg ([Ni] = $17.30 \pm 0.61 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; [Co] = $1.97 \pm 0.18 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; [Cd] = $1.52 \pm 0.08 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; [Pb] = $1.27 \pm 0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; [Cr] = $0.27 \pm 0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; [Hg] = $0.07 \pm 0.00 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).

4. Discussion and conclusion

The repartition of the trace metals analysed, between the two tissues of *Posidonia oceanica* considered (blades and sheaths), shows that, except for Cr, the trace metals are preferentially accumulated in blades. This finding is in agreement with previous studies : Warnau *et al.* (1996) and Campanella *et al.* for Cd ; Maserti *et al.* (1988), Sanchiz *et al.* (1990) and Capiomont *et al.* (2000) for Hg ; Sanchiz *et al.* (1990) and Campanella *et al.* (2001) for Pb. This therefore leads to the hypothesis of a preferential uptake of Cd, Co, Hg, Ni and Pb from the water column to the photosynthetic tissue. Furthermore the different behaviour of

Cr suggests another uptake and distribution route for this element. These results are particularly interesting as they point out that, except for Cr, future analyses of metal concentrations will be able to be realized only on the blades. This would be a very important factor and improvement considering the necessity to preserve *Posidonia oceanica* meadows (e.g. legal status ; Pergent-Martini *et al.*, 2006), in the sense that it would allow to collect the samples (the blades) without removing the entire *Posidonia oceanica* shoot.

The results on *Posidonia oceanica* metal accumulation show that the concentrations decrease according to the order : Ni > Co > Cd > Pb > Cr > Hg. This is the sequence commonly observed with sometimes an occasional inversion between Cd and Pb (Sanchiz *et al.*, 1990 ; Costantini *et al.*, 1991 ; Catsiki & Panayotidis, 1993 ; Malea *et al.*, 1994 ; Warnau *et al.*, 1995 ; Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998 ; Sanchiz *et al.*, 1999 ; Campanella *et al.*, 2001). Furthermore, our study shows, in the same way as Costantini *et al.* (1991), a positive correlation between Cd and Pb concentrations. Nevertheless, considering the little data available on trace metals correlations, it seems difficult to interpret our results and to define the impact that a metal may have on the behaviour of another one and inversely.

Considering the metal contents at the scale of the Mediterranean Sea, the contamination levels reported in this study generally fall in the range of the lowest values available in literature (Table III.5). All of our values are much lower than those found for the impacted site of Antikyra Gulf in Greece (Malea *et al.*, 1994 ; Table III.5). In detail, in the case of Cr and Pb our values are below those previously reported, with the exception of those of Campanella *et al.* (2001) which are quite similar (Table III.5). Concerning Cd, Hg and Ni our values are quite similar to those reported in literature, with the exception of the value found in the impacted site of Antikyra Gulf in Greece for Cd (Malea *et al.*, 1994) and those found in the impacted site of Rosignano in Italy for Hg (Maserti *et al.*, 1988 ; Ferrara *et al.*, 1989 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003a ; Table III.5)

which are higher. Therefore, our results may reflect the natural background noise of metals in the Mediterranean.

Table III.5 : Means and ranges (in brackets) of concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.) in *Posidonia oceanica* leaves reported in various studies (values with grey background correspond to stations considered as impacted by authors).

Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Station	Reference
-	-	0.05-0.13	-	-	Port-Cros (France)	Augier <i>et al.</i> , 1980
-	-	0.02 ^c	-	-	Corsica (France)	Maserti <i>et al.</i> , 1988
-	-	0.16 ^c	-	-	Rosignano (Italy)	
-	-	0.38 ^a	-	-	Rosignano (Italy)	Ferrara <i>et al.</i> , 1989
3.97 ^a (1.95-8.57) ^a	-	0.07 ^a (0.02-0.19) ^a	-	4.15 ^a (1.85-9.55) ^a	Italian coast	Costantini <i>et al.</i> , 1991
2.81 (2.02-3.87)	-	-	-	-	Tyrrhenian coast (Italy)	Taramelli <i>et al.</i> , 1991
1.99	2.89	-	21.22	-	Cyclades Islands (Aegean Sea, Greece)	Catsiki & Bei, 1992
-	3.65 (1.75-5.73)	-	23,78 (19.05-30.72)	-	Aegean Sea (Greece)	Catsiki & Panayotidis, 1993
-	2.94 (2.24-3.88)	-	-	-	Lesbos Island (Greece)	Catsiki <i>et al.</i> , 1994
20.8 (2.7-44.0)	-	-	-	39.5 (10.5-123)	Antikyra Gulf (Greece)	Malea <i>et al.</i> , 1994
4.1	2.4	0.02	-	5.8	Calvi (Corsica, France)	Pergent-Martini, 1994
4.1	3.8	0.09	-	2.4	Marseille (France)	
2.4	1.53	-	-	7.76	Marseille (France)	
2.1	1.67	-	-	8.35	Ischia (Italy)	Warnau <i>et al.</i> , 1995
2.3	0.96	-	-	5.96	Calvi (Corsica, France)	
1.0	-	-	-	3.4	Ischia Island (Italy)	Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998
-	-	0.51 (0.39-0.63)	-	-	Rosignano (Italy)	Capiomont <i>et al.</i> , 2000
-	-	0.06 (0.05-0.07)	-	-	Tonnara (Corsica, France)	
2.22 (1.13-2.78)	0.50 (0.31-0.74)	-	-	0.91 (0.70-1.18)	Favignana Island (Sicily, Italy)	Campanella <i>et al.</i> , 2001
-	-	0,07 ^c	-	-	Tonnara (Corsica, France)	Ferrat <i>et al.</i> , 2003a
-	-	0,07 ^c	-	-	Lérins (France)	
-	-	0,26 ^c	-	-	Rosignano (Italy)	
2.35 ^b (1.29-3.44) ^b	0.36 ^b (0.12-1.29) ^b	0.05 ^b (0.01-0.06) ^b	19.79 ^b (11.73-39.45) ^b	1.71 ^b (0.99-2.66) ^b	Corsican coast (France)	This work

^a: estimated from the mean value of the fresh/dry weight ratio reported by the authors

^b: calculated from concentrations and biomass of blades and sheaths

^c: calculated from concentrations in blades and sheaths (June 2000 for Ferrat *et al.*, 2003a ; possible seasonal variations) and biomass measured in this study

At the scale of the Corsican coastline, we observe for Cd a repartition in two parts, with the highest values found in the part above the north-east south-west diagonal (Figure III.2). Considering the classification of Pergent-Martini *et al.* (2005a), 2 stations exhibit a basic level of Cd contamination, 6 stations a low one and 8 stations a moderate one (Figure III.2). High values of Cd in the north-western part of Corsica have already been revealed by the RINBIO biointegrator network based on mussels (Andral *et al.*, 2004b). This result may be linked to a difference in the physico-chemical characteristics between the water masses of the Ligurian Sea and of the Tyrrhenian Sea. We can also suppose the presence of a potential source of Cd in the south-west of the island, which may contaminate the north-western part through currents of coastal drift that go from the Bouches de Bonifacio to the Cap Corse (Figure III.2).

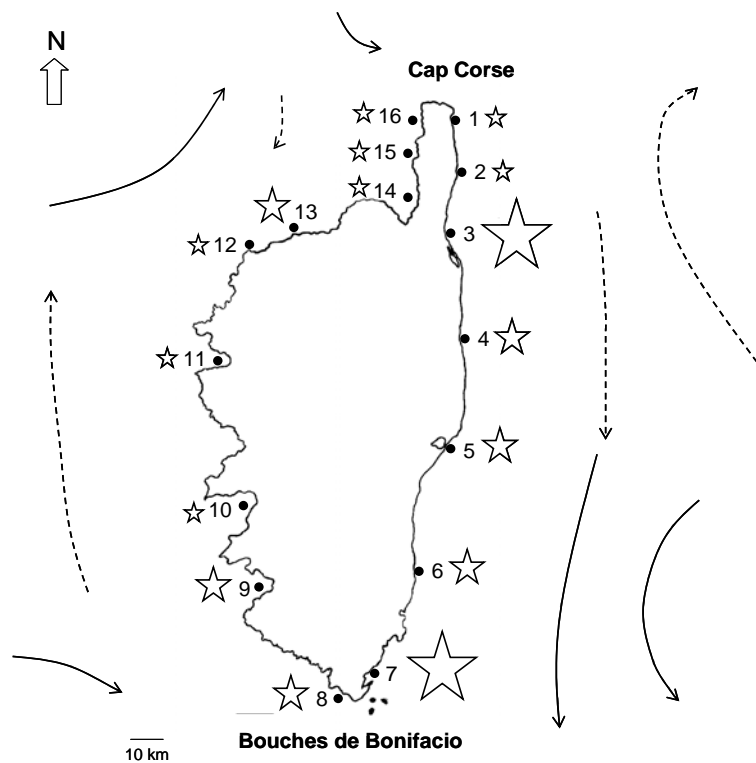


Figure III.2 : Map showing the marine currents (currents of cyclonic coastal drift in continuous arrows and currents of anticyclonic coastal drift in dotted arrows ; from Pluquet, 2006) and the Cd contamination levels of *Posidonia oceanica* meadows (a big star for a basic contamination level, a medium star for a low one and a small star for a moderate one ; from the classification of Pergent-Martini *et al.*, 2005a).

At the scale of the Corsican coastline, the highest Co, Cr and Ni concentrations are recorded in stations 14 and 15, which is in agreement with the results found in the RINBIO biointegrator network (Andral *et al.*, 2004b). This result is particularly meaningful as station 15 is situated just below the previous asbestos mine of Canari which discharged 11 million tons of rubble into the sea between 1948 and 1965 (Bernier *et al.*, 1997). Andral *et al.* (2004a) mentioned high Co, Cr and Ni concentrations in the fine sediments off the asbestos mine ([Co] = 70 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, [Cr] = 1600 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, [Ni] = 950 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and in the sand situated on the coast near the mine ([Co] = 110 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, [Cr] = 1100, [Ni] = 2200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Bernier *et al.* (1997) reported that the west coast of Cap Corse is formed of ophiolitic rocks (pillow-lavas and prasinites, gabbros, serpentinites and peridotites) and that the mineral characteristics of the rubble sand belongs to the serpentine, olivine, pyroxene and amphibole groups. The general formula of serpentine is $\text{Mg}_5 \{ \text{Si}_2\text{O}_4 \} (\text{OH})_4$ and substitution of Mg by Fe (II), Fe (III), Cr, Al, Ni and Mn may occur (Mével, 2003). In the same way, several authors reported large amounts of magnesium and/or iron, disproportionate richness in Ni, Cr and Co and poorness in Ca in the serpentinite (Kruckeberg, 1984 ; Brooks, 1987 ; Kruckeberg *et al.*, 1999 ; Adriano, 2001 ; Freitas *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2004 ; Pal *et al.*, 2006). Furthermore, Azaïs *et al.* (1960) showed that the serpentinite of Cap Corse is relatively rich in Ni. Therefore, in the light of these remarks, the high Co, Cr and Ni concentrations recorded in this study may be related to the presence of the asbestos mine of Canari.

At the scale of the Corsican coastline, Hg concentration is similar in all the stations considered, this is in agreement with what was expected since there are no known anthropogenic sources of Hg contamination on the island. From the classification of Pergent-Martini *et al.* (2005a), all the stations studied present an Hg contamination level between basic and low, which is particularly interesting, as it allows to consider the Corsican coast as a reference zone for Hg contamination.

At the scale of the Corsican coast, it appears that station 10 records the highest Pb concentration. This result may be related to the presence of the largest town of the island (Ajaccio) in the vicinity of this station 10.

Therefore, this study confirms the relevance of the use of *Posidonia oceanica* as a biological indicator of metal contamination in coastal ecosystems. Being able to differentiate stations presenting low levels of metal contamination, it demonstrates once again its high sensitivity. Thus the usefulness of *Posidonia oceanica* as a tracer of spatial metal contamination and as a good tool for water quality evaluation is reinforced.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the "Collectivité Territoriale de Corse" and the MONIQUA and IMAGE Programs, set up within the framework of the INTERREG IIIA Convention. We wish to thank B. Mimault for diving assistance.

CHAPITRE IV

*Validation of the use of *Posidonia**

oceanica as a metal biomonitor

CHAPITRE IV

Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species - Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor⁹

Abstract

The accumulation of trace metals (Cd, Co, Cr, Hg, Ni and Pb) was measured in water, sediment, the mussel *Mytilus galloprovincialis* and the seagrass *Posidonia oceanica*. Samples were collected in three locations of the north-western Mediterranean (Canari, Livorno and Porto-Torres) which present different levels and sources of human impact. Analyses in the different compartments (water, sediment, *Mytilus galloprovincialis* and *Posidonia oceanica*) have allowed to identify Canari as the most Cd, Co, Cr and Ni contaminated site ; Livorno as the most Hg contaminated and Porto-Torres as the most Pb contaminated. Furthermore, for the first time metal concentrations found in *Posidonia oceanica* have been compared with those found in the water column, in the sediment and in the recognized metal bio-indicator species *Mytilus galloprovincialis* and the results obtained have led to the same conclusions. Thus, this study allows to validate the use of *Posidonia oceanica* as metal biomonitor of coastal waters.

Keywords : metal contamination, biomonitoring, seawater, sediment, marine organisms, Mediterranean Sea

⁹ Lafabrie, C., Pergent, G., Kantin, R., Pergent-Martini, C., Gonzalez, J.-L., 2007. Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species – Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere* 68(11), 2033-2039.

1. Introduction

The continental shelf constitutes the most important zone of the marine environment as far as human activities are concerned, as it contains the main source of living marine resources (Castro *et al.*, 1999 ; Usero *et al.*, 2005) and as it is the area that is most concerned by human-induced changes (Zoller, 2006). The coastal part of this continental shelf is the most sensitive, as it receives large amounts of contaminants introduced by domestic, industrial and agricultural activities, directly or via rivers or through atmospheric deposition (Zoller & Hushan, 2000 ; Usero *et al.*, 2005). In most cases, the impact and synergistic effects of contaminants on marine ecosystem are poorly known (Zoller, 2006). The early identification of inorganic contaminants such as trace metals, which are all toxic above a specific threshold of bioavailable level (Kucuksezgin *et al.*, 2006), is essential to avoid damage to marine biocenoses (Girotti *et al.*, 2006).

The comparison of metal contamination in different aquatic environments is possible by analysis of water (Davison & Zhang, 1994 ; Manfra & Accornero, 2005 ; Stark *et al.*, 2006), sediment (Calmano *et al.*, 1996 ; Acevedo-Figueroa *et al.*, 2005 ; Tankere-Muller *et al.*, 2006) and indigenous biota (Rainbow & Phillips, 1993 ; Goldberg & Bertine, 2000 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003b). Bioaccumulation studies led to the adoption of the bio-indicator concept (Langston & Spence, 1995). Monitoring networks, mostly based on bivalves (O'Connor, 1996 ; Goldberg & Bertine, 2000 ; Andral *et al.*, 2004b ; Morillo *et al.*, 2005 ; Usero *et al.*, 2005), have been developed in order to evaluate the marine environment quality. Seagrasses are increasingly used as indicators of chemical contaminations of coastal regions (see synthesis in Ferrat *et al.*, 2003b). In the Mediterranean Sea, the endemic species *Posidonia oceanica* (L.) Delile is often considered a useful metal bio-indicator (Capiomont *et al.*, 2000 ; see synthesis in Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a).

The aim of this study is three fold : (i) first, to determine trace metals concentrations in water, sediment, the mussel *Mytilus galloprovincialis* (L)

Lamarck, 1819 and the seagrass *Posidonia oceanica* in three Mediterranean locations ; (ii) second, to compare, for the first time, the metal concentrations in these different compartments (water, sediment, *Mytilus galloprovincialis*, *Posidonia oceanica*) ; and (iii) third, to evaluate the relevance of *Posidonia oceanica* as a metal bio-indicator.

2. Materials and methods

2.1. Sampling locations

Samples were collected in three stations, selected randomly, in three north-western Mediterranean locations (Canari, Livorno and Porto-Torres ; Figure IV.1) situated in proximity of different human-induced impact activities.



Figure IV.1 : Sampling locations in the north-western Mediterranean. 1 : Canari (Corsica, France)
– 2 : Livorno (Toscana, Italy) – 3 : Porto-Torres (Sardinia, Italy).

Canari (Corsica-France), on the west coast of the Cap Corse, is located next to a previous asbestos mine which discharged, between 1948 and 1965, more than 11 million tons of serpentinite rubble directly into the sea (Bernier *et al.*, 1997). Livorno (Toscana-Italy) is situated in proximity of the chemical plant of Rosignano Solvay which discharged, until the last decade, about 8000 m³.h⁻¹ of industrial waste into the sea (Petrilli *et al.*, 1979 ; Balestri *et al.*, 2004). Porto-Torres (Sardinia-Italy) is situated close to the Porto-Torres industrial harbour which is one of the most important in Sardinia in terms of hydrocarbons and petrochemical products traffic (De Luca *et al.*, 2004). In January 2004, a hazardous materials accident occurred in this harbour (tanker unloading benzene, loss of ship ; CEDRE, 2004 ; Ronza *et al.*, 2006). Samples were collected in summer 2004 in Canari and Porto-Torres, and in summer 2005 in Livorno.

2.2. Sampling method, sample preparation and trace metals analyses

(cadmium : Cd ; cobalt : Co ; chromium : Cr ; mercury : Hg ; nickel : Ni and lead : Pb)

Diffusive gradients in thin films (DGT) sampling technique, based on diffusion of metals through a diffusive layer until a binding phase where they are concentrated (Davison & Zhang, 1994 ; Zhang & Davison, 2000), was used to determine seawater metal concentrations. DGT units consist of polyacrylamide hydrogel diffusion layers (0.76 mm thick), Chelex 100 impregnated binding phases (0.40 mm thick) and nylon DGT holders (DGT Research Ltd. UK). They were assembled with 0.45 µm pore-size cellulose acetate filters, used as covering membranes. DGT units were positioned at approximately 2 m above the bottom of the water column and were deployed for about 24h. Elution of metals, from the Chelex 100 binding phase, was carried out by immersion in 1.0 M HNO₃ (Suprapure). Metal analysis was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

Superficial sediment (80 to 500 g dry wt.) was collected in PVC cores by scuba divers, in the vicinity of the *Posidonia oceanica* meadow. The fraction of the sediment inferior to 2 mm was frozen, lyophilised and analysed by atomic

absorption spectrometry, with quality assurance procedures, at the Laboratory of Rouen / ETSA (France).

Transplanted mussels were stored in conchylicultural pouches and immersed 6 m below the surface, above *Posidonia oceanica* meadow. Immersion period lasted three months and occurred during the mussel sexual dormancy period in order to improve immersion conditions and to minimize tissue-growth variations (Andral *et al.*, 2004b). Mussels were opened raw, the flesh scraped out of the shells, which were then frozen, lyophilised, reduced to powder and analysed by atomic absorption spectrometry with quality assurance procedures at the Laboratory of Rouen / ETSA (France).

Posidonia oceanica shoots were collected at 10 ± 1 m depth by scuba divers. Only the blades (Giraud, 1979) were analysed, as it has been previously reported that most trace metals accumulate preferentially in blades (Lafabrie *et al.*, in press). Epiphytes and sediment were removed from the blades using a glass strip. Samples were rinsed (ultrapure water), frozen, lyophilised and reduced to powder. For Hg analyses, 50 mg of each sample was weighed in a Teflon digestion vessel CEM[®] ACV of 100 ml (CEM Corporation, USA). 5 ml of 69% HNO₃ (Normapur) and 1 ml of H₂O₂ 30% (Normapur) were added. The vessels were sealed and placed into the CEM[®] MARS 5 chamber (20 minutes at 200°C and 20 minutes of cooling). The content of each vessel was poured into 25 ml volumetric flasks and diluted to volume with ultrapure water and then transferred to 60 ml polypropylene flasks. Mineralized samples were analysed with a cold vapour atomic absorption spectrometer (CV-AAS - Perkin Elmer[®]). The standard addition method was applied for calibration. Calibration standards were prepared from a mercury standard solution 1 000 mg.L⁻¹. Cd, Co, Cr, Ni and Pb were analysed by atomic absorption spectrometry with quality assurance procedures at the Laboratory of Rouen / ETSA (France).

Limit of detection was defined as three times the standard deviation from the mean blank (US Environmental Protection Agency, 2000). The

instrumentation limits of detection were between 0.3 and 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$. The standard addition method was applied for calibrations and calibration standards were prepared from standard solutions of 1 000 mg.L^{-1} (Merck). The analytic procedure was verified using certified reference material (*Lagarosiphon major*, CRM 60 ; Community Bureau of Reference - Commission of the European Communities ; Table IV.1).

Table IV.1 : Analysis of trace metals in the certified reference material *Lagarosiphon major*. Results are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (mean value \pm 95% confidence interval).

	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Certified values	2.20 \pm 0.10			0.34 \pm 0.04		63.80 \pm 3.20
Uncertified values		4.00	26.00		40.00	
Our values	2.03 \pm 0.01	3.70 \pm 0.20	24.00 \pm 1.00	0.35 \pm 0.01	37.00 \pm 1.00	62.40 \pm 0.40

2.3. Statistical analysis

For metal concentrations in sediment, differences between locations were evaluated by Kruskal-Wallis test. For metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* and *Posidonia oceanica*, differences between organisms and between locations were determined by a two-way analysis of variance (ANOVA) followed by the post-hoc test of Tukey. Correlations between metal concentrations in *Posidonia oceanica* and sediment were performed by analysis of Pearson's correlations.

3. Results

3.1. DGT units (DGTs)

The highest Cd, Co and Ni concentrations are recorded in Canari whereas the highest Cr concentration found in Livorno and the highest Pb concentration in Porto-Torres (Table IV.2).

Table IV.2 : Metal concentrations in seawater (in ng.L⁻¹ ; the location presenting the maximum value is in bold).

	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
Canari	16	17	152	1380	48
Livorno	6	8	616	197	38
Porto-Torres	9	16	282	378	75

3.2. Sediment

The highest Co, Cr and Ni concentrations are recorded in Canari ($P < 0.05$) whereas the highest Cd, Hg and Pb concentrations are recorded in Livorno ($P < 0.05$; Table IV.3).

Table IV.3 : Metal concentrations in sediment (mean \pm S.E. in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. with S.E. : Standard Error ; Standard Error = Standard Deviation / \sqrt{n} ; n = 3 replicates – PT : Porto-Torres - the location presenting the maximum value is in bold).

	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Canari	0.03 \pm 0.00	55.33 \pm 14.19	1194 \pm 282	0.02 \pm 0.01	1325 \pm 5	4.67 \pm 0.67
Livorno	0.40 \pm 0.10	7.00 \pm 1.00	85 \pm 17	0.56 \pm 0.14	40 \pm 6	44.50 \pm 4.50
PT	0.07 \pm 0.03	2.50 \pm 0.00	9 \pm 4	0.07 \pm 0.04	4 \pm 1	18.67 \pm 2.19

3.3. Organisms

Metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* and *Posidonia oceanica* in the different locations are shown in Table IV.4.

Table IV.4 : Metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* (*M.g.*) and *Posidonia oceanica* (*P.o.* ; mean \pm S.E. in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; n = 3 replicates – PT : Porto-Torres - the location presenting the maximum value is in bold).

	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
<i>M.g.</i>						
Canari	1.82 \pm 0.05	1.43 \pm 0.09	3.00 \pm 0.67	0.09 \pm 0.00	3.67 \pm 0.86	1.17 \pm 0.09
Livorno	1.13 \pm 0.05	0.06	0.47 \pm 0.07	0.12 \pm 0.01	1.10 \pm 0.10	1.07 \pm 0.09
PT	1.77 \pm 0.12	0.83 \pm 0.13	0.43 \pm 0.09	0.10 \pm 0.01	1.37 \pm 0.12	1.43 \pm 0.19
<i>P.o.</i>						
Canari	5.38 \pm 0.14	12.07 \pm 0.52	1.27 \pm 0.23	0.05 \pm 0.00	60.30 \pm 3.67	1.47 \pm 0.03
Livorno	3.39 \pm 0.12	5.73 \pm 0.03	0.27 \pm 0.07	0.13 \pm 0.00	28.90 \pm 0.65	1.40 \pm 0.25
PT	2.10 \pm 0.10	1.70 \pm 0.06	0.20 \pm 0.06	0.06 \pm 0.00	27.47 \pm 1.10	1.80 \pm 0.00

Cd, Co, Ni and Pb concentrations are significantly higher ($P < 0.05$) in *Posidonia oceanica* than in *Mytilus galloprovincialis* whereas Cr and Hg concentrations are significantly higher ($P < 0.05$) in *Mytilus galloprovincialis* than in *Posidonia oceanica* (Table IV.4).

Canari presents the highest Cd, Co, Cr and Ni concentrations ($P < 0.05$) whereas Livorno shows the highest Hg concentration ($P < 0.05$) and Porto-Torres the highest Pb concentration ($P < 0.05$; Table IV.4).

3.4. Metal bioconcentrations

To evaluate the efficiency of metal bioaccumulation by *Posidonia oceanica*, the biosediment factor (BSAF), defined as the ratio between the metal concentration in the organism and that in the sediment (Lau *et al.*, 1998 ; Szefer *et al.*, 1999), has been calculated for both species (Figure IV.2). Cd is the metal which presents the highest BSAF mean and Cr is the metal with the lowest one (Figure IV.2). *Posidonia oceanica* has the highest BSAF mean for all metals except Hg (Figure IV.2).

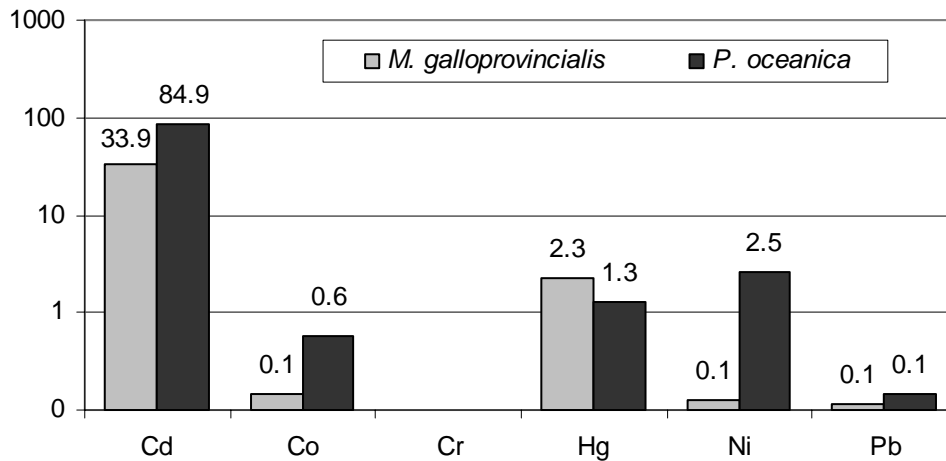


Figure IV.2 : Mean bio-sediment accumulation factor values (BSAF) in *Mytilus galloprovincialis* and *Posidonia oceanica*.

3.5. Relationship between metals in *Posidonia oceanica* and in sediment

There are significant positive relations for Co, Cr, Hg and Ni concentrations in *Posidonia oceanica* relative to their concentrations in sediment ($r_{Co} = 0.81$; $P < 0.05$ - $r_{Cr} = 0.93$; $r_{Hg} = 0.95$; $r_{Ni} = 0.98$; $P < 0.01$). Non significant relations are found in the case of Cd ($r_{Cd} = -0.22$) and Pb ($r_{Pb} = -0.20$).

Linear regression between concentrations in *Posidonia oceanica* (y values) and those in sediment (x values) is calculated for metals with positive significant correlations. Trace metals can be ordered as follows in terms of the value of their slope a : Hg ($a_{Hg} = 0.136$) > Co ($a_{Co} = 0.134$) > Ni ($a_{Ni} = 0.025$) > Cr ($a_{Cr} = 0.001$).

4. Discussion

Canari is identified as the most Cd, Co, Cr and Ni contaminated location by all the compartments investigated, except sediment analysis of Cd and DGTs analysis of Cr which reveal a maximum value for Livorno (as a reminder : there are no replicates for DGTs). Concerning Cd, high values of Cd in the north-west of Corsica have already been revealed (Roméo *et al.*, 1995 ; Andral *et al.*, 2004b) and may be explained by a potential source of Cd contamination in the south-west of Corsica (Lafabrie *et al.*, in press) or by a natural phenomenon such as the upwelling of deep waters rich in Cd (Roméo *et al.*, 1995). The fact that no correlation has been found between Cd concentrations in *Posidonia oceanica* and in sediment could indicate that Cd in *Posidonia oceanica* tissues reflect the Cd in water column. This hypothesis seems plausible as Lyngby & Brix (1982) reported that Cd concentrations in the eelgrass *Zostera marina* L. would reflect Cd concentrations in the ambient water. The fact that, in sediment, the maximum value of Cd is found in Livorno may be related to the presence of a high amount of calcium carbonate grains in the sediment (Petrilli *et al.*, 1979 ; Ferrara *et al.*, 1989 ; Balestri *et al.*, 2004) as, in terrestrial environment, it has been suggested that the addition of calcium carbonate to soil may reduce the uptake of some trace metals by plants (Kabata-Pendias & Pendias, 1984 ; Sanchiz *et al.*, 2001).

Concerning Co, Cr and Ni, our results are consistent with literature as previous studies mentioned the presence of high levels of these metals near Canari (Andral *et al.*, 2004b) and demonstrated the link with the asbestos mine (see in Lafabrie *et al.*, in press). Furthermore, the fact that positive correlations have been found between Co, Cr and Ni concentrations in *Posidonia oceanica* and in sediment would suggest that Co, Cr and Ni in *Posidonia oceanica* tissues reflect Co, Cr and Ni in sediment.

Livorno is identified as the most Hg contaminated location by all the compartments investigated. This result may be related to the chemical plant of Rosignano. Indeed, previous studies revealed the presence of a high level of Hg and of high levels of suspended particulate matter (200-300 mg/l) in the effluents of this plant (Petrilli *et al.*, 1979 ; Ferrara *et al.*, 1989 ; Balestri *et al.*, 2004), and it has been reported that Hg would be mainly associated to particulate matter (Maserti & Ferrara, 1991 ; Cossa *et al.*, 1997). Moreover, several studies qualified Livorno as an Hg contaminated site (Maserti *et al.*, 1988 ; Ferrara *et al.*, 1989 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Ferrat *et al.*, 2003a). Furthermore, the fact that a positive correlation has been found between Hg concentrations in *Posidonia oceanica* and in sediment, as in the studies of Ferrara *et al.* (1989) and Sanchiz *et al.* (1999, 2001), would suggest that Hg in *Posidonia oceanica* tissues reflects Hg in sediment.

Porto-Torres is identified as the most Pb contaminated location by all the compartments investigated, except sediment which shows a maximum Pb value for Livorno. This result may indicate an influence of the Porto-Torres industrial harbour on Pb contamination as, moreover, recent studies (Baumard *et al.*, 1998, 1999 ; Escartin & Porte, 1999 ; De Luca *et al.*, 2004) revealed a general chemical contamination of the Porto-Torres coast. The fact that, as in the study of Malea *et al.* (1994) and Sanchiz *et al.* (1999, 2001), no correlation has been found between Pb concentrations in *Posidonia oceanica* and in the sediment, would indicate that Pb in *Posidonia oceanica* tissues reflects Pb in the water column. This hypothesis is reinforced when considering laboratory studies which showed that aquatic

plants can remove Pb from the surrounding water (Bond *et al.*, 1988 ; Axtell *et al.*, 2003). As for Cd, the Pb maximum value in sediment, found in Livorno, may be related to the presence of high amounts of calcium carbonate grains in the effluents of the Rosignano plant (Petrilli *et al.*, 1979 ; Ferrara *et al.*, 1989 ; Balestri *et al.*, 2004) which would reduce the uptake of Pb by *Posidonia oceanica* (Kabata-Pendias & Pendias, 1984 ; Sanchiz *et al.*, 2001).

The DGT technique is considered a useful tool for the evaluation of the marine environment quality (Zhang & Davison, 2001 ; Manfra & Accornero, 2005 ; Larner *et al.*, 2006 ; Stark *et al.*, 2006). Therefore, even if caution must be used in the interpretation of DGTs results (no replicate), it is worth noting that *Posidonia oceanica* results globally lead to the same conclusions as DGT ones. In the same way, sediment is considered a sensitive human-induced impact indicator (Calmano *et al.*, 1996 ; Acevedo-Figueroa *et al.*, 2005 ; Tankere-Muller *et al.*, 2006) and it is thus interesting to notice that *Posidonia oceanica* results equally lead to the same overall conclusions as sediment results. Finally, *Mytilus galloprovincialis*, considered a good indicator of trace metals level in the environment (Ostapczuk *et al.*, 1997a, b ; Goldberg & Bertine, 2000 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Webb & Keough, 2002 ; Andral *et al.*, 2004b ; Chiffolleau *et al.*, 2005 ; Funes *et al.*, 2006), presents the same trends as *Posidonia oceanica*. Therefore, the endemic Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*, leading to the same conclusions than the water column, the sediment and the recognized biological indicator *Mytilus galloprovincialis* in terms of metal contamination, can be described as accurate and reliable indicator.

5. Conclusions

Posidonia oceanica is often considered as a useful metal bio-indicator (see Capiomont *et al.*, 2000 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a). This assessment is validated in this study by comparing for the first time metal concentrations found in *Posidonia oceanica* with those found in the water column, in the sediment and in the recognized metal

bio-indicator species *Mytilus galloprovincialis*. Furthermore, this study shows that *Posidonia oceanica* may have a greater bioaccumulation capacity than *Mytilus galloprovincialis* for all the metals considered except Hg and may reflect both contaminations in the water column and in sediment. Several studies suggest employing seagrasses as bio-indicators of coastal waters metal contamination (see synthesis in Ferrat *et al.*, 2003b). Therefore, in future, seagrasses, which are widely distributed in the entire biosphere, could be integrated in the setting-up of a general monitoring network as initiated by the European Commission in the Water Framework Directive (2000/60/EC ; EC, 2000).

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the "Collectivité Territoriale de Corse", the MONIQUA Program (INTERREG IIIA European Convention), and the GdR "Gestion des écosystèmes littoraux méditerranéens" between Ifremer and University of Corsica. We wish to thank B. Mimault for diving assistance. The authors are indebted to the reviewers for their fruitful suggestions.

CHAPITRE V

Evaluation of metal contamination

in the North occidental

Mediterranean from the bio-

*indicator *Posidonia oceanica**

CHAPITRE V

Evaluation of the metal contamination in the North occidental Mediterranean from the bio-indicator *Posidonia oceanica*¹⁰

Abstract

The aim of this study is to evaluate the possibility of using *Posidonia oceanica* as an indicator of coastal water contamination according to the WFD objectives. Cd, Co, Cr, Hg, Ni and Pb concentrations are determined in the foliar tissues of 38 sites of the north occidental basin of the Mediterranean Sea. Trace metal contaminations recorded along the Corsican coastline generally exhibit minimum values except in the vicinity of Centuri (outfall of a previous Asbestos mine), where Co, Cr and Ni are very high. Conversely, the site of Rosignano (Tuscany) corresponds to maximum value of Hg ($0.126 \pm 0.003 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) and Toulon (Provence-Alpes-Cote d'Azur), the maximum value of Pb ($5.57 \pm 0.30 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). Preliminary quality scales are established using the quantile method and the regular interval method. The limit values of these scales are discussed according the metal taken into account, and compared to previous studies.

Key words : *Posidonia oceanica*, metal contamination, quality scale, north-western Mediterranean.

¹⁰ Pergent-Martini, C., Lafabrie, C., Lopez y Royo, C., Pergent, G., submitted (*Environmental Conservation*). Evaluation of the metal contamination in the North occidental Mediterranean from the bio-indicator *Posidonia oceanica*.

1. Introduction

The Mediterranean basin occupies the 7th place out of the 35 in the list of the most threatened seas (UNEP, 1996) and represents, at present, one of the regions of the world with the most serious environmental problems (Ramade, 1993). Highly populated, the Mediterranean basin is subject to important human-induced pressures. Of the different Mediterranean ecosystems, those that belong to the coastal area are the ones that suffer the heaviest consequences from anthropogenic activities (Ramade, 1990), while presenting most of the biodiversity present in the area. The Mediterranean Sea has become a container of great quantities of industrial waste, of oil and of domestic wastewater (70 % of which are not treated ; UNEP, 1996).

In this frame, a number of programmes have been set up, at international level, aiming at the improvement of the environmental quality, such as the EU Water Framework Directive (WFD), the draft EU Marine Strategy and several programmes and protocols of the Barcelona Convention. Indeed, the aim of the WFD is to protect and enhance the quality of surface and ground waters, through their assessment and monitoring using biological quality elements in priority and physico-chemical quality elements secondarily (Directive 2000/60/EC ; EC, 2000). The evaluation of the physico-chemical quality of the coastal environment consists of a number of different elements, in which can be included nutrients, synthetic pollutants, as well as non-synthetic pollutants such as metals. In this aspect, article 16 of the WFD, specifies that Environmental Quality Standards should be set for pollutants in water, sediment and biota, and thereafter should not be exceeded (Directive 2000/60/EC ; EC, 2000). Metals, as other pollutants, will therefore require that their environmental quality standards be set. At present, four metals (cadmium, mercury, lead, and nickel) can be found in the list of priority substances established by the European Community (Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001).

As many seagrass species, *Posidonia oceanica* (L.) Delile is highly sensitive to environmental changes (Augier, 1985 ; Maserti *et al.*, 1988 ; Grauby

et al., 1991 ; Pergent, 1991). Because of its wide distribution in the Mediterranean basin, its longevity, its permanent presence whatever the season, its easy sampling, this species is particularly suitable for environmental studies (Pergent-Martini, 1998). The ability of *Posidonia oceanica* to concentrate trace metals (Augier *et al.*, 1977 ; Maserti *et al.*, 1988 ; Malea & Haritodinis, 1989a ; Gnassia-Barelli *et al.*, 1991 ; Lafabrie *et al.*, in press) has been clearly established. *Posidonia oceanica* has been often considered a reliable metal bioindicator (Augier, 1985 ; Pergent, 1991 ; Pergent-Martini & Pergent, 2000), which has also been demonstrated by a comparative study (Lafabrie *et al.*, in press) with the well established bio-indicator *Mytilus galloprovincialis* (Goldberg & Bertine, 2000 ; Claisse *et al.*, 2001 ; Webb & Keough, 2002).

Therefore, the aim of this study is to evaluate the possibility of using *Posidonia oceanica* as an indicator of coastal water contamination, following the direction suggested also by the WFD. In this way a general study has been carried out in the north-western part of the Mediterranean basin in order to (i) establish the level of metal contamination in this area and to (ii) propose quality scales for the main metals taken into account.

2. Materials and methods

Posidonia oceanica shoots were collected between 10 and 16m depth by SCUBA diving, in spring-summer 2003, 2004, 2005 and 2006 in 38 sites (Figure V.1).

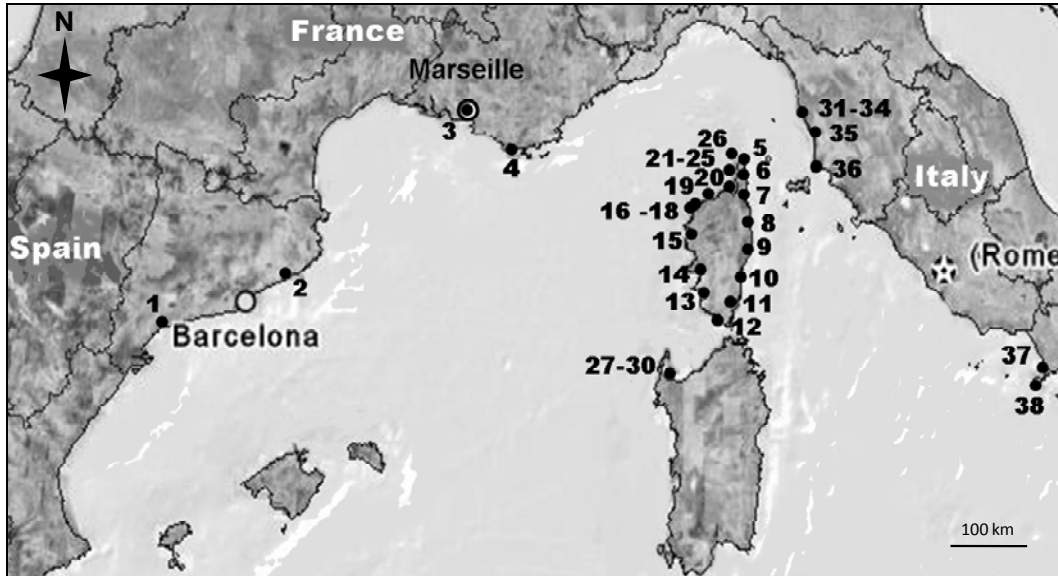


Figure V.1 : Sampling sites (1 : Mont Roig – 2 : Mataró – 3 : Marseille – 4 : Toulon – 5 : Macinaggio – 6 : Sisco – 7 : Bastia – 8 : Campoloro – 9 : Diane – 10 : Solenzara – 11 : Sant’ Amanza – 12 : Bonifacio – 13 : Propriano – 14 : Ajaccio – 15 : Porto – 16 : Punta Bianca – 17 : Calvi – 18 : Calvi Cages – 19 : Lumio – 20 : St Florent – 21 : Canari 1 – 22 : Canari 2 – 23 : Canari 3 – 24 : Canari 4 – 25 : Canari 5 – 26 : Centuri – 27 : Porto-Torres 1 – 28 : Porto-Torres 2 – 29 : Porto-Torres 3 – 30 : Porto-Torres 4 – 31 : Livorno 1 – 32 : Livorno 2 – 33 : Livorno 3 – 34 : Livorno 4 – 35 : Rosignano – 36 : Piombino – 37 : Lacco Ameno – 38 : Scarrupata).

Leaves were sorted according to the protocol of Giraud (1979). Epiphytes and sediments were removed from the leaves using a glass strip. Samples were rinsed (ultrapure water), frozen, lyophilized and reduced to a powder. Metal analyses were performed on the blades of the adult leaves.

Metals analysed are : arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), copper (Cu), chromium (Cr), mercury (Hg), nickel (Ni), lead (Pb), silver (Ag) and zinc (Zn). Hg concentrations were determined using a cold vapour atomic absorption spectrometer (CV-AAS ; see method used in Lafabrie *et al.*, in press). Other trace metals analyses were run by atomic absorption spectrometry with quality assurance procedures at the Laboratory of Rouen / ETSA (France). The accuracy of the method was evaluated by calibration vs. an international standard (CRM 60 : *Lagarosiphon major*, Community Bureau of Reference – BCR, Brussels).

3. Results

Six metals (Cd, Co, Cr, Hg, Ni and Pb) are analyzed in the 38 sites (Table V.1).

Table V.1 : Metal concentrations in *Posidonia oceanica* blades (mean \pm standard error ; in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt. ; MD : missing data ; Calvi C. : Calvi Cages ; SM : Sant'Amanza ; P. Bianca : Punta Bianca ; PT : Porto-Torres ; L. Ameno : Lacco Ameno).

	Cd	Co	Cr	Hg	Ni	Pb
Mont Roig	2.98 \pm 0.07	MD	MD	0.080	19.93 \pm 1.68	4.43 \pm 0.58
Mataró	4.17 \pm 0.22	MD	MD	0.055 \pm 0.005	25.13 \pm 1.28	2.43 \pm 0.34
Marseille	2.14 \pm 0.11	2.10 \pm 0.06	0.30 \pm 0.06	0.068 \pm 0.002	20.67 \pm 0.56	3.23 \pm 0.32
Toulon	1.81 \pm 0.14	4.67 \pm 1.27	0.50 \pm 0.10	0.117 \pm 0.009	20.00 \pm 0.81	5.57 \pm 0.30
Macinaggio	2.88 \pm 0.75	3.13 \pm 0.15	0.37 \pm 0.03	0.038 \pm 0.010	27.67 \pm 1.23	1.73 \pm 0.07
Sisco	3.89 \pm 0.14	4.03 \pm 0.28	0.30 \pm 0.10	0.060 \pm 0.006	24.67 \pm 0.38	2.63 \pm 0.35
Bastia	1.47 \pm 0.06	3.20 \pm 0.12	0.33 \pm 0.03	0.071 \pm 0.000	19.57 \pm 0.22	2.53 \pm 0.09
Campoloro	2.26 \pm 0.06	5.30 \pm 0.20	0.33 \pm 0.03	0.057 \pm 0.003	21.13 \pm 0.43	1.97 \pm 0.03
Diane	2.18 \pm 0.03	4.80 \pm 0.15	0.27 \pm 0.03	0.050 \pm 0.002	14.60 \pm 0.46	2.93 \pm 0.20
Solenzara	2.58 \pm 0.11	3.87 \pm 0.18	0.23 \pm 0.03	0.067 \pm 0.003	17.80 \pm 0.61	2.20 \pm 0.35
SM	1.52 \pm 0.08	1.97 \pm 0.18	0.27 \pm 0.03	0.067 \pm 0.007	17.30 \pm 0.61	1.27 \pm 0.03
Bonifacio	2.14 \pm 0.08	1.83 \pm 0.07	0.23 \pm 0.03	0.043 \pm 0.003	22.27 \pm 0.62	1.70 \pm 0.15
Propriano	2.17 \pm 0.15	2.57 \pm 0.24	0.15 \pm 0.05	0.071 \pm 0.003	17.87 \pm 1.46	1.40 \pm 0.10
Ajaccio	3.53 \pm 0.18	3.03 \pm 0.15	0.17 \pm 0.03	0.048 \pm 0.004	23.40 \pm 0.50	3.37 \pm 0.29
Porto	3.57 \pm 0.18	2.87 \pm 0.35	0.20 \pm 0.00	0.041 \pm 0.004	15.93 \pm 1.87	2.87 \pm 0.13
P. Bianca	4.52 \pm 0.36	MD	MD	0.03	44.63 \pm 6.59	3.77 \pm 0.54
Calvi	2.18 \pm 0.23	2.33 \pm 0.22	0.33 \pm 0.03	0.015 \pm 0.002	17.50 \pm 1.06	2.67 \pm 0.82
Calvi C.	4.62 \pm 0.19	MD	MD	0.02	36.17 \pm 1.14	2.40 \pm 0.06
Lumio	2.13 \pm 0.13	4.13 \pm 0.13	0.33 \pm 0.03	0.059 \pm 0.004	28.80 \pm 2.72	1.30 \pm 0.12
St Florent	3.37 \pm 0.20	4.93 \pm 0.49	0.47 \pm 0.03	0.047 \pm 0.007	41.43 \pm 1.15	2.43 \pm 0.58
Canari 1	3.37 \pm 0.20	4.93 \pm 0.49	0.47 \pm 0.03	0.057 \pm 0.006	41.43 \pm 1.15	2.43 \pm 0.58
Canari 2	3.67 \pm 0.15	14.37 \pm 1.44	1.20 \pm 0.10	0.055 \pm 0.006	128.33 \pm 13.93	1.60 \pm 0.17
Canari 3	3.97 \pm 0.03	7.73 \pm 0.24	1.07 \pm 0.07	0.048 \pm 0.005	48.73 \pm 1.13	2.10 \pm 0.29
Canari 4	3.79	5.20	0.30	0.071 \pm 0.006	76.80	1.10
Canari 5	2.90 \pm 0.10	3.90 \pm 0.26	0.33 \pm 0.03	0.067 \pm 0.009	28.10 \pm 0.62	1.80 \pm 0.06
Centuri	2.78 \pm 0.08	4.13 \pm 0.28	0.20 \pm 0.00	0.049 \pm 0.001	27.73 \pm 0.99	1.67 \pm 0.09
PT 1	2.83 \pm 0.14	2.37 \pm 0.18	0.23 \pm 0.03	0.081 \pm 0.015	23.17 \pm 0.15	2.37 \pm 0.12
PT 2	2.68 \pm 0.12	2.10 \pm 0.10	0.20 \pm 0.00	0.100 \pm 0.010	20.47 \pm 0.60	2.73 \pm 0.33
PT 3	2.10 \pm 0.10	1.70 \pm 0.06	0.25 \pm 0.05	0.058 \pm 0.002	27.47 \pm 1.10	1.80 \pm 0.00
PT 4	1.96 \pm 0.20	1.47 \pm 0.03	0.23 \pm 0.07	0.052 \pm 0.003	22.00 \pm 0.71	2.00 \pm 0.06
Livorno 1	2.49 \pm 0.03	5.70 \pm 0.17	0.47 \pm 0.09	0.072 \pm 0.007	33.73 \pm 5.59	1.20 \pm 0.06
Livorno 2	2.38 \pm 0.07	4.80 \pm 0.15	0.33 \pm 0.03	0.067 \pm 0.004	38.87 \pm 5.67	1.43 \pm 0.22
Livorno 3	3.39 \pm 0.12	5.73 \pm 0.03	0.27 \pm 0.07	0.077 \pm 0.012	28.90 \pm 0.65	1.40 \pm 0.25
Livorno 4	3.63 \pm 0.11	5.40 \pm 0.32	0.37 \pm 0.03	0.085 \pm 0.010	36.43 \pm 2.05	1.13 \pm 0.22
Rosignano	3.40 \pm 0.09	6.60 \pm 0.20	0.37 \pm 0.03	0.126 \pm 0.003	34.97 \pm 1.27	1.27 \pm 0.13
Piombino	2.82 \pm 0.03	MD	MD	0.087 \pm 0.009	35.07 \pm 2.13	1.97 \pm 0.35
L. Ameno	1.77 \pm 0.08	MD	MD	0.040	34.67 \pm 0.95	3.00 \pm 0.10
Scarrupata	2.95 \pm 0.03	MD	MD	0.030	38.80 \pm 1.51	1.83 \pm 0.03

Calvi cages (Corsica) presents the maximum value of Cd (4.62 \pm 0.19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry wt.) ; Canari C2 (Corsica) the maximum value of Co, Cr and Ni (14.37

± 1.44 , 1.20 ± 0.10 and $128.33 \pm 13.93 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. respectively) ; Rosignano (Tuscany) the maximum value of Hg ($0.126 \pm 0.003 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) and Toulon (Provence-Alpes-Cote d'Azur, PACA) the maximum value of Pb ($5.57 \pm 0.30 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; Table V.1). On the other hand, the Corsican coastline presents the minimum value of Cd ($1.47 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. in Bastia), Cr ($0.15 \pm 0.05 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. in Propriano), Hg ($0.015 \pm 0.002 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. in Calvi), Ni ($14.60 \pm 0.46 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. in Diane) and Pb ($1.10 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. in Canari 4) while the minimum value of Co ($1.47 \pm 0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) is recorded in Porto-Torres 4 (Sardinia ; Table V.1).

Four other metals (Ag, As, Cu and Zn) are analyzed in 11 sites (Table V.2). Piombino (Tuscany) presents the maximum value of Ag and Cu ($0.93 \pm 0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. and $25.87 \pm 1.74 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. respectively) ; and, Toulon (PACA) the maximum value of As and Zn ($2.20 \pm 0.15 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. and $174.67 \pm 12.14 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. respectively ; Table V.2). On the other hand, the Corsican coastline presents the minimum value of Ag ($0.13 \pm 0.03 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) and Cu ($9.07 \pm 0.43 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) in the Bay of Calvi, while the minimum value of As ($0.30 \pm 0.00 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) is recorded in Scarrupata (Ischia island ; Table V.2).

Table V.2 : Metal concentrations in *Posidonia oceanica* blades (mean \pm standard error ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; MD : missing data).

	Ag	As	Cu	Zn
Mont Roig	0.83 \pm 0.03	0.50 \pm 0.06	12.80 \pm 0.42	MD
Mataró	0.77 \pm 0.07	0.83 \pm 0.13	15.27 \pm 0.59	MD
Marseille	0.50 \pm 0.10	1.23 \pm 0.03	9.97 \pm 0.22	83.60 \pm 1.35
Toulon	0.40 \pm 0.00	2.20 \pm 0.15	15.73 \pm 0.69	174.67 \pm 12.14
Calvi	0.13 \pm 0.03	1.33 \pm 0.09	9.40 \pm 0.06	111.97 \pm 9.84
Punta Bianca	0.57 \pm 0.03	0.73 \pm 0.07	14.97 \pm 2.63	MD
Calvi Cages	0.37 \pm 0.03	0.33 \pm 0.03	9.07 \pm 0.43	MD
Canari 3	0.40 \pm 0.00	1.63 \pm 0.22	18.43 \pm 0.98	167.67 \pm 8.82
Piombino	0.93 \pm 0.03	0.47 \pm 0.03	25.87 \pm 1.74	MD
Lacco Ameno	0.67 \pm 0.07	0.57 \pm 0.03	17.23 \pm 1.09	MD
Scarrupata	0.83 \pm 0.03	0.30 \pm 0.00	12.70 \pm 0.12	MD

4. Discussion and conclusion

Among the sites considered in this work, some are known to be pristine (most of the corsican sites : Bonifacio, Calvi, Campoloro, Diane, Lumio, Macinaggio, Porto, Propriano, Sant’Amanza, Sisco, Solenzara ; Lafabrie *et al.*, in press) whereas others are known to be highly human impacted (Canari : Andral *et al.*, 2004b ; Lafabrie *et al.*, in press – Marseilles : Pergent-Martini, 1994 ; Andral *et al.*, 2004b – Rosignano : Ferrara *et al.*, 1989 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; – Toulon : Andral *et al.*, 2004b ; Pergent *et al.*, submitted). Thus these 38 sites present different levels of metal contamination, ranging from pristine sites to highly impacted sites.

The range of level of impact and metal contamination available, allow therefore the establishment of quality scales. Two methods are proposed here to define preliminary quality scales. These will be used only on Cd, Hg, Ni and Pb as they have the maximum data available and as they are part of the list of priority substances established by the European Community (Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001). More analyses will be necessary in order to establish quality scales for the others metals.

The first method is based on the calculation of the mean value of each quantile as class limit. Thus, for example, for Cd, the value of the median is 2.83 ; so the limits of the five classes are 1.92, 2.52, 3.16 and 3.98 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (Table V.3).

Table V.3 : Preliminary quality scale established using the quantile method.

	Very low contamination level	Low contamination level	Moderate contamination level	High contamination level	Very high contamination level
Cd	< 1.92	1.92 – 2.52	2.52 – 3.16	3.16 – 3.98	> 3.98
Hg	< 0.035	0.035 – 0.053	0.053 – 0.067	0.067 – 0.092	> 0.092
Ni	< 18.10	18.10 – 23.32	23.32 – 31.58	31.58 – 55.05	> 55.05
Pb	< 1.31	1.31 – 1.83	1.83 – 2.42	2.42 – 3.54	> 3.54

The second method is based on the differences recorded between the mean of the 3 minimal values and that of the 3 maximal concentrations. The interval between the two has been calculated and divided into five regular classes. Thus, for example, for Cd, the mean of the minimal values is 1.59 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. and that of

the maximal ones is $4.44 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt., the interval is consequently $2.85 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. and the limits of the five classes are 2.16 ($1.59+(0.2 \times 2.85)$), 2.73, 3.30 and $3.87 \mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) (Table V.4).

Table V.4 : Preliminary quality scale established using the regular interval method.

	Very low contamination level	Low contamination level	Moderate contamination level	High contamination level	Very high contamination level
Cd	< 2.16	2.16 – 2.73	2.73 – 3.30	3.30 – 3.87	> 3.87
Hg	< 0.040	0.040 – 0.059	0.059 – 0.077	0.077 – 0.096	> 0.096
Ni	< 29.68	29.68 – 43.41	43.41 – 57.15	57.15 – 70.88	> 70.88
Pb	< 1.83	1.83 – 2.52	2.52 – 3.21	3.21 – 3.90	> 3.90

On the basis of these preliminary quality scales (Table V.3 and V.4) it is then possible to evaluate the level of metal contamination of the studied sites.

Thus, for Cd, according to the quantile method, 4 sites are considered as having a high level of quality, 11 a good level, 9 a moderate level, 11 a poor level and 3 a bad level. According to the regular interval method, 9 sites are considered as having a high level of quality, 8 a good level, 7 a moderate level, 9 a poor level and 5 a bad level (Figure V.2). Differences are equally observed for Hg (Figure V.3), Ni (Figure V.4) and Pb (Figure V.5).

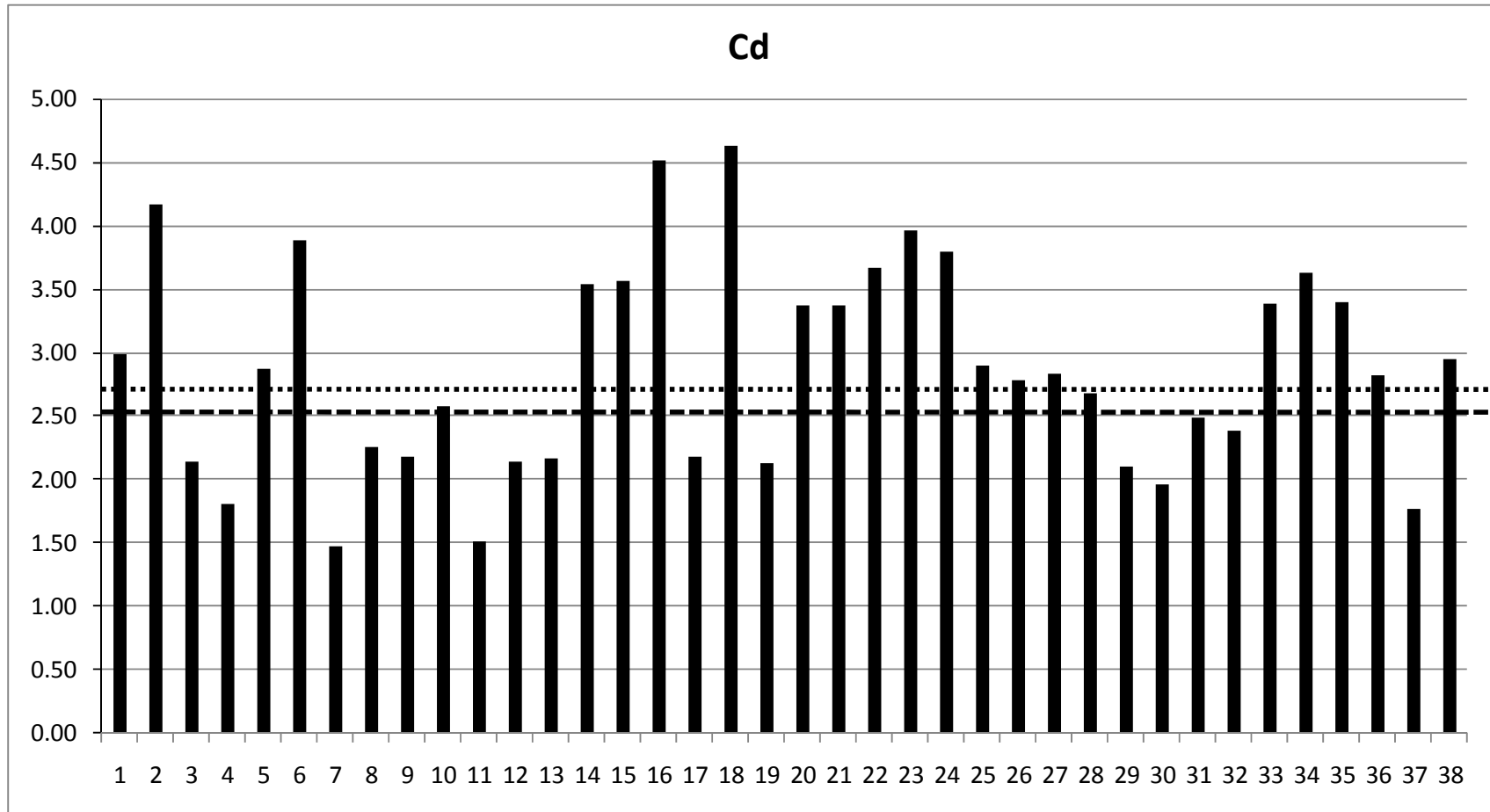


Figure V.2 : Cd concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (--- : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).

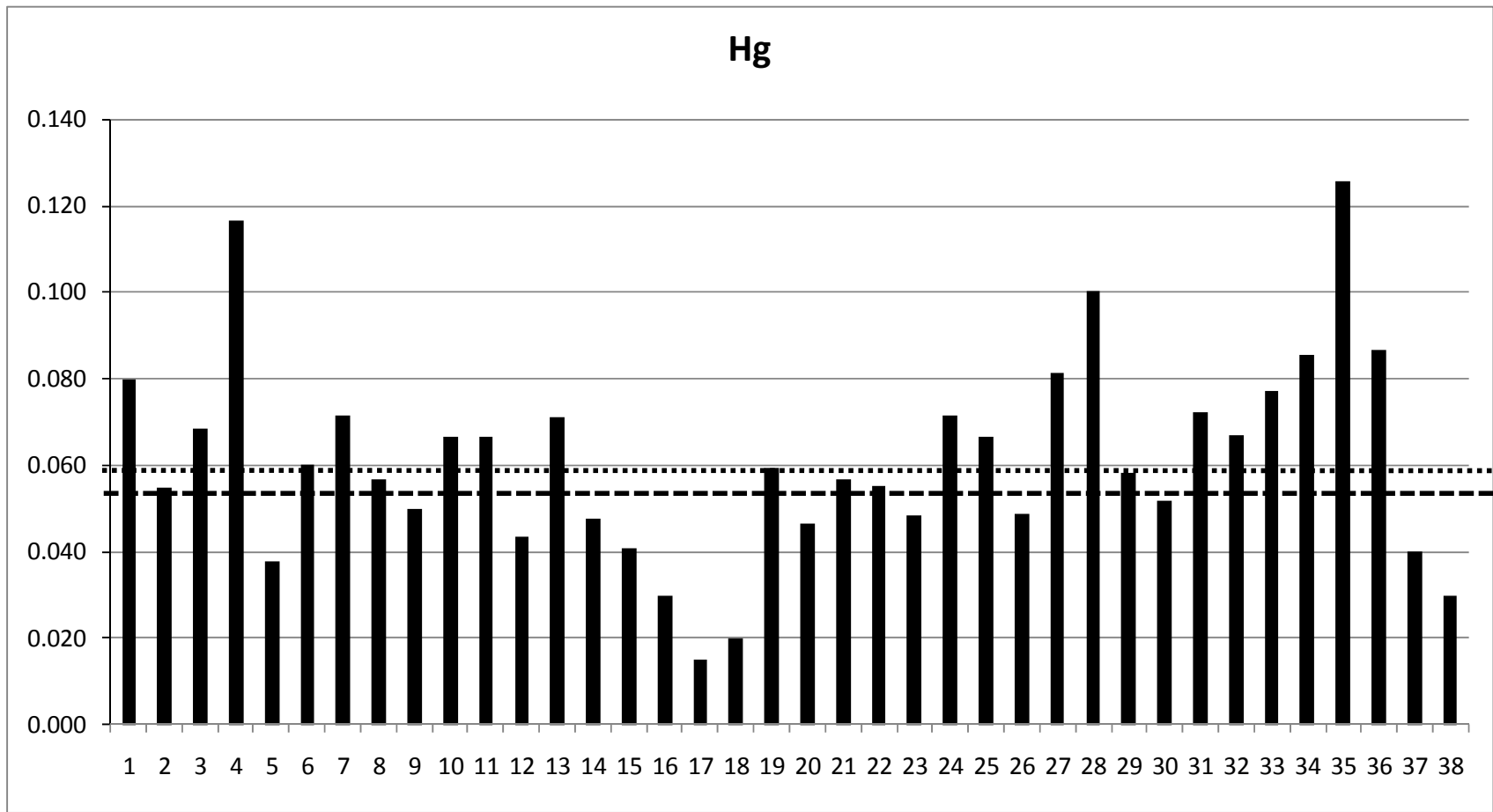


Figure V.3 : Hg concentrations in the 38 sites studied (in µg.g⁻¹ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (----- : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).

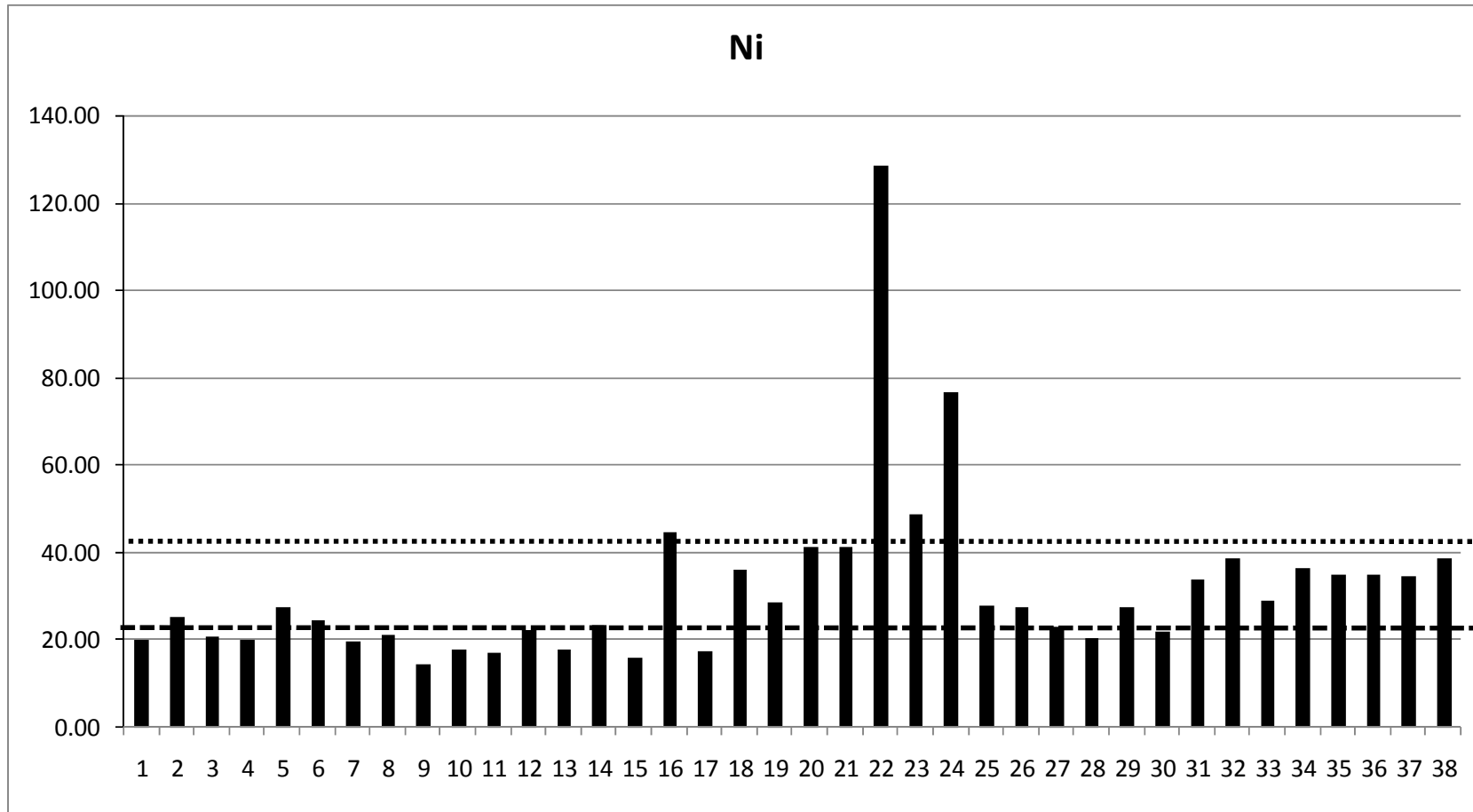


Figure V.4 : Ni concentrations in the 38 sites studied (in µg.g⁻¹ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (----- : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).

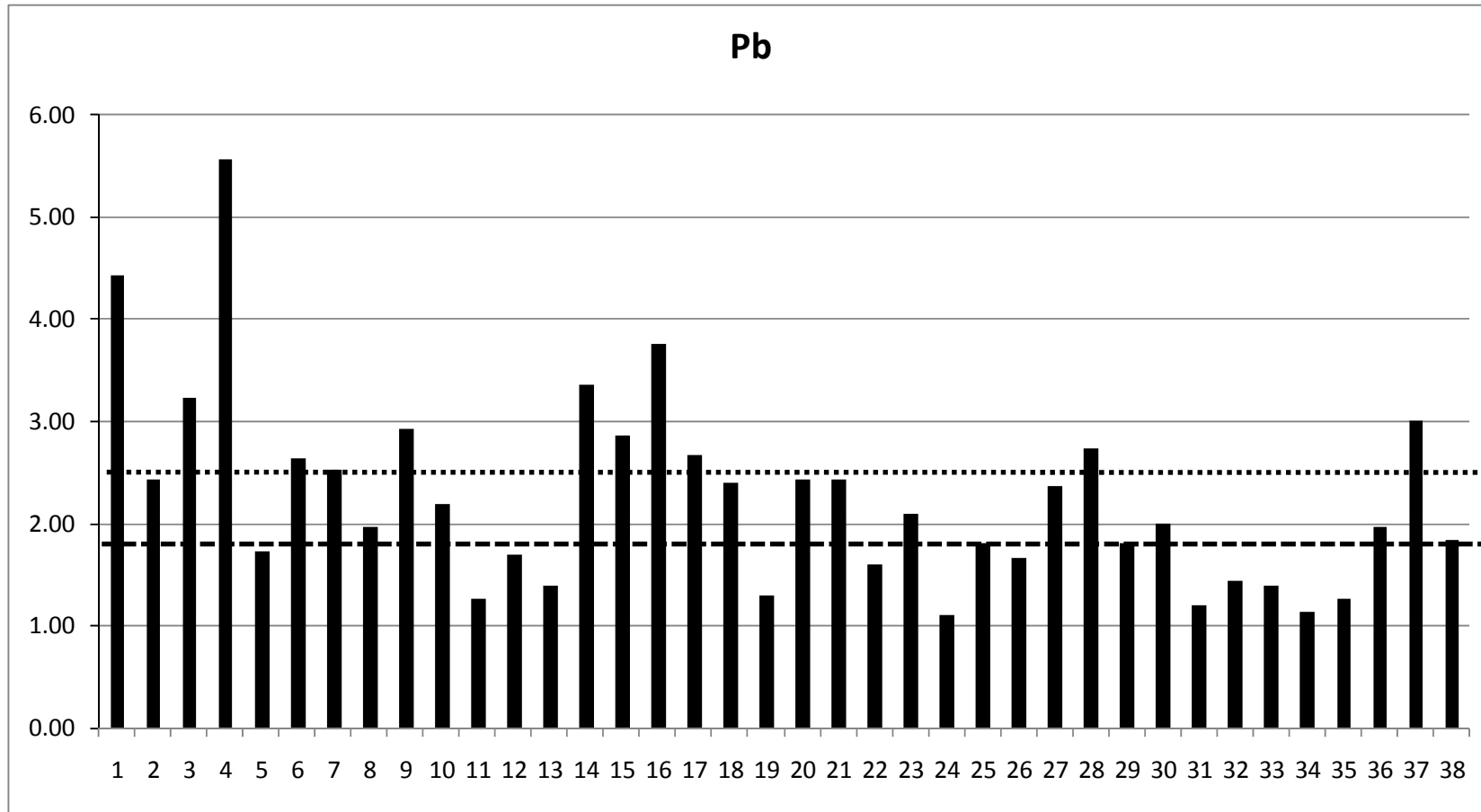


Figure V.5 : Pb concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (----- : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).

The preliminary quality scales proposed in this study show globally different values for the class limits, compared to those proposed in others works available in literature (Pasqualini *et al.*, 1999 ; Pergent-Martini *et al.*, 2005a ; Table V.5).

Table V.5 : Classification of *Posidonia oceanica* seagrass beds as function of trace metal contamination levels in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (from Pergent-Martini *et al.*, 2005a).

Cd	Hg	Interpretation
< 1.81	< 0.048	High
1.81 – 3.62	0.048 – 0.096	Good
3.63 – 5.43	0.097 – 0.144	Moderate
5.44 – 7.24	0.145 – 0.192	Poor
> 7.24	> 0.193	Bad

These differences can be explained by the fact that these previous scales are based on data from literature which integrate old measures carried out with methods that were less reliable (e.g. absence of reference samples, analyses techniques not as highly-performant as today) and which have not always specified the nature of the tissue taken into account (see in Pergent-Martini *et al.*, 1999). The interest of our approach resides in the homogeneity of our results, in the standardization of our sampling protocol and in the fact that the analyses have been carried out in the same laboratory (*Laboratoire Municipal de Rouen*, NF EN ISO/CEI 17025) with the use of reference samples. Concerning mercury analyses carried out at the University of Corsica, intercalibrations have been done with the *Laboratoire Municipal de Rouen* and with a laboratory specialized in the analyses of trace metals, the laboratory “Biogéochimie des contaminants métalliques” (IFREMER, Centre de Nantes).

Nevertheless the method to use so as to establish quality scales must be clearly defined. Indeed, if limits of classes are relatively close to each other for metals which have a regular repartition of contamination levels (Cd and Hg ; Figure V.2 and Figure V.3), on the other hand, for contaminants with high values in a small number of sites (Pb and Ni), differences observed are important (Figure V.4 and Figure V.5).

The integration of measures from others regions of the north-occidental basin (Catalonia, Sicily) could reduce, at least in part, the differences observed and would allow the definition of more reliable thresholds.

CHAPITRE VI

*Posidonia oceanica : a tracer of
past mercury contamination*

CHAPITRE VI

Posidonia oceanica : a tracer of past mercury contamination¹¹

Abstract

The aim of this study is to assess the relevance and the potential of *Posidonia oceanica* as a tracer of past mercury contamination. Shoots were collected on two sites, an impacted site - Rosignano (Tuscany, Italy) and a pristine site - Tonnara (Corsica, France). Lepidochronology was used to measure mercury concentrations in living sheaths and in the corresponding dead sheaths. The results show that there is an overestimation of mercury concentrations in dead sheaths (because of the degradation of this tissue due to its ageing), overestimation which stabilizes itself from the third lepidochronological year onwards (trend significant only for Rosignano). Thus, it is possible to estimate previous mercury concentrations and to date a contamination, by measuring mercury concentration in the dead sheaths of a given lepidochronological year and by taking into account the degradation of the sheaths. Therefore, *Posidonia oceanica* can be used to reconstruct the evolution of the past mercury contamination.

Capsule : *Posidonia oceanica* sheaths allow to reconstruct the evolution of the past mercury contamination.

Keywords : *Posidonia oceanica*, past contamination, mercury, dead sheaths, lepidochronology, Mediterranean.

¹¹ Lafabrie, C., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Capiomont, A., in press. *Posidonia oceanica*: a tracer of past mercury contamination. *Environmental Pollution*.

1. Introduction

Mercury contamination has long been recognized as a serious marine environmental concern. Indeed, mercury is probably one of the most investigated elements because of its high toxicity due to its accumulative and persistent character in the environment and biota (Clarkson, 1998). It is widely recognized that human activities have increased mercury loads in the atmosphere on a local, regional and even hemispheric scale, leading to a contamination of the environment (Slemr & Langer, 1992 ; Thompson *et al.*, 1992). It has been estimated that 80% of the total mercury in the atmosphere is derived from anthropogenic activities (Mason *et al.*, 1994). The enhanced atmospheric deposition of mercury is often the dominant source of mercury in aquatic systems (Hakanson *et al.*, 1988 ; Rolfhus & Fitzgerald, 1995 ; Voegborlo & Akagi, 2007).

Posidonia oceanica (L.) Delile, an endemic seagrass of the Mediterranean, is of crucial ecological relevance for the coastal ecosystem (Pergent, 2006). It forms vast meadows from the surface down to depths of 40 m. This species has been extensively used as a bio-indicator of mercury (Maserti *et al.*, 1988 ; Pergent-Martini, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000) and some authors (Roméo *et al.*, 1995 ; Pergent-Martini, 1998) suggested that several trace metals could be memorized through its belowground tissues (dead sheaths and rhizomes).

The aim of this study is to compare mercury concentrations measured in sheaths taken from *Posidonia oceanica* shoots collected at different times in order to assess the relevance and the potential of this seagrass as a tracer of past mercury contamination.

2. Materials and methods

2.1. Study area and sampling plan

The two study sites are located in the North-Western Mediterranean : in Rosignano (Tuscany-Italy) and in Tonnara (Corsica-France ; Figure VI.1). The

Rosignano site, located at 1 km from the coast, in front of the outlet of the chemical plant of Solvay, is subject to the input of industrial waste, rich in mercury, since 1920. In 1973, the waste treatment initiated and since then the quantities of mercury introduced into the sea have significantly decreased (Ferrara *et al.*, 1989). The Tonnara site, located in the south of Corsica, is characterized by a very low level of urbanization and human impact.

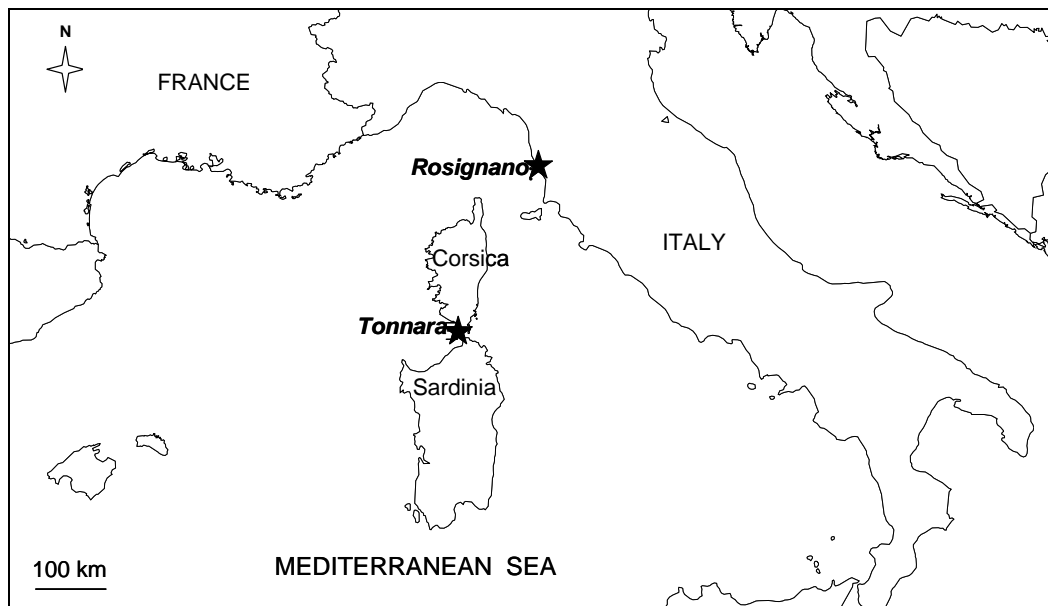


Figure VI.1 : Study area showing the location of the sites.

At each site, orthotropic shoots of *Posidonia oceanica* were collected by SCUBA diving, at 10 m depth, (i) monthly between October 1995 and October 1996, (ii) in September 1997 and (iii) in November 2003.

2.2. Sampling preparation

For the shoots collected between October 1995 and October 1996, the foliar part was sorted according to the protocol described by Giraud (1977a) in order to separate the living sheaths. For the shoots collected in October 1995, in October 1996, in September 1997 and in November 2003, the dead sheaths were detached from the rhizome respecting the distich insertion and ordered sequentially from the oldest (the one situated the farthest from the foliar part) to the most recent (the one situated the nearest to the foliar part) according to

lepidochronology (technique similar to terrestrial dendrochronology based on chronological variations of the thickness of dead sheaths, see Pergent, 1990). The dead sheaths were then grouped by annual cycle (between two minima of thickness).

Epiphytes and sediments were removed from the living sheaths and the dead sheaths using a glass strip, these tissues were then rinsed with ultrapure water. Analyses were performed on :

- The living sheaths for the shoots collected monthly between October 1995 and October 1996 ;
- The dead sheaths of the lepidochronological years 1994, 1995, and 1996 for the shoots collected in September 1997 and in November 2003 ;
- The dead sheath showing the maximum thickness for the lepidochronological year 1994 for the shoots collected in October 1995, in October 1996, in September 1997 and in November 2003. The biomass of these dead sheaths was measured using an electronic scale (Mettler Toledo ; $\pm 1\mu\text{g}$).

The samples were randomly separated into five replicates in order to have sufficient weight for the analyses. They were then frozen (-20°C) and lyophilized ($> 72\text{ h}$ in Heto[®] FD4-85 freeze dryer, HetoHolten A/S, Denmark).

2.3. Mercury analysis

50 mg of each sample were placed in a Teflon digestion vessel CEM[®] ACV of 100 ml (CEM Corporation, USA). 5 ml of 69% HNO_3 (Normapur 20 428 .297 Prolabo[®]) and 1 ml of H_2O_2 30% (Normapur 23 619 .297 Prolabo[®]) were added. The vessels were sealed and placed into the CEM[®] MARS 5 chamber. Following the acid digestion, the content of each vessel was poured into 25 ml volumetric flasks and diluted to volume with ultrapure water and then transferred to 60 ml polypropylene flasks.

Mineralized samples were analysed using a cold vapour atomic absorption spectrometer (CV-AAS) equipped with a flow injection system (FIMS 100) and

an autosampler (AS-90), all from Perkin Elmer[®]. A carrier solution of 5% (v/v) nitric acid and a reducing solution of 1.1% (p/v) tin chloride (23 742.260 Prolabo[®]) and 0.5% (p/v) hydroxylammonium chloride (24 708.235 Prolabo[®]) in 3% (v/v) hydrochloric acid (20 253.293 Prolabo[®]) were used. The standard addition method was applied for calibration. Calibration standards were prepared, just before use, by appropriately dilutions of a mercury standard solution 1000 mg.l⁻¹ (30 130.263 Prolabo[®]).

The analytic procedure was verified using certified reference material (*Lagarosiphon major*, CRM 60) provided by the Community Bureau of Reference (Commission of the European Communities) whose certified value (mean value $\pm 95\%$ confidence interval) is $0.34 \pm 0.04 \mu\text{g Hg.g}^{-1}$ dry weight (dw). Our values were $0.34 \pm 0.02 \mu\text{g Hg.g}^{-1}$ dw.

2.5. Statistical analysis

The normality has been tested with a Kolmogorov Smirnov test and the homoscedasticity with a Bartlett test. Differences between mercury concentrations were evaluated by a Mann-Whitney U test or by an ANOVA, followed by a post hoc test of Tukey HSD. Correlations of mercury concentrations between sites were tested by linear Pearson's correlations.

3. Results

The mean mercury concentration in living sheaths was given by the concentrations measured each month in the living sheaths of the shoots collected between October 1995 and October 1996. The concentrations are of $54.7 \pm 1.3 \text{ ng.g}^{-1}$ dry wt. for Tonnara and of $289.3 \pm 11.4 \text{ ng.g}^{-1}$ dry wt. for Rosignano (Table VI.1). For both sites, the result is similar to the concentrations recorded in the dead sheaths of the shoots collected in September 1997, which correspond to the same period (dead sheaths of the lepidochronological year 1996) ($p \geq 0.05$; Table VI.1). On the other hand, when considering the dead sheaths of the

lepidochronological year 1996, the mercury concentration for that year in the shoots collected in 1997 is significantly lower than the concentrations found for the same year in the shoots collected in November 2003. This trend is observed for both Tonnara ($p < 0.05$) and Rosignano ($p < 0.10$; Table VI.1).

Table VI.1 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in living and dead sheaths of *Posidonia oceanica* shoots (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the mercury concentration relative to this of the previous box ; *¹ $p < 0.05$; *² $p < 0.10$).

Sampling date	October 1995 to 1996	September 1997	November 2003
Tissue	Living sheaths	Dead sheaths (1996)	Dead sheaths (1996)
Tonnara	54.7 ± 1.3	47.0 ± 3.5	70.8 ± 2.9 * ¹
Rosignano	289.3 ± 11.4	306.7 ± 6.2	407.5 ± 17.6 * ²

Whereas the mercury concentration, recorded in the dead sheaths of the lepidochronological year 1994, in the shoots collected in September 1997 is similar to the concentration measured in the shoots collected in November 2003, for Tonnara as well as for Rosignano (Table VI.2 ; $p \geq 0.05$). The same trend is observed for the mercury concentration recorded in the dead sheaths of the lepidochronological year 1995 (Table VI.2 ; $p \geq 0.05$).

Table VI.2 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in the dead sheaths of the lepidochronological years 1994 and 1995 of *Posidonia oceanica* shoots (mean \pm S.E. ; 5 replicates).

Site	Sampling date	1994	1995
Tonnara	September 1997	62.5 ± 3.4	57.6 ± 2.7
	November 2003	54.3 ± 1.0	73.4 ± 5.8
Rosignano	September 1997	380.4 ± 15.0	375.4 ± 21.7
	November 2003	382.7 ± 13.6	377.3 ± 22.4

The mercury concentration recorded in the dead sheath showing the maximum thickness for the lepidochronological year 1994, for shoots collected in October 1995, in October 1996, in September 1997 and in November 2003 are shown in Table VI.3. In the site of Tonnara, the mercury concentration is similar for all the sampling dates considered ($p \geq 0.05$) whereas in the site of Rosignano

some differences are observed. Indeed, in Rosignano, the concentration increases as the sampling dates are more recent, but from October 1996 this increase is no longer significant ($p \geq 0.05$).

Table VI.3 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in the dead sheath showing the maximal thickness for the lepidochronological year 1994 (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the mercury concentration relative to this of the previous box, * $p < 0.05$).

Site	Sampling date			
	October 1995	October 1996	September 1997	November 2003
Tonnara	48.3 \pm 3.9	46.7 \pm 4.9	55.3 \pm 1.9	49.5 \pm 2.4
Rosignano	208.4 \pm 4.5	230.4 \pm 12.6 *	297.3 \pm 17.7	324.6 \pm 45.5

The biomass of the dead sheath showing the maximum thickness for the lepidochronological year 1994 is significantly higher in Tonnara than in Rosignano ($p < 0.05$). This biomass decreases as the sampling date is more recent, but this decrease is no longer significant from the October 1996 sampling, for Tonnara as well as for Rosignano (Table VI.4 ; $p \geq 0.05$).

Table VI.4 : Biomass (g dry wt. by shoot) of the dead sheath showing the maximal thickness for the lepidochronological year 1994 (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the biomass relative to this of the previous box, * $p < 0.05$).

Site	Sampling date			
	October 1995	October 1996	September 1997	November 2003
Tonnara	0.061 \pm 0.002	0.045 \pm 0.003 *	0.036 \pm 0.001	0.028 \pm 0.002
Rosignano	0.046 \pm 0.003	0.034 \pm 0.003 *	0.024 \pm 0.002	0.020 \pm 0.005

4. Discussion

The evolution of mercury concentration according to the ageing of the sheaths can be thus summarized as follow :

(i) The mercury concentration in the living sheaths of the year n remains stable in the year $n+1$ following the death of the sheaths, in both sites : $[\text{Hg}]_n = [\text{Hg}]_{n+1}$ (Table VI.1) ;

(ii) The mercury concentration in the dead sheaths of the year $n+1$ remains stable in the years $n+2$ and $n+3$ in Tonnara : $[\text{Hg}]_{n+1} = [\text{Hg}]_{n+2} = [\text{Hg}]_{n+3}$ whereas it increases in Rosignano : $[\text{Hg}]_{n+1} < [\text{Hg}]_{n+2} < [\text{Hg}]_{n+3}$ (Table VI.3) ;

(iii) The mercury concentration in the dead sheaths of the year $n+3$ remains stable until at least the year $n+9$, in both sites : $[\text{Hg}]_{n+3} = [\text{Hg}]_{n+4 \rightarrow n+9}$ (Table VI.2 and Table VI.3).

First and foremost, it seems important to point out that, contrarily to Rosignano, for Tonnara, the mercury concentrations in the sheaths remains stable independently of their age. This may be related to the very low level of mercury contamination found for this site which does not allow to detect differences in mercury concentrations measured. Rosignano, which is known to be mercury contaminated (Ferrara *et al.*, 1989 ; Capiomont *et al.*, 2000), presents a clear trend of the evolution of mercury concentration according to the ageing of the sheaths. The arguments discussed below will therefore be based on results obtained for Rosignano.

As the mercury concentration in the living sheaths remains stable throughout the year following the death of the sheaths, it shows that no appreciable mercury flux (absorption or desorption) occurs in this tissue after the blade shedding. This finding matches those of Pergent-Martini (1998) who noticed that the mercury concentration of the rank one living sheath and those of the rank one to eleven dead sheaths of one annual cycle showed no significant differences. Indeed, dead sheaths are dead tissues, which do not have any exchanges with the living parts of the plant. Mercury seems therefore to be stored in the living sheaths throughout the life of the adult leaves and subsequently remains stored in the sheaths after blade shedding.

Thus these results show that the dead sheaths, through the use of the lepidochronology technique, allow to trace the evolution of the past mercury contamination of a given site. However, these results also highlight the limit of this method, as they show that the value of the mercury concentration recorded in

the dead sheaths of a given lepidochronological year is overestimated for shoots collected from 3 to at least 9 years after the blade shedding, but it is important to point out that this overestimation is stabilized from the third year after the blade shedding. In order to explain this phenomenon it appears interesting to take into consideration what Romero *et al.* (1992) and Pergent *et al.* (1994) reported. These authors described a decrease in the biomass of dead sheaths as the lepidochronological years grew further from the living date, that is to say that the biomass decreases with the ageing of the shoots, and to model this decrease they proposed a simple negative exponential model with a decay rate k (k : exponent of the model). In the same way, our results show a decrease of the biomass of the dead sheaths relatively to the age of this tissue.

Therefore to summarise, when going back in lepidochronological years, on one hand there may be an apparent increase of mercury concentration in the dead sheaths and on the other hand a loss of the biomass of these dead sheaths. Thus, the total quantity of mercury present in the dead sheaths may remain stable or may decrease, although in smaller proportion than the decrease in biomass. In this way, mercury would be distributed in a non homogeneous way in the dead sheath tissue and would be preferentially located in the part of the dead sheath less affected by degradation, due to ageing of the shoots (shoots grow in the sediment and are affected by various environmental factors). The degradation occurs mainly at the tip of the dead sheaths. Following our argument, mercury would therefore be preferentially located in the basal part of the dead sheath. Crouzet (1984) showed that this tissue has an anatomical evolution from the base towards the tip, which interests mainly the support tissues that were very developed in proximity of the insertion zone and were reduced at the tip. He also observed thickness differences along the dead sheath which could be due to a decrease in the number of layers of the parenchyma cells and to a "flattening" of these cells towards the tip, whereas epidermic cells, sclerotic cells and conductive tissues remain intact. Thus, the retention of mercury in dead sheaths would be due to its binding mainly in parenchyma cells. This hypothesis is reinforced when taking into consideration what several studies reported about the sequestration of metal ions in cells.

Indeed, Gong *et al.* (2003) showed that cysteine-rich polypeptides called phytochelatins (with a general structure of $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$, with $n = 2$ to 11) are preferentially accumulated in specific cell types such as vascular parenchyma cells. Moreover several studies (Gong *et al.*, 2003 ; Carginale *et al.*, 2004 ; Ederli *et al.*, 2004) demonstrated that phytochelatins chelate trace metals in the cytosol and transport them into the vacuoles via transport across the tonoplast. Phytochelatins therefore generate the main metal-binding activity in the plant cells via thiolate coordination and play an essential role in trace metals detoxification (Grill *et al.*, 1985 ; Loeffler *et al.*, 1989 ; Zenk, 1996 ; Gupta & Chandra, 1998 ; but see Leopold *et al.*, 1999).

In the light of the previous remarks, it appears necessary, when determining past mercury concentrations, to take into consideration the effects of tissue degradation due to the ageing of dead sheaths, in order to better understand the evolution of the mercury contamination of a given site. Thus, using the data presented here, the past mercury concentrations of a contaminated site can be determined by applying the following relationships :

(i) For the living sheaths of a year n : $[\text{Hg}]_n^{\text{real}} = [\text{Hg}]_n^{\text{measured}}$

(ii) For the dead sheaths of a lepidochronological year $n-1$: $[\text{Hg}]_{n-1}^{\text{real}} = [\text{Hg}]_{n-1}^{\text{measured}}$

(iii) For the dead sheaths of a lepidochronological year $n-2$: $[\text{Hg}]_{n-2}^{\text{real}} = \alpha [\text{Hg}]_{n-2}^{\text{measured}}$ ($\alpha = 208.4 / 230.4 = 90\%$; Table VI.3)

(iv) For the dead sheaths of lepidochronological years $n-3$ to $n-9$: $[\text{Hg}]_{n-3 \rightarrow n-9}^{\text{real}} = \beta [\text{Hg}]_{n-3 \rightarrow n-9}^{\text{measured}}$ ($\beta = 289.3 / 407.5 = 71\%$; Table VI.1).

5. Conclusions

This study shows that *Posidonia oceanica* can be used to reconstruct the evolution of the past mercury contamination of coastal sites. Indeed, it shows that it is now possible to estimate previous mercury concentrations and to date a contamination, by measuring mercury concentrations in the dead sheaths of a given lepidochronological year and by taking into account the degradation of the

sheaths. In this way, this seagrass constitutes a suitable bioindicator of past mercury contamination which can be of great interest in the framework of long-term monitoring programs.

Acknowledgements

This research was supported by a grant from the "Collectivité Territoriale de la Corse". We wish to thank Dr L. Piazzi for his cooperation in Italy, Dr Culioli and the Parc Marin of Bonifacio for diving and technical help in Bonifacio, and B. Mimault for diving assistance. The authors are indebted to the reviewers for their fruitful suggestions.

CHAPITRE VII

Conclusion générale et perspectives

L'évaluation des potentialités de *Posidonia oceanica* dans l'étude de la contamination métallique des écosystèmes littoraux apparaît comme un élément fondamental dans une optique de gestion de la qualité des eaux côtières méditerranéennes. L'étude des concentrations métalliques chez *Posidonia oceanica* a fait l'objet de plusieurs travaux proposant l'utilisation de cette espèce en tant que bio-indicateur de la contamination métallique (Pergent-Martini, 1998 ; Schlacher-Hoenlinger & Schlacher, 1998 ; Capiomont *et al.*, 2000 ; Campanella *et al.*, 2001 ; Ferrat *et al.*, 2003a). Toutefois, un certain nombre d'axes d'étude restait encore à explorer afin de valider définitivement les potentialités de cette espèce comme bio-indicateur de la contamination métallique.

Les résultats de ce travail permettent tout d'abord, au travers des chapitres II, III et IV, de valider l'utilisation de *Posidonia oceanica* en tant qu'outil fiable pour la détermination des concentrations métalliques du milieu marin.

Le travail portant sur l'évolution temporelle des concentrations métalliques (chapitre II) a permis une **meilleure compréhension des processus d'accumulation des métaux par *Posidonia oceanica***. Les résultats de ce travail montrent, d'une part, que la plupart des concentrations métalliques augmentent avec le temps (/vieillissement des tissus) et, d'autre part, qu'un phénomène de dilution biologique des contaminants métalliques se produit dans les tissus lors de leur croissance. La prise en compte de l'âge des tissus et des phénomènes de dilution biologique apparaît indispensable dans la détermination des concentrations métalliques afin de pouvoir disposer de données qui soient comparables (quelle que soit la saison) et dans l'optique de développer des réseaux de surveillance basés sur ce bio-intégrateur.

Les résultats présentés au chapitre III confirment la **grande sensibilité de *Posidonia oceanica* comme traceur de la contamination métallique** des écosystèmes littoraux. Il a été en effet possible d'identifier les apports métalliques associés à la présence de l'ancienne mine d'amiante de Canari (essentiellement Co, Cr et Ni) et de se rendre compte de l'étendue de l'impact de cette ancienne exploitation. *Posidonia oceanica* permet ainsi d'associer une contamination métallique spécifique à un impact anthropique particulier.

Les résultats présentés au chapitre IV confirment, quant à eux, la **fiabilité de *Posidonia oceanica* comme bio-indicateur de contamination métallique**. En effet, dans 3 sites subissant des impacts humains différents, les concentrations métalliques mesurées dans les tissus de *Posidonia oceanica* présentent les mêmes tendances que celles obtenues à partir du bio-indicateur *Mytilus galloprovincialis*. Les analyses de l'eau (DGT) et du sédiment, tout en étant moins précises, confirment également ces résultats.

La magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* apparaît, par conséquent, comme un outil intéressant dans le cadre de la mise en œuvre de réseaux de surveillance à l'échelle de la Méditerranée. Cette espèce présente de nombreux avantages : elle est largement répartie tout autour de la Méditerranée (espèce indigène), elle est longévive, son prélèvement est facile à réaliser et peu coûteux. En outre, la technique proposée au chapitre III, qui consiste à prélever uniquement les limbes des feuilles adultes (fort pouvoir accumulateur), permettrait de réaliser des analyses de métaux traces sans entraîner la mortalité de la plante (espèce protégée dans de nombreux pays méditerranéens) et tout en conservant son intégrité. Dans cette optique, des **grilles préliminaires d'interprétation de la contamination métallique du milieu**, établies à partir de mesures réalisées dans les limbes, ont été proposées pour le Cd, le Hg, le Ni et le Pb (métaux appartenant à la liste des substances prioritaire établie par la Communauté Européenne ; Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001 ; chapitre V). L'intégration d'un nombre plus important de données permettrait d'affiner ces grilles.

Enfin, les résultats présentés au chapitre VI confirment qu'il est possible d'utiliser *Posidonia oceanica* en tant que « **traceur** » **de la contamination mercurielle passée**. Grâce à la technique de la lépidochronologie, les concentrations en mercure qui avaient prévalu dans les tissus foliaires formés il y a plusieurs années, peuvent être retrouvées à partir de celles mesurées dans les écailles correspondantes conservées au sein de la matre. Cette capacité de mémorisation des concentrations mercurielles rend ainsi possible la reconstitution

de l'historique de la contamination en mercure d'un site à partir d'un prélèvement ponctuel.

Si, à l'issue de ce travail, l'intérêt de *Posidonia oceanica* en tant que bio-indicateur de la contamination métallique est clairement démontré, plusieurs voies de recherche restent encore à explorer afin d'élargir l'utilisation de cette espèce à l'ensemble du bassin méditerranéen.

Il serait en effet intéressant d'étendre cette étude à l'ensemble du bassin méditerranéen puisque les résultats présentés dans ce travail concernent uniquement le bassin nord-occidental méditerranéen. Un réseau de surveillance basé sur l'utilisation de *Posidonia oceanica* en tant que bio-indicateur de la contamination métallique pourrait ainsi être établi à l'échelle de la Méditerranée. Concernant les quelques régions où *Posidonia oceanica* est absente, l'utilisation d'une autre magnoliophyte, par exemple *Cymodocea nodosa*, pourrait être envisagée.

Au-delà du simple constat des niveaux de contamination des sites étudiés, la recherche de l'origine de la contamination et la mise en œuvre de moyens pour réduire cette contamination (dans la mesure du possible) apparaît indispensable. En effet, si pour plusieurs sites l'origine de la contamination est relativement simple à identifier (e.g. mine de Canari, complexe industrialo-portuaire de Toulon, émissaire de la ville de Marseille), en revanche, pour d'autres sites et/ou contaminants, cette identification reste beaucoup plus difficile. Ainsi le Cd présente une répartition particulière au niveau du littoral de la Corse et l'origine de cette répartition n'est pas identifiée (chapitre III). La partie du littoral insulaire située au dessus d'une diagonale nord-est sud-ouest apparaît comme plus contaminée en Cd que la partie du littoral située au dessous de cette diagonale (Figure III.2), mais aussi que d'autres stations du littoral méditerranéen soumises à un impact humain important. Ces fortes valeurs en Cd ont par ailleurs été confirmées par le réseau intégrateur biologique (RINBIO), basé sur l'utilisation de moules (Andral *et al.*, 2004b), et par des travaux antérieurs portant sur *Posidonia oceanica* (Pergent-Martini, 1992 ; Roméo *et al.*, 1995). Le Cd étant le seul élément métallique présentant cette répartition dans notre étude, il semble important de déterminer l'origine de celle-ci. Plusieurs hypothèses peuvent être

émises : (i) le socle géologique de la Corse pourrait expliquer cette répartition, toutefois la Corse est divisée géologiquement en deux unités qui ne correspondent pas à la répartition observée ; (ii) le relief particulier de la Corse (escarpé et abrupt sur la côte occidentale – « doux » sur la côte orientale) pourrait expliquer une érosion et un lessivage plus importants sur la côte ouest conduisant à un apport plus importants de particules sur cette partie de l'île, toutefois, si c'était le cas, on retrouverait la même répartition pour d'autres éléments métalliques ; (iii) la présence de phénomènes d'upwellings, au niveau de la côte orientale de l'île, véhiculant des eaux riches en Cd pourrait expliquer cette répartition ; (iv) la présence d'une potentielle source de contamination en Cd (naturelle ou anthropique) dans le sud-ouest de l'île pourrait contaminer la partie nord-ouest de l'île via l'important courant de dérive littorale allant des Bouches de Bonifacio jusqu'au Cap Corse à l'ouest (Pluquet, 2006) ; (v) une différence au niveau des caractéristiques physico-chimiques des masses d'eau de la mer Ligure et de la mer Tyrrhénienne pourrait également expliquer cette répartition. D'autres études sont nécessaires afin d'éclaircir ce point resté flou.

Enfin, les voies d'absorption des métaux traces par *Posidonia oceanica* restent toujours à déterminer. En effet, l'étude sur la répartition des métaux traces entre les limbes et les bases des feuilles adultes (chapitre III) montre, qu'à l'exception du Cr, tous les métaux sont préférentiellement accumulés au niveau des limbes. En outre, l'étude comparant les concentrations métalliques mesurées dans la colonne d'eau, le sédiment, *Mytilus galloprovincialis* et *Posidonia oceanica* (chapitre IV), montre des corrélations positives entre les teneurs mesurées dans le sédiment et *Posidonia oceanica* pour Co, Cr, Ni et Hg. Ces résultats ne sont pas suffisants pour identifier les voies d'absorption des métaux traces par *Posidonia oceanica* ; d'autres études sont également nécessaires pour élucider ce point.

Références bibliographiques

- Abal, E.G., Dennison, W.C., 1996. Seagrass depth range and water quality in southern Moreton bay, Queensland, Australia. *Marine and Freshwater Research* 47(6), 763-771.
- Acevedo-Figueroa, D., Jiménez, B.D., Rodriguez-Sierra, C.J., 2005. Trace metals in sediments of two estuarine lagoons from Puerto Rico. *Environmental Pollution* 141, 336-342.
- Acunto, S., Piazzzi, L., Balestri, E., Cinelli, F., 1996. Segnalazioni di fioriture di *Posidonia oceanica* (L.) Delile lungo le coste toscane. *Biologia Mare Mediterraneo* 3(1), 437-438.
- Adriano, D., 2001. Trace elements in terrestrial environments : biogeochemistry, bioavailability, and risks of heavy metals. Springer-Verlag, New York, 1-846.
- Al-Khafaji, A.A., Tabatabai, M.A., 1979. Effects of trace elements on aryl sulfatase activity in soils. *Soil Science* 127, 129-133.
- Alam, M.G.M., Snow, E.T., Tanaka, A., 2003. Arsenic and heavy metals contamination of vegetables grown in Santa village, Bangladesh. *The Science of the Total Environment* 308, 83-96.
- Alcoverro, T., Cebrián, E., Ballesteros, E., 2001. The photosynthetic capacity of the seagrass *Posidonia oceanica* : influence of nitrogen and light. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 261, 107-120.
- Amado Filho, G.M., Karez, C.S., Andrade, L.R., Yoneshigue-Valentin, Y., Pfeiffer, W.C., 1997. Effects on growth and accumulation of zinc in six seaweed species. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 37, 223-228.
- Amado Filho, G.M., Andrade, L.R., Karez, C.S., Farina, M., Pfeiffer, W.C., 1999. Brown algae species as biomonitors of Zn and Cd at Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Environmental Research* 48, 213-224.
- Amado Filho, G.M., Creed, J.C., Andrade, L.R., Pfeiffer, W.C., 2004. Metal accumulation by *Halodule wrightii* populations. *Aquatic Botany* 80, 241-251.
- Amiard, J.-C., Caquet, T., Lagadic, L., 1998. Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. In : Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C., Ramade, F. edit., Lavoisier pub., France, XXI-XXX.
- Andersen, V., Maage, A., Johannessen, P.J., 1996. Heavy metals in blue mussels (*Mytilus edulis*) in the Bergen Harbor area, western Norway. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 57, 589-596.
- Andral, B., Chiffolleau, J.-F., Galgani, F., Tomasino, C., Emery, E., Pluquet, F., Thebault, H., 2004a. Programme LIMA, Evaluation de la contamination chimique de la station de Canari, Campagne Canari II (octobre 2002), Rapport d'étude Ifremer, France.
- Andral, B., Stanisiere, J.Y., Sauzade, D., Damier, E., Thebault, H., Galgani, F., Boissery, P., 2004b. Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging. *Marine Pollution Bulletin* 49, 704-712.
- Ardizzone, G.D., Pelusi, P., 1984. Yield and damage evaluation of bottom trawling on *Posidonia* meadows. In : International Workshop on *Posidonia oceanica* beds. Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., Olivier, J. edit., GIS Posidonie pub., France, 1, 63-72.
- Arnoux, A., 1993. Les indicateurs physico-chimiques de la qualité du milieu marin. In : Qualité du milieu marin – Indicateurs biologiques et physico-chimiques. Rencontres scientifiques de la Côte Bleue. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C. edit, GIS Posidonie pub., France, 3, 43-58.

- Augier, H., Gilles, G., Ramonda, G., 1977. Utilisation de la Phanérogame marine *Posidonia oceanica* Delile pour mesurer le degré de contamination mercurielle des eaux littorales méditerranéennes. *Comptes Rendus hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences* 285, 1557-1560.
- Augier, H., Chabert, D., Vicente, N., 1980. Le port de Porquerolles (Iles d'Hyères, Méditerranée, France). II. Contamination par les métaux lourds. *Travaux scientifiques du Parc national de Port-Cros* 6, 253-285.
- Augier, H., Gilles, G., Ramonda, G., 1984. L'herbier de *Posidonia oceanica* et la pollution par le mercure sur le littoral des Bouches-du-Rhône et du Var (France). In : International Workshop on *Posidonia oceanica* beds. Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., Olivier, J., edit., GIS Posidonie publ., France, 1, 399-406.
- Augier, H., 1985. L'herbier à *Posidonia oceanica*, son importance pour le littoral méditerranéen, sa valeur comme indicateur biologique de l'état de santé de la mer, son utilisation dans la surveillance du milieu, les bilans écologiques et les études d'impact. *Vie marine* 7, 85-113.
- Axtell, N.R., Sternberg, S.P.K., Claussen, K., 2003. Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor*. *Bioresource Technology* 89, 41-48.
- Azaïs, H., Bouladon, J., Sainfeld, P., 1960. Le problème du nickel dans les serpentinites du Cap Corse, Rapport BRGM, France.
- Azizian, M.F., Nelson, P.O., Thayumanavan, P., Williamson, K.J., 2003. Environmental impact of highway construction and repair materials on surface and ground waters. Case study : crumb rubber asphalt concrete. *Waste management* 23(8), 719-728.
- Bae, J.-S., Freeman, H.S., 2007. Aquatic toxicity evaluation of copper-complexed direct dyes to the *Daphnia magna*. *Dyes and Pigments* 73, 126-132.
- Bakir, F., Damluji, S.F., Amin-Zaki, L., Murthada, M., Khalidi, A., Al-Rawi, N.Y., Tikriti, S., Dhahir, H.I., Clarkson, T.W., Smith, J.C., Doherty, R.A., 1973. Methylmercury poisoning in Iraq. *Science* 181, 230-241.
- Balestri, E., Cinelli, F., Piazzini, L., 1998. Survival and growth of transplanted and natural seedlings of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in a damaged coastal area. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 228, 209-225.
- Balestri, E., Benedetti-Cecchi, L., Lardicci, C., 2004. Variability in patterns of growth and morphology of *Posidonia oceanica* exposed to urban and industrial wastes : contrasts with two reference locations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 308, 1-21.
- Barak, P., Helmke, P.A., 1993. The chemistry of zinc. In : Zinc in Soils and Plants, Developments in Plants and Soil Sciences. Robson, A., edit., Kluwer Academic Press pub., New-York, 1-13.
- Barman, S.C., Sahu, R.K., Bhargava, S.K., Chatterjee, C., 2000. Distribution of heavy metals in wheat, mustard and weed grown in field irrigated with industrial effluents. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64, 489-496.
- Baroli, M., Cossu, A., Cristini, A., De Falco, G., Gazale, V., Pergent, G., Pergent-Martini, C., 2001. Concentrations of trace metals (Cd, Cu, Fe, Pb) in *Posidonia oceanica* seagrass of Lischia bay, Sardinia (Italy). In : Structure and processes in the Mediterranean Ecosystem. Proceed. Faranda, F.M., Guglielmo, L., Spezie, G. edit., Springer-Verlag pub., Convegno Diversità e cambiamento, Ischia 10-14 novembre 1988.

Barreiro, R., Picado, L., Real, C., 2002. Biomonitoring heavy metals in estuaries : a field comparison of two brown algae species inhabiting upper estuarine reaches. *Environmental Monitoring and Assessment* 75, 121-134.

Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17, 765-776.

Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Narbonne, J.F., Burgeot, T., Michel, X., Bellocq, J., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Marine Environmental Research* 47, 415-439.

Begonia, G.B., Davis, C.D., Begonia, M.F.T., Gray, C.N., 1998. Growth responses of Indian mustard and its phytoextraction of lead from a contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61, 38-43.

Beliaeff, B., O'Connor, T.P., Claisse, D., 1998. Comparison of chemical concentrations in mussels and oysters from the United States and France. *Environmental Monitoring and Assessment* 49, 87-95.

Bellan, G., 1993. Les indicateurs biologiques du milieu marin – Remarques introductives. In : Qualité du milieu marin – Indicateurs biologiques et physico-chimiques. Rencontres scientifiques de la Côte Bleue. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C., edit., GIS Posidonie pub., France, 3, 35-42.

Ben Alaya, H., 1972. Répartition et conditions d'installation de *Posidonia oceanica* Delile et *Cymodocea nodosa* Ascherson dans le golfe de Tunis. *Bulletin de la Station Océanographique de Salammbô* 2(3), 331-416.

Benlahcen, K.T., Chaoui, A., Budzinski, H., Bellocq, J., Garrigues, P., 1997. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in some mediterranean coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin* 34 (5), 298-305.

Bernier, P., Guidi, J.-B., Böttcher, M.E., 1997. Coastal progradation and very early diagenesis of ultramafic sands as a result of rubble discharge from asbestos excavations (northern Corsica, western Mediterranean). *Marine Geology* 144, 163-175.

Bhuiya, M.R.H., Cornfield, A.H., 1972. Effects of addition of 1000 ppm Cu, Ni, Pb and Zn on carbon dioxide release during incubation of soil alone and after treatment with straw. *Environmental Pollution* 3, 173-177.

Bianchini, A., Playle, R.C., Wood, C.M., Walsh, P.J., 2005. Mechanism of acute silver toxicity in marine invertebrates. *Aquatic Toxicology* 72, 67-82.

Bielmyer, G.K., Brix, K.V., Capo, T.R., Grosell, M., 2005. The effects of metals on embryonal and adult life stages of the sea urchin, *Diadema antillarum*. *Aquatic Toxicology* 74, 254-263.

Blandin, P., 1986. Bioindicateurs et diagnostic des systems écologiques. *Bulletin d'Ecologie* 17, 211-307.

Body, P.E., Dolan, P.R., Mulcahy, D.E., 1991. Environmental lead : a review. *Critical Reviews in Environmental Control* 20, 299-310.

Boening, D.W., 2002. Ecological effects, transport and fate of mercury : A general review. *Chemosphere* 40, 1335-1351.

- Bond, A.M., Reust, V., Hudson, H.A., Arnup, K.R., Hanna, P.J., Strother, S., 1988. The effects of temperature, salinity and seagrass species on the uptake of lead (II) from seawater by excised leaves. *Marine Chemistry* 24, 253-260.
- Bond, W., 2001. Keystone species – Hunting the snark? *Science* 292, 63-64.
- Boudouresque, C.F., Thommeret, J., Thommeret, Y., 1980. Sur la découverte d'un bioconcrétionnement fossile intercallé dans l'herbier à *Posidonia oceanica* de la baie de Calvi (Corse). Journées d'Etudes sur la Systématique et la Biogéographie en Méditerranée, CIESM publ, 139-142.
- Boudouresque, C.F., Meinesz, A., 1982. Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cahiers du Parc national de Port-Cros* 4, 1-79.
- Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., 1983. L'herbier à *Posidonia oceanica* en Méditerranée : les interactions entre la plante et le sédiment. *Journal de Recherche Océanographique* 8(2-3), 99-122.
- Boudouresque, C.F., 1993. Qualité du milieu marin. In : Qualité du milieu marin – Indicateurs biologiques et physico-chimiques. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C. edit., GIS Posidonie pub., France, 283-289.
- Boudouresque, C.F., 2006. Les herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., edit., RAMOGE pub., France, 10-24.
- Bourcier, M., 1989. Régression des herbiers à *Posidonia oceanica* (L.) Delile, à l'Est de Marseille, sous l'action conjuguée des activités humaines et des modifications climatiques. In : International workshop on *Posidonia oceanica* beds. Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Fresi, E., Gravez, V. edit., GIS Posidonie pub., France, 2, 287-293.
- Brix, H., Lyngby, J.E., Schierup, H.H., 1983. Eelgrass (*Zostera marina* L.) as an indicator organism of trace metals in the Limfjord, Denmark. *Marine Environmental Research* 8, 165-181.
- Brix, H., Lyngby, J.E., 1984. A survey of the metallic composition of *Zostera marina* (L.) in the Limfjord, Denmark. *Archiv für Hydrobiologie* 99, 347-359.
- Brooks R.R., 1987. *Serpentine and its vegetation*, Discorides Press, Portland, OR, 1-454.
- Bryan, G.W., 1971. The effect of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* 177, 389-410
- Bryan, G.W., 1984. Pollution due to heavy metals and their compounds. *Marine Ecology* 5, 1290-1431.
- Bundschn, J., Farias, B., Martin, R., Storniolo, A., Bhattacharya, P., Gortes, J., Bonorino, G., Albouy, R., 2004. Groundwater arsenic in the Chaco-Pampean Plain, Argentina : case study from Robles county, Santiago del Estero Province. *Applied Geochemistry* 19, 231-243.
- Burgeot, T., Bocquene, G., Porte, C., Dimeet, J., Santella, R.M., 1996. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean sea. *Marine Ecology Progress Series* 131, 125-141.
- Calabrese, A., Thurberg, F.P., Gould, E., 1977. Effects of cadmium, mercury and silver on marine animals. *Marine Fisheries Review* 39, 5-11.

- Caliceti, M., Argese, E., Sfriso, A., Pavoni, B., 2002. Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon. *Chemosphere* 47, 443-454
- Calmano, W., Ahlf, W., Forstner, U., 1996. Sediment quality assessment : chemical and biological approaches. In : Sediments and toxic Substances. Calmano, W., Forstner, U., edit, Springer pub., Berlin, 1-35.
- Calmet, D., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., 1988. Memorization of nuclear atmospheric tests by rhizomes and scales of the mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile. *Aquatic Botany* 30(4), 279-294.
- Calmet, D., Charmasson, S., Gontier, G., Meinesz, A., Boudouresque, C.F., 1991. Chernobyl radionuclides in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*, 1986-1987. *Journal of Environmental Radioactivity* 13, 157-173.
- Camelo, L.G.L., Miguez, S.R., Marban, L., 1997. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. *The Science of the Total Environment* 204, 245-250.
- Campanella, L., Conti, M.E., Cubadda, F., Sucapane, C., 2001. Trace metals in seagrass, algae and molluscs from an uncontaminated area in the Mediterranean. *Environmental Pollution* 111, 117-126.
- Capiomont, A., Piazzini, L., Pergent, G., 2000. Seasonal variations of total mercury in foliar tissues of *Posidonia oceanica*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 80, 1119-1123.
- Carginale, V., Sorbo, S., Capasso, C., Trinchella, F., Cafiero, G., Basile, A., 2004. Accumulation, localisation, and toxic effects of cadmium in the liverwort *Lunularia cruciata*. *Protoplasma* 223(1), 53-61.
- Carlotti, P., Boudouresque, C.F., Calmet, D., 1992. Mémorisation du cadmium et de radioéléments par les rhizomes et les écailles de *Posidonia oceanica* (Potamogetonaceae). *Travaux Scientifiques du Parc National Régional et de la Réserve Naturelle de Corse* 36, 1-34.
- Carter, R.J., Eriksen, R.S., 1992. Investigation into the use of *Zostera muelleri* (Irmisch ex Aschers) as a sentinel accumulator for copper. *The Science of the Total Environment* 125, 185-192.
- Castro, L., Carmo, C., Peres, I., Pihan, J.C., 1996. The clam *Ruditapes decussatus* L., as a pollution bioindicator : zinc and lead accumulation and depuration. *Ecologie* 27 (4), 263-268.
- Castro, H., Aguilera, P.A., Martinez, J.L., Carrique, E.L., 1999. Differentiation of clams from fishing areas an approximation to coastal quality assessment. *Environmental Monitoring and Assessment* 54, 229-237.
- Catsiki, V.A., Florou, H., 1984. Bioaccumulation des métaux Cr, Cd, Ni, et Cu dans le golfe de Gera, Ile de Lesbos, Mer Egée, Grèce (Note préliminaire). *Journées Etudes Pollutions, Lucerne, C.I.E.S.M.*, 317-320.
- Catsiki, V.A., Bei, F., 1992. Determination of trace metals in benthic organisms from an unpolluted area : Cyclades Islands (Aegean Sea). *Fresenius Environment Bulletin* 1, 60-65.
- Catsiki, V.A., Panayotidis, P., 1993. Copper, chromium and nickel in tissues of the mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* (Potamogetonaceae) from Greek coastal areas. *Chemosphere* 26, 963-978.

Catsiki, V.A., Katsilieri, Ch., Gialamas, V., 1994. Chromium distribution in benthic species from a gulf receiving tannery wastes (Gulf of Geras - Lesbos island, Greece). *The Science of the Total Environment* 145, 173-185.

Caye, G., 1980. *Sur la morphogénèse et le cycle végétatif de Posidonia oceanica (L.) Delile*. Thèse Doct., Univ. Aix-Marseille II, France, 1-121.

Caye, G., Meinesz, A., 1984. Observations sur la floraison et la fructification de *Posidonia oceanica* dans la baie de Villefranche et en Corse du Sud. In : International Workshop on *Posidonia oceanica* beds. Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., Olivier, J. edit., GIS Posidonie pub., France, 1, 193-201.

CEDRE, 2004. La lettre du Cedre – février 2004. N°104, 1-2.

Celebi, B., Cemal Gucu, A., Ok, M., Sakinan, S., Akoglu, E., 2006. Hydrographic indications to understand the absence of *Posidonia oceanica* in the Levant sea (Eastern Mediterranean). *Biologia Marina Mediterranea* 13 (4), 34-38.

Chaney, R.L., Ryan, J.A., Li, Y.-M., Brown, S.L., 1999. Soil cadmium as a threat to human health. In : Developments in Plant and Soil Sciences. McLaughlin, M.J., Singh, B.R., edit., Kluwer Academic pub., Dordrecht, The Netherlands, 219–256.

Chang, C., Sibley, T.H., 1993. Accumulation and transfer of copper by *Oocystis pusilla*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 50, 689–695.

Chiffolleau, J.-F., 1994. Le chrome en milieu marin. *Rapports scientifiques de l'Ifremer* 8, 1-43.

Chiffolleau, J.-F., Claisse, D., Cossa, D., Ficht, A., Gonzalez, J.-L., Guyot, T., Michel, P., Miramand, P., Oger, C., Petit, F., 2001. La contamination métallique. Programme scientifique Seine-Aval, IFREMER edit., 8, 1-39.

Chiffolleau, J.F., Auger, D., Roux, N., Rozuel, E., Santini, A., 2005. Distribution of silver in mussels and oysters along the French coasts : Data from the national monitoring program. *Marine Pollution Bulletin* 50, 1719-1723.

Cinelli, F., Pardi, G., Papi, I., 1995. Plant biology. In : *La Posidonia oceanica*. Cinelli, F., Fresi, E., Lorenzi, C., Mucedola, A. edit.. Revista Marittima pub., Italie, 17-27.

Claisse, D., Cossa, D., Breteau-Sanjuan, J., Touchard, G., Bombled, B., 2001. Methylmercury in molluscs along the french coast. *Marine Pollution Bulletin* 42 (4), 329-332.

Clarkson, T.W., 1998. Human toxicology of mercury. *The Journal of trace elements in experimental medicine* 11, 303-317.

Clemens, S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212, 475-486.

Cobbett, C.S., 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology* 123, 825-832.

Coelho, J.P., Pereira, M.E., Duarte, A., Pardal, M.A., 2005. Macroalgae response to a mercury contamination gradient in a temperate coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 65, 492-500.

Conde Poyales, F., 1989. Ficogeografía del mar de Alborán en el contexto del Mediterráneo occidental. *Anales del Jardín Botánica de Madrid* 46(1), 21-26.

- Cornfield, A.M., 1977. Effects of addition of 12 metals on carbon dioxide release during incubation of an acid sandy soil. *Geoderma* 19, 199–203.
- Commission OSPAR (Page consultée le 29 avril 2007). Liste OSPAR de produits chimiques devant faire l'objet de mesures prioritaires [En ligne]. URL : <http://www.ospar.org/fr/html/welcome.html> (mise à jour effectuée en 2006).
- Cossa, D., Lassus, P., 1989. Le cadmium en milieu marin – Biogéochimie et Ecotoxicologie. *Rapports Scientifiques et techniques de l'Ifremer* 16, 1-111.
- Cossa, D., Thibaud, Y., Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., 1990. Le Mercure en Milieu Marin : Biogéochimie et Ecotoxicologie. *Rapports Scientifiques Techniques IFREMER* 19, 1-130.
- Cossa, D., Elbaz-Poulichet, F., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., 1993. Le plomb en milieu marin – Biogéochimie et Ecotoxicologie. *Rapports scientifiques IFREMER* 3, 1-76.
- Cossa, D., Martin, J.M., Takayanagi, K., Sanjuan, J., 1997. The distribution and cycling of mercury species in the Western Mediterranean. *Deep-Sea Research* 44, 721-740.
- Cossa, D., Ficht, A., 1999. La dynamique du mercure. Programme scientifique Seine-Aval. Editions IFREMER 11, 1-25.
- Costantini, S., Giordano, R., Ciaralli, L., Beccaloni, E., 1991. Mercury, cadmium and lead evaluation in *Posidonia oceanica* and *Codium tomentosum*. *Marine Pollution Bulletin* 22, 362-363.
- Crouzet, A., 1981. Mise en évidence de variations cycliques dans les écailles de *Posidonia oceanica* (Potamogetonaceae). *Travaux Scientifiques du Parc National de Port-Cros* 7, 129-135.
- Crouzet, A., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Pergent, G., 1983. Evidence of the annual character of cyclic changes of *Posidonia oceanica* scale thickness (erect rhizomes). *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée* 28(3), 113-114.
- Crouzet, A., 1984. Contribution à l'étude anatomique des feuilles de *Posidonia oceanica* (Potamogetonaceae) - Variations de la structure le long d'une écaille épaisse. In : International Workshop on *Posidonia oceanica* beds, Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., Olivier, J., edit., GIS Posidonie pub., France, 1, 109-117.
- Davison, W., Zhang, H., 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367, 546-548.
- De Kock, W.C., Kramer, K.J.M., 1994. Active biomonitoring (ABM) by translocation of bivalve molluscs. In : Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries. Kramer, K.J.M., edit., CRC Press Inc. Boca Raton pub., 51-84.
- De Luca, G., Furesi, A., Leardi, R., Micera, G., Panzanelli, A., Piu, P.C., Sanna, G., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the Porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Chemistry* 86, 15-32.
- De Marco, S.G., Botté, S.E., Marcovecchio, J.E., 2006. Mercury distribution in abiotic and biological compartments within several estuarine systems from Argentina : 1980-2005 period. *Chemosphere* 65, 213-223.
- De Vos, C.H.R., Schat, H., De Waal, M.A.M., Vooijs, R., Ernst, W.H.O., 1991. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Plant Physiology* 82, 523–528.

- Demirezen, D., Aksoy, A., 2006. Common hydrophytes as bioindicators of iron and manganese pollutions. *Ecological Indicators* 6, 388-393.
- Drifmeyer, J.E., Thayer, G.W., Cross, F.A., Ziemann, J.C., 1980. Cycling of Mn, Cu and Zn by eelgrass *Zostera marina*. *American Journal of Botany* 67, 1089-1096.
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities* 43, 1-72.
- EC, 2001. Decision N° 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council, of 20 November 2001, establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC. *Official Journal of the European Communities* L 331.
- Ederli, L., Reale, L., Ferranti, F., Pasqualini, S., 2004. Responses induced by high concentration of cadmium in *Phragmites australis* roots. *Physiologia Plantarum* 121 (1), 66-74.
- Elbetieha, A., Al-Hamood, M.H., 1997. Long-term exposure of male and female mice to trivalent and Cr (VI) compounds : effect on fertility. *Toxicology* 116, 19-47.
- Elisabetta, M., Gioacchino, S., 2004. Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricorutum*. *Plant Science* 167, 289-296.
- Elkalay, K., Frangoulis, C., Skliris, N., Goffart, A., Gobert, S., Lepoint, G., Hecq, J.H., 2003. A model of seasonal dynamics of biomass and production of the seagrass *Posidonia oceanica* in the Bay of Calvi (Northwestern Mediterranean). *Ecological Modelling* 167, 1-18.
- Erk, M., Ruus, A., Ingebrigtsen, K., Hylland, K., 2005. Cadmium accumulation and Cd-binding proteins in marine invertebrates – A radiotracer study. *Chemosphere* 61, 1651-1664.
- Escartin, E., Porte, C., 1999. Assessment of PAH pollution in coastal areas from the NW Mediterranean through the analysis of fish bile. *Marine Pollution Bulletin* 38, 1200-1206.
- Fabris, G.J., Harris, J.E., Smith, J.D., 1982. Uptake of cadmium by the seagrass *Heterozostera tasmanica* from Corio Bay and Western Port Victoria. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 33, 829-836.
- Favero, N., Cattalini, F., Bertaggia, D., Albergoni, V., 1996. Metal accumulation in a biological indicator (*Ulva rigida*) from the lagoon of Venice (Italy). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31, 9-18.
- Ferguson, J.F., Gavis, J., 1972. A review of the arsenic cycle in natural waters. *Water Research* 6, 1259-1274.
- Fernandes, F.S., Henriques, 1991. Biochemical, physiological and structural effect of excess copper in plants. *The Botanical Review* 57, 246-273.
- Ferrara, R., Maserti, E., Paterno, P., 1989. Mercury distribution in maritime sediments and its correlation with the *Posidonia oceanica* prairie in a coastal area affected by a chlor-alkali complex. *Toxicological and Environmental Chemistry* 22, 131-134.
- Ferrat, L., Bingert, A., Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., Pergent-Martini, C., 2002. Mercury uptake and enzymatic response of *Posidonia oceanica* after an experimental exposure to organic and inorganic forms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(11), 2365-2371.

Ferrat, L., Gnassia-Barelli, M., Pergent-Martini, C., Roméo, M., 2003a. Mercury and non-protein thiol compounds in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 134, 147-155.

Ferrat, L., Pergent-Martini, C., Roméo, M., 2003b. Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality : application to seagrasses. *Aquatic Toxicology* 65, 187-204.

Fisher, N.S., Teyssié, J.-L., Fowler, S.W., Wang, W.-X., 1996. Accumulation and retention of metals in mussels from food and water : a comparison under field and laboratory conditions. *Environmental Science and Technology* 30, 3232-3242.

Fisher, N.S., Hook, S.E., 1997. Silver accumulation and toxicity in marine and freshwater zooplankton. In : *Argentum : Proceedings of the 5th International Conference on the Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment*. Andren, A.W., Bober, T.W., edit., University of Wisconsin, Sea Grant pub., 265-274.

Fitzgerald, W.F., Clarkson, T.W., 1991. Mercury and monomethylmercury : present and future concerns. *Environmental Health Perspectives* 96, 159-166.

Flammang, P., Warnau, M., Temara, A., Lane, D.J.W., Jangoux, M., 1997. Heavy metals in *Diadema setosum* (Echinodermata Echinoidea) from Singapore coral reefs. *Journal of Sea Research* 38, 35-45.

Fourqurean, J.W., Moore, T.O., Fry, B., Hollibaugh, J.T., 1997. Spatial and temporal variation in C:N:P ratios, delta N-15 and delta C-13 of eelgrass *Zostera marina* as indicators of ecosystem processes, Tomales Bay, California, USA. *Marine Ecology Progress Series* 157, 147-157.

Franke, C., Studinger, G., Berger, G., Bohling, S., Bruckmann, U., Cohors-Fresenborg, D., Johncke, U., 1994. The assessment of bioaccumulation. *Chemosphere* 29, 1501-1994.

Freitas, H., Prasad, M.N.V., Pratas, J., 2004. Analysis of serpentinophytes from north-east of Portugal for trace metal accumulation – relevance to the management of mine environment. *Chemosphere* 54, 1625-1642.

Frodello, J.P., Roméo, M., Viale, D., 2000. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution* 108, 447-452.

Fujiki, M., Tajima, S., 1992. The pollution of Minamata Bay by mercury. *Water Science and Technology* 25, 133-140.

Funes, V., Alhama, J., Navas, J.I., López-Barea, J., Peinado, J., 2006. Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution* 139, 214-223.

Gaetke, L. M., Chow, C. K., 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 189, 147-163.

Gambi, M.C., Guidetti, P., 1998. Morphological observations on seedlings of *Posidonia oceanica* (L.) Delile germinated *in situ*. *Biologia Marina Mediterranea* 5 (1), 549-552.

Gamulin-Brida, H., Pozar, A., Simunovic, A., Span, A., 1973. Les conséquences biologiques de la pollution des eaux marines sur les biocénoses benthiques. Groupement des biocénoses benthiques de la mer Adriatique du point de vue pureté des eaux. *Collaboration Internationale Océanographique en Méditerranée* 5, 137-159.

- Gamulin-Brida, H., 1974. Biocénoses benthiques de la mer Adriatique. *Acta Adriatica* 15(9), 1-102.
- GESAMP, 1997. Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture. *GESAMP Report and Studies* 65, 1-40.
- Giraud, G., 1977a. *Contribution à la description et à la phénologie quantitative des herbiers à Posidonia oceanica (L.) Delile*. Thèse Doct., Univ. Aix-Marseille II, France, 1-150.
- Giraud, G., 1977b. Recensement des floraisons de *Posidonia oceanica* (Linné) Delile en Méditerranée. *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée* 24(4), 126-130.
- Giraud, G., 1979. Sur une méthode de mesure et de comptage des structures foliaires de *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile. *Bulletin du Museum d'Histoires naturelles de Marseille* 39, 33-39.
- Girotti, S., Bolelli, L., Fini, F., Monari, M., Andreani, G., Isani, G., Carpené, E., 2006. Trace metals in arcid clam *Scapharca inaequalis* : Effects of molluscan extracts on bioluminescent bacteria. *Chemosphere* 65, 627-633.
- Giusti, L., 2001. Heavy metal contamination of brown seaweed and sediments from the UK coastline between the Wear river and the Tees river. *Environmental International* 26, 275-286.
- Glémarec, M., Hily, C., Hussenot, E., Le Gall, C., Le Moal, Y., 1980. Recherches sur les indicateurs biologiques en milieu sédimentaire marin. *In* : *Ecologie appliquée – Indicateurs biologiques et techniques d'études*. Journées d'étude de l'association française des ingénieurs écologues, Grenoble, 13-14 Nov 1980, 118-140.
- Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., Delepine, R., Puel, D., 1991. Trace metal concentrations in benthic algae from French mediterranean and atlantic coasts. *In* : *Marine phyto-benthos studies and their applications*. International Journal of Marine Biology and Oceanography, Istituto Sperimentale Talassografico "A. Ceruti" pub., 17, 245-251.
- Gnassia-Barelli, M., Lemee, R., Pesando, D., Roméo, M., 1995. Heavy metal distribution in *Caulerpa taxifolia* from the North-Western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 30, 749-755.
- Gobert, S., Lejeune, P., Lepoint, G., Bouquegneau, J.M., 2005. C, N, P concentrations and requirements of flowering *Posidonia oceanica* shoots. *Hydrobiologia* 533, 253-259.
- Goldberg, E.D., 1975. The Mussel Watch : A first step in global marine pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 1-111.
- Goldberg, E.D., Bowen, V.T., Farrington, J.W., Harvey, G., Martin, J.H., Parker, P.L., Risebrough, R.W., Robertson, W., Schneider, E., Gamble, E., 1978. The mussel watch. *Environmental conservation* 5 (2), 101-125.
- Goldberg, E.D., Koide, M., Hodge, V., Flegal, A.R., Martin, J.H., 1983. US Mussel Watch : 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 16, 69-93.
- Goldberg, E.D., 1986. The Mussel watch concept. *Environmental Monitoring and Assessment* 7, 91-103.
- Goldberg, E.D., Bertine, K.K., 2000. Beyond the Mussel Watch – new directions for monitoring marine pollution. *The Science of the Total Environment* 247, 165-174.

- Gong, J.-M., Lee, D.A., Schroeder, J.I., 2003. Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (17), 10118-10123.
- Goyal, N., Jain, S.C., Banerjee, U.C., 2003. Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. *Advances in Environmental Research* 7, 311-319.
- Goyer, R. A., Clarkson, T. W., 2001. Toxic effects of metals. In : Casarett and Doull's Toxicology : The basic science of poisons. Klaasen, C.D., edit., and Mc Graw-Hill. Medical Division, pub., New York, 811-867.
- Grauby, A., Augier, H., Lion, R., Charlent, O., 1991. Neutron activation analysis of elemental composition in a marine phanerogam, *Posidonia oceanica* (L.) Delile : A biological indicator of pollution. *Environmental and Experimental Botany* 31, 255-265.
- Greenwood, MR., 1985. Methylmercury poisoning in Iraq - an epidemiological study of the 1971-1972 outbreak. *Journal of Applied Toxicology* 5, 148-59.
- Grill, E., Winnacker, E.-L., Zenk, M.H., 1985. Phytochelatins : the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230, 674-676.
- Guhathakurta, H., Kaviraj, A., 2000. Heavy metal concentration in water, sediment, shrimp (*Penaeus monodon*) and mullet (*Liza Parsia*) in some brackish water ponds of Sunderban, India. *Marine Pollution Bulletin* 40 (11), 914-920.
- Gümüş, B., Ünlü , E., Tez, Z., Gülsün, Z., 1994. Heavy metal pollution in water, sediment and fish from the Tigris River in Turkey. *Chemosphere* 29 (1), 111-116.
- Gupta, M., Chandra, P., 1998. Bioaccumulation and toxicity of mercury in rooted-submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Environmental Pollution* 103, 327-332.
- Güven, K., Özbay, C., Ünlü , E., Satar, A., 1999. Acute lethal toxicity and accumulation of copper in *Gammarus pulex* (L.) (Amphipoda). *Turkish Journal of Biology* 23, 510-521.
- Hakanson, L., Nilson, A., Andersson, T., 1988. Mercury in fish in Swedish Lakes. *Environmental Pollution* 49, 145-162.
- Harris, J.E., Fabris, G.J., Statham, P.J., Tawfik, F., 1979. Biogeochemistry of selected heavy metals in western port, Victoria, and use of invertebrates as indicators with emphasis on *Mytilus edulis planulatus*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 30, 159-178.
- Hartog, C. den, 1970. The sea-grasses of the world. *Verh. Kon. Ned. Akad. Wetens. Afd. Naturk. Ser. 2* (59), 1-275.
- Hashmia, M. I., Mustafa, S., Tariq, S. A., 2002. Heavy metal concentrations in water and tiger prawn (*Penaeus monodon*) from grow-out farms in Sabah, North Borneo. *Food Chemistry* 79, 151-156.
- Hem, J. D., 1972. Chemistry and occurrence of cadmium and zinc in surface water and groundwater. *Water Resources Research* 8, 661-679.
- Hemalatha, S., Platel, K., Srinivasan, K., 2006. Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India. *Food Chemistry* 102, 1328-1336.
- Hintelmann, H., Wilken, R.-D., 1995. Levels of total mercury and methylmercury compounds in sediments of the polluted Elbe River : influence of seasonally and spatially varying environmental factors. *The Science of the Total Environment* 166, 1-10.

Holleman, A.F., Wiberg, E., 1985. Lehrbuch der Anorganischen Chemie. Berlin-New York 568-570.

Hollinger, M.A., 1996. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Critical Reviews in Toxicology* 26, 255-260.

Honda, K., Tatsukawa, R., Itano, K., Miyazaki, N., Fujiyama, T., 1983. Heavy metals concentration in muscle, liver and kidney tissue of striped dolphin *Stenella coeruleoalba* and their variation with body length, weight, age and sex. *Agricultural and Biological Chemistry* 47 (6), 1219-1228.

Hsu, P. C., Guo, Y. L., 2002. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 180, 33-44.

IARC, 2004. Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, Including Arsenic : IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 84. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IFEN, 2000. La pression de la construction ne se relâche pas sur le littoral métropolitain, Les données de l'environnement 55, France.

Ikem, A., Egiebor, N.O., 2005. Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition and Analysis* 18, 771-787.

INERIS, 2003. Plomb et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-90.

INERIS, 2005a. Cadmium et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-60.

INERIS, 2005b. Chrome et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-80.

INERIS, 2005c. Cuivre et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-66.

INERIS, 2005d. Zinc et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-69.

INERIS, 2006a. Arsenic et ses dérivés organiques. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-78.

INERIS, 2006b. Cobalt et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-55.

INERIS, 2006c. Mercure et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-85.

INERIS, 2006d. Nickel et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS*, 1-71.

INSEE, 1999. La diversité industrielle des territoires, INSEE Première 650, France.

Islam, Md. S., Tanaka, M., 2004. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management : a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin* 48, 624-649.

Israr, M., Sahi, S., Datta, R., Sarkar, D., 2006. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Sesbania drummondii*. *Chemosphere* 65, 591-598.

Jefferies, D. J., Freestone, P., 1984. Chemical analysis of some coarse fish from a Suffolk River carried out as part of the preparation for the first release of captive-bred otters. *The Journal of the Otter Trust* 1(8), 17-22.

Jin, T. Y., Lu, J., Nordberg, M., 1998. Toxicokinetics and biochemistry of cadmium with special emphasis on the role of metallothionein. *Neurotoxicology* 19, 529-535.

Johnson, F.M., 1998. The genetic effects of environmental lead. *Mutation Research* 410, 123-140.

Juma, N.G., Tabatabai, M.A., 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Science Society of America Journal* 41, 343-346.

Jurado, J.M., Martín, M.J., Pablos, F., Moreda-Piñeiro, A., Bermejo-Barrera, P., 2007. Direct determination of copper, lead and cadmium in aniseed spirits by lectrothermal atomic absorption spectrometry. *Food chemistry* 101, 1296-1304.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 1984. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-315.

Kabata-Pendias, A., 2000. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-413.

Kaim, W., Schwederski, B., 1994. Bioinorganic Chemistry : Inorganic Elements in the Chemistry of Life. John Wiley and Sons, Chichester, 1-401.

Kantin, R., Pergent, G., 2007. Rapport final Groupement de Recherches « Gestion des écosystèmes littoraux méditerranéens ». IFREMER, Université de Corse, STARESO, GIS Posidonie, 1-189.

Karez, C.S., Magalhaes, V.F., Pfeiffer, W.C., 1994. Trace metal accumulation by algae in Sepetiba Bay, Brazil. *Environmental Pollution* 83, 351-356.

Kargin, F., Dönmez, A., Çoğun, H. Y., 2001. Distribution of heavy metals in different tissues of the shrimp *Penaeus semiculatus* and *Metapenaeus monocerus* from the Iskenderun Gulf, Turkey : seasonal variations. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology* 66, 102-109.

Katz, S.A., Salem, H., 1994. The biological and environmental chemistry of chromium. VCH pub., New York, 65-119.

Kim, M., 2004. Determination of lead and cadmium in wines by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Additives and Contaminants* 21, 154-157.

Kinjo, Y, Akiba, S, Yamaguchi, N, Mizuno, S, Watanabe, S, Wakamiya J, Futatsuka, M., Kato, H., 1996. Cancer mortality in Minamata disease patients exposed to methylmercury through fish diet. *Journal of Epidemiology and Community Health* 6,134-138.

Kjellström, T., 1986. Itai-itai disease. In : Cadmium and Health : A Toxicological and Epidemiological Appraisal. Friberg, L., Elinder, C.G., Kjellström, T., Nordberg, G.F., edit., CRC Press, Boca Raton pub., Florida, 257-290.

Klumpp, A., Domingos, M., Klumpp, G., 1996. Assessment of the vegetation risk by fluoride emissions from fertilizer industries at Cubatão, Brazil. *The Science of the Total Environment* 192, 219-228.

- Kowalski, Z., 2002. Technologie zwiazkow chromu. Krakow edit., Poland : Cracow. University of Technology.
- Kowalski, Z., Kulczycka, J., Wzorek, Z., 2007. Life cycle assessment of different variants of sodium chromate production in Poland. *Journal of Cleaner Production* 15, 28-37.
- Krishna Murti, C. R., Olade, M. A., Page, A. L., 1987. Group Report : Cadmium. In : Lead, cadmium, mercury and arsenic in the environment. Hutchinson, T.C., Meema, K.A., edit, John Wiley and Sons Ltd pub., 35-41.
- Krishnamurti, G.S.R., McArthur, D.F.E., Wang, M.K., Kozak, L.M., Huang, P.M., 2005. Biogeochemistry of soil cadmium and the impact on terrestrial food chain contamination. In : Biogeochemistry of Trace Elements in the Rhizosphere. Huang, P.M., Gobran, G., edit., Elsevier, pub., Amsterdam, 197-257.
- Kruckeberg, A.R., 1984. California serpentinites : flora, vegetation, geology, soils and management problems, University of California Press, Berkeley, 1-180.
- Kruckeberg, A.R., Adigzel, N., Reeves, R.D., 1999. Glimpses of the flora and ecology of Turkish (Anatolian) serpentinites. *Karaca Arboretum Magazine* 5, 67-86.
- Kucuksezgin, F., Kontas, A., Altay, O., Uluturhan, E., Darilmaz, E., 2006. Assessment of marine pollution in Izmir Bay : Nutrient, heavy metal and total hydrocarbon concentrations. *Environment International* 32, 41-51.
- Kuo, J., Hartog, C. den, 2001. Seagrass taxonomy and identification key. In : Global seagrass research methods. Short, Coles, Short edit., Elsevier, pub., Amsterdam, 31-58.
- Lafabrie, C., Pergent-Martini, C., Pergent, G., in press. Metal contamination of *Posidonia oceanica* meadows along the Corsican coastline (Mediterranean). *Environmental Pollution*.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F., 1998. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lavoisier pub. 1-320.
- Lane, T.W., Saito, M.A., George, G.N., Pickering, I.J., Prince, R.C., Morel, F.M.M., 2005. A cadmium enzyme for a marine diatom. *Nature* 435, 42.
- Langer, U., Gunther, T., 2001. Effects of alkaline dust deposits from phosphate fertilizer production on microbial biomass and enzyme activities in grass-land soil. *Environmental Pollution* 112, 321-327.
- Langston, WJ, Spence, SK., 1995. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In : Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Tessier, A., Turner, D.R., edit., John Wiley and Sons pub., New York, 407-478.
- Larner, B.L., Seen, A.J., Snape, I., 2006. Evaluation of diffusive gradients in thin film (DGT) samplers for measuring contaminants in the Antarctic marine environment. *Chemosphere* 65, 811-820.
- Lau, S., Mohamed, M., Tan Chi Yen, A., Suut, S., 1998. Accumulation of heavy metals in freshwater molluscs. *The Science of the Total Environment* 214, 113-121.
- Lauenstein, G.G., Robertson, A., O'Connor, T.P., 1990. Comparison of trace metal data in mussels and oysters from a Mussel Watch programme of the 1970s with those from a 1980s programme. *Marine Pollution Bulletin* 21, 440-447.
- Lawton, J.H., 1994. What do species do in ecosystems ? *Oikos* 71, 367-374.

- Leal, M.C.F., Vasconcelos, M.T., Sousa-Pinto, I., Cabral, J.P.S., 1997. Biomonitoring with benthic macroalgae and direct assay of heavy metals in seawater of the Oporto coast (Northwest Portugal). *Marine Pollution Bulletin* 34, 1006-1015.
- Lee, B.D., Graham, R.C., Laurent, T.E., Amrhein, C., 2004. Pedogenesis in a wetland meadow and surrounding serpentinitic landslide terrain, northern California, USA. *Geoderma* 118, 303-320.
- Lee, Y. H., Stuebing, R. B., 1990. Heavy metal contamination in the River Toad, *Bufo juxtasper* (Inger), near a copper mine in East Malaysia. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology* 45, 272–279.
- Lehoczky, E., Szabo, L., Horvath, S., Marth, P., Szabados, I., 1998. Cadmium uptake by lettuce in different soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29, 1903–1912.
- Leopold, I., Günther, D., Schmidt, J., Neumann, D., 1999. Phytochelatins and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 50, 1323-1328.
- Liang, C.N., Tabatabai, M.A., 1978. Effects of trace elements on nitrification in soils. *Journal of Environmental Quality* 7, 291-293.
- Lindqvist O. and Rhode H. 1985. Atmospheric mercury – a review. *Tellus* 37B, 136-159.
- Lindqvist, O., 1991. Mercury in the Swedish environment : recent research on causes, consequences, and corrective methods. *Water, Air and Soil Pollution* 55, 1–261.
- Lobel, P.B., Wright, D.A., 1982. Total body zinc concentration and allometric growth ratios in *Mytilus edulis* collected from different shore levels. *Marine Biology* 66, 231-236.
- Lobel, P.B., Bajdik, C.D., Belkhole, S.P., Jackson, S.E., Longerich, H.P., 1991. Improved protocol for collecting mussel watch specimens taking into account sex, size, condition, shell shape and chronological age. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21, 409-414.
- Lock, K., Van Eeckhout, H., De Schamphelaere, K.A.C., Criel, P., Janssen, C.R., 2007. Development of a biotic ligand model (BLM) predicting nickel toxicity to barley (*Hordeum vulgare*). *Chemosphere* 66, 1346-1352.
- Loeffler, S., Hochberger, A., Grill, E., Winnacker, E.-L., Zenk, M.H., 1989. Termination of the phytochelatin synthase reaction through sequestration of heavy metals by the reaction product. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 258, 42-46.
- Lovett Doust, J., Schmidt, M., Lovett Doust, L., 1994. Biological assessment of aquatic pollution : a review, with emphasis on plants as biomonitors. *Biological Reviews* 69, 147–86.
- Lyngby, J.E., Brix, H., 1982. Seasonal and environmental variation in cadmium, copper, lead and zinc concentrations in eelgrass (*Zostera marina* L.) in the Limfjord, Denmark. *Aquatic Botany* 14, 59-74.
- Lyngby, J.E., Brix, H., 1989. Heavy metals in eelgrass (*Zostera marina* L.) during growth and decomposition. *Hydrobiologia* 176-177, 189-196.
- Madhal, B.K., Suzuki, K.T., 2002. Arsenic round the world : a review. *Talanta* 58, 204-235.
- Mahara, Y., Kubota, T., Wakayama, R., 2006. Affects of molecular size of natural organic matters for cadmium mobility in soil environments. *Goldschmidt Conference Abstracts*, A 383.

- Maity, S., Chakravarty, S., Bhattacharjee, S., Roy, B.C., 2005. A study on arsenic adsorption on polymetallic sea nodule in aqueous medium. *Water Research* 39, 2579-2590.
- Majori, L., Petronio, F., 1973. Marine pollution by metals and their accumulation by biological indicators (accumulation factor). *Revue Internationale d'Océanographie en Méditerranée* 31-32, 55-88.
- Malea, P., Haritonidis, S., 1989a. Uptake of Cu, Cd, Zn and Pb in *Posidonia oceanica* (Linnaeus) from Antikyra Gulf, Greece : Preliminary note. *Marine Environmental Research* 28, 495-498.
- Malea, P., Haritodinis, S., 1989b. Concentration of aluminium in *Halophila stipulacea* (Forsk.) Aschers. And the substrate of the Antikyra Gulf Greece. *Toxicological and Environmental Chemistry* 20-21, 241-248.
- Malea, P., 1993. Bioaccumulation of aluminium in the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers and *Posidonia oceanica* (L) Delile and in macroalgae of the gulf of Antikyra (Greece). *Botanica marina* 36(5), 423-431.
- Malea, P., 1994a. Seasonal variation and local distribution of metals in the seagrass *Halophila stipulacea* (Forsk) Aschers in the Antikyra gulf, Greece. *Environmental pollution* 85(1), 77-85.
- Malea, P., 1994b. Uptake of cadmium and the effect on viability of leaf cells in the seagrass *Halophila stipulacea* (Forsk) Aschers. *Botanica Marina* 37(1), 67-73.
- Malea, P., Haritonidis, S., Kevrekidis, T., 1994. Seasonal and local variations of metal concentrations in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Antikyra Gulf, Greece. *The Science of the Total Environment* 153, 225-235.
- Malea, P., Haritodinis, S., 1995. Local distribution and seasonal variation of Fe, Ph, Zn, Cu, Cd, Na, K, Ca and Mg concentrations in the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers in the Antikyra Gulf, Greece. *Marine Ecology PSZNI* 16, 41-56.
- Malea, P., Haritodinis, S., 1996. Toxicity and uptake of aluminium by the seagrass *Halophila stipulacea* (Forsk) Aschers, in response to aluminium exposure. *Fresenius Environmental Bulletin* 5(5-6), 345-350.
- Manfra, L., Accornero, A., 2005. Trace metal concentrations in coastal marine waters of the central Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 50, 686-692.
- Marcovecchio, J.E., Moreno, V.J., Bastida, R.O., Gerpe, M.S., Rodríguez, D.H., 1990. Tissue distribution of heavy metals in small cetaceans from the Southwestern Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 21(6), 299-304.
- Marcovecchio, J.E., Gerpe, M.S., Bastida, R.O., Rodriguez, D.H., Morón, S.G., 1994. Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina : an overview. *The Science of the Total Environment* 154, 141-151.
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Cambridge, 1-674.
- Martin, M., Stephenson, M.D., Smith, D.R., Gutierrez-Galindo, E.A., Munoz, G.F., 1988. Use of silver as a tracer of domestic wastewater discharge. *Marine Pollution Bulletin* 19, 512-520.
- Maserti, B.E., Ferrara, R., Paterno, P., 1988. *Posidonia* as an indicator of mercury contamination. *Marine Pollution Bulletin* 19, 381-382.

- Maserti, B.E., Ferrara, R., R., 1991. Mercury in plants, soil and atmosphere near a chlor-alkali complex. *Water, Air and Soil Pollution* 56, 15-20.
- Mason, R. P., Fitzgerald, W. F., Morel, F. M., 1994. The biogeochemical cycling of elemental mercury : anthropogenic influences. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58, 3191–3198.
- Mason, R.P., Lawson, N.M., Lawrence, A.L., Leaner, J.L., Lee, J.G., Sheu, G.-R., 1999. Mercury in the Chesapeake Bay. *Marine Chemistry* 65, 77–96.
- Matta, J., Milad, M., Manger, R., Tosteson, T., 1999. Heavy metals, lipid peroxidation, and cigateratoxicity in the liver of the Caribben barracuda (*Sphyræna barracuda*). *Biological Trace Element Research* 70, 69–79.
- Mazzella, L., Gambi, M.C., Russo, G.F., Wittman, J.K., 1983. Flowering in *Posidonia oceanica* (L.) Delile prairies around the Island of Ischia (Gulf of Naples). *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique en Méditerranée* 28(3), 117-119.
- Mazzella, L., Gambi, M.C., Russo, G.F., Buia, M.C., 1984. Deep flowering and fruiting of *Posidonia oceanica* beds around the Island of Ischia (Gulf of Naples). In : International Workshop on *Posidonia oceanica* beds. Boudouresque, C.F., Jeudy de Grissac, A., Olivier, J. edit., GIS Posidonie pub., France, 1, 203-209.
- Mc Ilveen, W.D., Negusanti, J.J., 1994. Nickel in the terrestrial environment. *The Science of the Total Environment* 148, 109–138.
- Mc Laughlin, M.J., Singh, B.R., 1999. Cadmium in soils and plants. In : Cadmium in Soils and Plants, Developments in Plant and Soil Sciences. McLaughlin, M.J., Singh, B.R., edit., Kluwer Academic pub., Dordrecht, The Netherlands, 1–7.
- Mc Lean, J., Beveridge, T.J., 2001. Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 1076-1084.
- Mc Roy, C.P., Helfferich, C., 1980. Applied aspects of seagrasses. In : Handbook of seagrass biology : an ecosystem perspective. Phillips, R.C., Mc Roy, C.P. edit., Garland STPM Press pub., New York, 297-343.
- Meharg, A.A., Naylor, J., Macnair, M.R., 1994. Phosphorus nutrition of arsenate tolerant and non-tolerant phenotypes of velvetgrass. *Journal of Environmental Quality* 23, 234–8.
- Meinesz, A., Laurent, R., 1978. Cartographie et état de la limite inférieure de l'herbier de *Posidonia oceanica* dans les Alpes-Maritimes. Campagne Poséïdon 1976. *Botanica Marina* 21(8), 513-526.
- Meinesz, A., Molenaar, H., Bellone, E., Loques, F., 1992. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. I. Effects of rhizome length and transplantation season in orthotropic shoots. *Marine Ecology PSZNI* 13(2), 163-174.
- Menendez-Navarro, A., 1996. A world without sun. The health of workers of the Alamaden mine : 1750–1900. *Chronica Nova Collection of Historical Studies* no. 43, University de Castilla-La Mancha, Granada (in Spanish).
- Mével, C., 2003. Serpentinization of abyssal peridotites at mid-ocean ridges. *Comptes Rendus Geoscience* 335, 825-852.
- Michel, P., 1993. L'arsenic en milieu marin – Biogéochimie et Ecotoxicologie. Rapport Ifremer 4, 1-62.

- Michel, P., Averty, B., Andral, B., Chiffolleau, J.-F., Galgani, F., 2001. Tributyltin along the coasts of Corsica (Western Mediterranean) : A persistent problem. *Marine Pollution Bulletin* 42 (11), 1128-1132.
- Miquel, G., 2001. Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, Rapport 261.
- Mirlean, N., Casartelli, R., Domingues, M.R.G., 2002. Groundwater and soil pollution by fluoride in the vicinity of fertilizer factory (Rio Grande, RS). *Química Nova* 25, 191-195.
- Mirlean, N., Roisenberg, A., 2006. The effect of emissions of fertilizer production on the environment contamination by cadmium and arsenic in southern Brazil. *Environmental Pollution* 143, 335-340.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K., 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65, 1027-1039.
- Molfetas S., Blandin P., 1980. Quelques éléments de réflexion sur la notion d'indicateur écologique. In : Journées d'étude de l'association française des ingénieurs écologues, Grenoble, 13-14 novembre 1980, AFIE, Mainvilliers, 167-173.
- Molinier, R., Picard, J., 1952. Recherches sur les herbiers de Phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Annales de l'Institut Océanographique* 27(3), 157-234.
- Monteiro-Neto, C., Vinhas Itavo, R., de Souza Moraes, L.E., 2003. Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea : Delphinidae) off the coast of Ceará, northeast Brazil. *Environmental Pollution* 123, 319-324.
- Morel, F. M. M., Reinfelder, J. R., Roberts, S. B., Chamberlain, C. P., Lee, J. G., Yee, D., 1994. Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton. *Nature* 369, 740-742.
- Morillo, J., Usero, J., Gracia, I., 2005. Biomonitoring of trace metals in a mine-polluted estuarine system (Spain). *Chemosphere* 58, 1421-1430.
- Muñoz-Olivas, R., Cámara, C., 2001. Speciation related to human health. In : Trace element speciation for environment, food and health. Ebdon, L., Pitts, L., Cornelis, R., Crews, H., Donard, O.F.X., Quevauviller, P., edit, The Royal Society of Chemistry, pub., 331-353
- Nakhlé, K.F., Cossa, D., Khalaf, G., Beliaeff, B., 2006. *Brachidontes variabilis* and *Patella* sp. As quantitative biological indicators for cadmium, lead and mercury in the Lebanese coastal waters. *Environmental Pollution* 142, 73-82.
- Nienhuis, P.H., 1986. Background levels of heavy metals in nine tropical seagrass species in Indonesia. *Marine Pollution Bulletin* 17(11), 508-511.
- NRC, 2000. Toxicological Effects of Methylmercury. National Academy Press, Washington, DC, 1-344.
- NRC, 2001. Arsenic in Drinking Water. National Academy Press, Washington, D.C., 1-325.
- Nriagu, J.O., 1980. Part 1 : Ecological cycling. In : Cadmium in the Environment. Nriagu, J.O., edit., Wiley Interscience pub., New York, 2-12.
- Nriagu, J.O., Nieboer, E., 1988. Chromium in the natural and human environment. In: Advances in Environmental Science and Technology. Nriagu, J.O., Nieboer, E., edit., John Wiley & Sons, pub., New York, 1-785.

- O'Connor, T.P., 1996. Trends in chemical concentrations in mussels and oysters collected along the US coasts from 1986 to 1993. *Marine Environmental Research* 41, 183-200.
- O'Driscoll, M., 1999. Chromite supply. A question of ownership. *Industrial Minerals* 3, 51-66.
- Ogawa, T., Kobayashi, E., Okubo, Y., Suwazono, Y., Kido, T., Nogawa, K., 2004. Relationship among prevalence of patients with Itai-itai disease, prevalence of abnormal urinary findings, and cadmium concentrations in rice of individual hamlets in the Jinzu River basin, Toyama prefecture of Japan. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14, 243-252.
- Olivier, F., Ridd, M., Klumpp, D., 2002. The use of transplanted cultured tropical oysters (*Saccostrea commercialis*) to monitor Cd levels in North Queensland coastal waters (Australia). *Marine Pollution Bulletin* 44, 1051-1062.
- Osame, M., Takizawa, Y., 2001. Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan. Takizawa, Y., Osame, M., Japan Public Health Association, Tokyo, Japan, 1-154.
- Ostapczuk, P., Burow, M., May, K., Mohl, C., Froning, M., Sussenbach, B., Waidmann, E., Emons, H., 1997a. Mussels and algae as bioindicators for long-term tendencies of element pollution in marine ecosystems. *Chemosphere* 34 (9-10), 2049-2058.
- Ostapczuk, P., Schladot, J.D., Emons, H., Oxynos, K., Schramm, K.W., Grimmer, G., Jacob, J., 1997b. Environmental monitoring and banking of marine pollutants by using common mussels. *Chemosphere* 34 (9-10), 2143-2151.
- Ott, J.A., 1980. Growth and production in *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Marine Ecology PZSNI* 1(1), 47-64.
- Ouzounidou, G., Eleftheriou, E.P., Karataglis, S., 1992. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). *Canadian Journal of Botany* 70, 947-957.
- Pacyna, E.G., Pacyna, J.M., Fudala, J., Strzelecka-Jastrzab, E., Hlawiczka, S., Panasiuk, D., 2006. Mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe in 2000 and their scenarios until 2020. *The Science of the Total Environment* 370, 147-156.
- Pal, A., Ghosh, S., Paul, A.K., 2006. Biosorption of cobalt by fungi from serpentine soil of Andaman. *Bioresource Technology* 97, 1253-1258.
- Palheta, D, Taylor, A., 1995. Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. *The Science of the Total Environment* 168, 63-69.
- Papp, J.F., 2001. Chromium, 2000 annual review, Mineral Industry Survey. U.S. Department of Interior, U.S. Geological Survey.
- Pasqualini, V., Pergent-Martini, C., Clabaut, P., Pergent, G., 1998. Mapping of *Posidonia oceanica* using aerial photographs and side scan sonar: Application off the island of Corsica (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47, 359-367.
- Pasqualini, V., Pergent, G., Pergent-Martini, C., 1999. Utilisation de l'herbier à *Posidonia oceanica* comme indicateur biologique de la qualité du milieu littoral en Corse. Contrat agence de l'eau et Université de Corse, 1-135.
- Pepper, I., Galanti, N., Sans, J., Lopez-Saez, J.F., 1987. Reversible inhibition of root growth and cell proliferation by pentavalent arsenic in *Allium cepa*. *Environmental and Experimental Botany* 28(1), 9-18.

Pergent, G., Boudouresque, C.F., Crouzet, A., 1983. Variations cycliques dans les écailles des rhizomes orthotropes de *Posidonia oceanica*. *Travaux Scientifiques du Parc National de Port-Cros* 9, 107-148.

Pergent, G., 1985. Floraison des herbiers à *Posidonia oceanica* dans la région d'Izmir (Turquie). *Posidonia Newsletter* 1(1), 15-21.

Pergent, G., Ben Maiz, N., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., 1989a. The flowering of *Posidonia oceanica* over the past fifty years : a lepidochronological study. *In* : International workshop on *Posidonia* beds. Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Fresi, E., Gravez, V. edit., GIS Posidonie pub., France, 2, 69-76.

Pergent, G., Boudouresque, C.F., Crouzet, A., Meinesz, A., 1989b. Cyclic changes along *Posidonia oceanica* rhizomes (lepidochronology) : present state and perspectives. *Marine Ecology PSZNI* 10(3), 221-230.

Pergent, G., 1990a. Lepidochronological analysis of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile : a standardized approach. *Aquatic Botany* 37, 39-54.

Pergent, G., 1990b. Evaluation of *Posidonia oceanica* primary production using lepidochronological analysis : preliminary results. *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique en Méditerranée* 32(1) B17, 6.

Pergent, G., Pergent-Martini, C., 1990. Some applications of lepidochronological analysis in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Botanica Marina* 33, 299-310.

Pergent, G., 1991. Les indicateurs écologiques de la qualité du milieu marin en Méditerranée. *Oceanis* 17(4), 341-350.

Pergent, G., Pergent-Martini, C., 1991. Leaf renewal cycle and primary production of *Posidonia oceanica* in the bay of Lacco Ameno (Ischia, Italy) using lepidochronological analysis. *Aquatic Botany* 42, 49-66.

Pergent, G., Zaouali, J., 1992. Analyse phénologique et lépidochronologique de *Posidonia oceanica* dans une lagune hyperhaline du Sud tunisien. *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique en Méditerranée* 33, 48.

Pergent, G., Pergent-Martini, C., Rico-Raimondino, V., 1992. Evaluation of past primary production of *Posidonia oceanica* using lepidochronological data. *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique en Méditerranée* 33, 47.

Pergent, G., Romero, J., Pergent-Martini, C., Mateo, M.A., Boudouresque, C.F., 1994. Primary Production, Stocks and Fluxes in the Mediterranean Seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine Ecology Progress Series* 106 (1-2), 139-146.

Pergent, G., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C.F., 1995. Utilisation de l'herbier à *Posidonia oceanica* comme indicateur biologique de la qualité du milieu littoral en Méditerranée : état des connaissances. *Mésogée* 54, 3-29.

Pergent, G., Pergent-Martini, C., 1999. Mercury levels and fluxes in *Posidonia oceanica* meadows. *Environmental pollution* 106, 33-37.

Pergent, G., Djellouli, A., Hamza, A.A., Ettayeb, K.S., El Mansouri, A.A., Talha, F.M., Hamza, M.A., Pergent-Martini, C., Platini, F., 2002. Characterization of the benthic vegetation in the Farwà lagoon (Libya). *Journal of Coastal Conservation* 8, 119-126.

Pergent, G., 2006. Le rôle des herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., edit., RAMOGE pub., 25-31.

Pergent, G., Lafabrie, C., Kantin, R., Pergent-Martini, C., submitted (*Aquatic Toxicology*). Temporal evolution of metal concentration in *Posidonia oceanica*.

Pergent-Martini, C., 1994. *Impact d'un rejet d'eaux usées urbaines sur l'herbier à Posidonia oceanica, avant et après la mise en service d'une station d'épuration*. Thèse Doct., Univ. Corse, France, 1-208.

Pergent-Martini, C., Pergent, G., 1994. Lepidochronological analysis in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* : state of the art and future developments. *Oceanologica Acta* 17(6), 673-681.

Pergent-Martini, C., 1998. *Posidonia oceanica* : a biological indicator of past and present mercury contamination in the Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research* 45 (2), 101-111.

Pergent-Martini C., Pergent G., Fernandez C., Ferrat L., 1999. Value and use of *Posidonia oceanica* as a biological indicator. In : Land-ocean interactions : managing coastal ecosystems. Proceed. MEDCOAST 99 - EMECS 99 Joint Conference MEDCOAST, Middle East Technical Univ. pub, Ankara, 1, 73-90.

Pergent-Martini, C., Pergent, G., 2000. Marine phanerogams as a tool in the evaluation of marine trace-metal contamination : an example from the Mediterranean. *International Journal of Environment and Pollution* 13, 1-6.

Pergent-Martini, C., Agreil, M., Ferrat, L., Pasqualini, V., Pergent, G., 2005a. Contrat de Plan Etat-Région / Appel à Proposition 2003 / GILCO Gestion intégrée du littoral de Corse : Contamination du littoral – Etat de l'art. Université de Corse et Ifremer, Avril 2005, EqEL pub., Corte, France, 1-82.

Pergent-Martini, C., Leoni, V., Pasqualini, V., Ardizzone, G.D., Balestri, E., Bedini, R., Belluscio, A., Belsher, T., Borg, J., Boudouresque, C.F., Boumaza, S., Bouquegneau, J.M., Buia, M.C., Calvo, S., Cebrian, J., Charbonnel, E., Cinelli, F., Cossu, A., Di Maida, G., Dural, B., Francour, P., Gobert, S., Lepoint, G., Meinesz, A., Molenaar, H., Mansour, H.M., Panayotidis, P., Peirano, A., Pergent, G., Piazzini, L., Pirrotta, M., Relini, G., Romero, J., Sanchez-Lizaso, J.L., Semroud, R., Shembri, P., Shili, A., Tomasello, A., Velimirov, B., 2005b. Descriptors of *Posidonia oceanica* meadows : Use and application. *Ecological Indicators* 5, 213–230.

Pergent-Martini, C., Coppo, S., Pulcini, M., Cinquelpalmi, F., 2006. Les textes réglementaires qui s'appliquent aux herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., edit., Ramoge pub., France, 48-60.

Pergent-Martini, C., Lafabrie, C., Lopez y Royo, C., Pergent, G., submitted (*Environmental Conservation*). Evaluation of the metal contamination in the North occidental Mediterranean from the bio-indicator *Posidonia oceanica*.

Petrilli, F.L., De Renzi, G.P., Palmerini Morelli, R., De Flora, S., 1979. Survey of the pollution in a coastal area of the Tyrrhenian Sea. Aerial photography, physico-chemical and microbiological investigations and mutagenic monitoring. *Water Research* 13, 895-904.

- Phillips, D.J.H., 1976. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper : effects of environmental variables on uptake of metals. *Marine Biology* 38, 59-69.
- Phillips, D.J.H., 1977. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of trace metals in Scandinavian waters – I : zinc and cadmium. *Marine Biology* 43, 283-291.
- Phillips, D.J.H., 1978. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of trace metals in Scandinavian waters – II : lead, iron and manganese. *Marine Biology* 46, 147-156.
- Phillips, D.J.H., 1980. Quantitative aquatic biological indicators : Their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Phillips, D.J.H., edit., Applied Science pub., Barking, 1-488.
- Phillips, D.J.H., Segar, D.A., 1986. Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants : programme design imperatives. *Marine Pollution Bulletin* 17, 10-17.
- Phillips, D.J.H., 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metal levels in estuaries and coastal waters. *In* : Heavy Metals in the Marine Environment. Furness, R.W., Rainbow, P.S., edit., CRC Press, Boca Raton, pub., Florida, 81-99.
- Phillips, D.J.H., Rainbow, P.S., 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Environmental Management Series. Phillips, D.J.H., Rainbow, P.S., edit., Alden Press Ltd, pub., Oxford, 1-371.
- Phillips, D.J.H., 1994. Macrophytes as biomonitors of trace metals. *Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries*, 85-103.
- Piazzini, L., Acunto, S., Balestri, E., Cinelli, F., 1996. Osservazioni preliminary sulla germinazione di semi e sviluppo *in situ* di piantine di *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Inform. Botanica italiana* 28, 61-66.
- Piazzini, L., Acunto, S., Cinelli, F., 1999. *In situ* survival and development of *Posidonia oceanica* (L.) Delile seedlings. *Aquatic Botany* 63, 103-112.
- Pluquet, F., 2006. Evolution récente et sédimentation des plates-formes continentales de la Corse. Thèse Doct., Univ. Corse, France, 1-307.
- Por, F.D., 1978. Lessepsian migrations. The influx of Red Sea biota into the Mediterranean by way of the Suez canal. Por, F.D., edit., Springer Verlag pub., Berlin, 1-228.
- Porto, J.I.R., Araujo, S.O.C., Feldberg, E., 2005. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research* 97 (3), 287-292.
- Pourang, N., Dennis, J. H., Ghourchian, H., 2004. Tissue distribution and redistribution of trace elements in shrimp species with the emphasis on the roles of metallothionein. *Ecotoxicology* 13, 519-533.
- Procaccini, G., Mazzella, L., 1996. Genetic structure of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Western Mediterranean: ecological implications. *Marine Ecology Progress Series* 140, 153-160.
- Rainbow, P.S., Phillips, D., 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin* 26 (11), 593-601.
- Rainbow, P.S., 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 31, 183-192.

- Rainbow, P.S., Wolowicz, M., Fialkowski, W., Smith, B.D., Sokolowski, A., 2000. Biomonitoring of trace metals in the Gulf of Gdansk, using mussel (*Mytilus trossulus*) and barnacles (*Balanus improvisus*). *Water Research* 34(6), 1823-1829.
- Ramade, F., 1990. La conservation des écosystèmes littoraux méditerranéens. *Bulletin de la société Zoologique de France* 114(3), 121-136.
- Ramade F., 1992. Précis d'écotoxicologie. Masson edit., Collection d'écologie, 22, 1-300.
- Ramade, F., 1993. Discours d'ouverture. In : Qualité du milieu marin - Indicateurs biologiques et physico-chimiques. 3èmes Rencontres scientifiques de la Côte Bleue. Boudouresque, C.F., Avon, M., Pergent-Martini, C., edit., GIS Posidonie, pub., 19-30.
- Ranvier, S, Gnassia-Barelli, M., Pergent, G., Capiomont, A., Roméo, M., 2000. The effect of mercury on glutathione S-transferase in the marine phanerogam *Posidonia oceanica*. *Botanica Marina* 43, 161-168.
- Reddy, A.M., Kumar, S.G., Jyonthsnakumari, G., Thimmanaik, S., Sudhakar, C., 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere* 60, 97-104.
- Rengel, Z., 1999. Heavy metals as essential nutrients. In : Heavy Metal Stress in Plants : from Molecules to Ecosystems. Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., edit., Springer, pub., Berlin, 231-252.
- Robert, P., 1988. Etude du régime thermique des principales biocénoses marines benthiques du Parc national de Port-Cros (Var, France). Diplôme de Recherche universitaire, Univ. Aix-Marseille II, France, 1-209.
- Rodriguez, C., Guerrero, J., Benedicto, J.M., Jornet, A., 1995. Spatial distribution of heavy metals in mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Spanish mediterranean coast. *Rapports de la Communauté Internationale sur la mer Méditerranée* 34, 145.
- Rolfhus, K. R., Fitzgerald, W. F., 1995. Linkage between atmospheric mercury deposition and the methylmercury content of marine fish. *Water, Air and Soil Pollution* 80, 291-297.
- Roméo, M., 1991. Toxicologie des métaux traces dans l'environnement marin. *Océanis* 17, 383-402.
- Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., Sidoumou, Z., Nguyen, P., 1993. Variations spatio-temporelles des concentrations en métaux traces chez le mollusque *Donax rugosus* de la côte mauritanienne. *Bulletin d'Ecologie* 24 (2-3-4), 83-86.
- Roméo, M., Mathieu, A., Gnassia-Barelli, M., Romana, A., Lafaurie, M., 1994. Heavy metal content and biotransformation enzymes in 2 fish species from the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 107, 15-22.
- Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., 1995. Metal distribution in different tissues and in subcellular fractions of the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus* treated with cadmium, copper or zinc. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111C (3), 457-463.
- Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., Juhel T., Meinesz A., 1995. Memorization of heavy metals by scales of the seagrass *Posidonia oceanica*, collected in the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 120(1-3), 211-218.
- Romero, J., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Mateo, M.A., Regnier, C., 1992. The detritic compartment in a *Posidonia oceanica* meadow : Litter features, decomposition rates, and mineral stocks. *Marine Ecology PSZNI* 13(1), 69-83.

- Ronza, A., Carol, S., Espejo, V., Vélchez, J.A., Arnaldos, J., 2006. A quantitative risk analysis approach to port hydrocarbon logistics. *Journal of Hazardous Materials A* 128, 10-24.
- Rozan, T.F., Hunter, K.S., 2001. Effects of discharge on silver loading and transport in the Quinnipiac River, Connecticut. *The Science of the Total Environment* 279, 195-205.
- Ruiz, J.M., Romero, J., 2001. Effects of *in situ* experimental shading on the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine Ecology Progress Series* 215, 107-120.
- Rutherford, P.M., Dudas, M.J., Samek, R.A., 1994. Environmental impact of phosphogypsum. *The Science of the Total Environment* 149, 1-38.
- Saeki, K., Nakajima, M., Loughlin, T.R., Calkins, D.C., Baba, N., Kiyota, M., Tatsukawa, R., 2001. Accumulation of silver in the liver of three species of pinnipeds. *Environmental Pollution* 112, 19-25.
- Saito, M.A., Moffett, J.W., 2002. Temporal and spatial variability of cobalt in the Atlantic Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66 (11), 1943-1953.
- Sanchiz, C., Benedito, V., Pastor, V., García-Carrascosa, A.M., 1990. Bioaccumulation of heavy metals in *Posidonia oceanica* (L.) Delile and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. at an uncontaminated station in the east coast of Spain. *Rapport Communauté Internationale Mer Méditerranée* 32, 13.
- Sanchiz, C., García-Carrascosa, A.M., Pastor, A., 1999. Bioaccumulation of Hg, Cd, Pb and Zn in four marine phanerogams and the alga *Caulerpa prolifera* (Försskal) Lamouroux from the East Coast of Spain. *Botanica Marina* 42, 157-164.
- Sanchiz, C., García-Carrascosa, A.M., Pastor, A., 2001. Relationships between sediment physico-chemical characteristics and heavy metal bioaccumulation in Mediterranean soft-bottom macrophytes. *Aquatic Botany* 69, 63-73.
- Sanders, J.G., Riedel, G.F., Osman, R.W., 1994. Arsenic cycling and its impact in estuarine and coastal marine ecosystems. In : Arsenic in the Environment. Part 1. Cycling and Characterization. Nriagu, J.O., edit., Wiley, pub., New York, 289-308.
- Sankaramakrishnan, N., Dixit, A., Iyengar, L., Sanghi, R., 2006. Removal of hexavalent chromium using a novel cross linked xanthated chitosan. *Bioresource Technology* 87, 2377-2382.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A., Flegal, A.R., 1992. Anthropogenic silver in the Southern California Bight : a new tracer of sewage in coastal waters. *Environmental Sciences and Technology* 26, 2147-2151.
- Satarug, S., Haswell-Elkins, M.R., Moore, M.R., 2000. Safe levels of cadmium intake to prevent renal toxicity in human subject. *The British Journal of Nutrition* 84, 791-802.
- Schlacher-Hoenlinger, M.A., Schlacher, T.A., 1998. Differential accumulation patterns of heavy metals among the dominant macrophytes of a mediterranean seagrass meadow. *Chemosphere* 37(8), 1511-1519.
- Schlatter, C., 1994. Environmental pollution and human health. *The Science of the Total Environment* 143, 93-101.
- Schroeder, W.H., Munthe, J., Lindquist, O., 1989. Cycling of mercury between water, air and soil compartments in the environment. *Water, Air and Soil Pollution* 48, 337-347.

- Schroeder, W.H., Munthe, J., 1998. Atmospheric mercury - an overview. *Atmospheric Environment* 32, 809–822.
- Schüürmann, G., Markert, B., 1998. Ecotoxicology, Ecological Fundamentals, Chemical Exposure, and Biological Effects. John Wiley, New York, 1-900.
- Sellali, B., Chouakri, S., Azzouz, M., Boudjellal, B., 1995. Chlorinated hydrocarbons in mussels from algiers'bay. *Rapports de la Commission Internationale en mer Méditerranée* 34, 148.
- Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 35–52.
- Short, F.T., Wolf, J., Jones, G.E., 1989. Sustaining eelgrass to manage a healthy estuary. *In* : Coastal and Ocean Management / ASCE. Proceedings of the sixth Symposium, July 11-14, 1989, Charleston, SC, 3689-3706.
- Shulkin, V.M., Presley, B.J., Kavun, V.I., 2003. Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments. *Environment International* 29, 493-502.
- Singh, R.P., Tripathi, R.D., Sinha, S.K., Maheshwari, R., Srivastava, H.S., 1997. Response of higher plants to lead contaminated environment. *Chemosphere* 34, 2467–2493.
- Sinha, S., Gupta, M., Chandra, P., 1996. Bioaccumulation and biochemical effects of mercury in the plant *Bacopa monnieri* L. *Environmental Toxicology and Water Quality* 11, 105–112.
- Slawson, R.M., Lohmeier-Vogel, E.M., Lee, H., Trevors, J.T., 1994. Silver resistance in *Pseudomonas stutzeri*. *BioMetals* 7, 30-40.
- Slemr, F., Langer, E., 1992. Increase in global atmospheric concentrations of mercury inferred from measurements over the Atlantic Ocean. *Nature* 355, 434–437.
- Smith, S., Peterson, P.J., Kwan, K.H.M., 1989. Chromium accumulation, transport and toxicity in plants. *Toxicology and Environmental Chemistry* 24, 241-251.
- Soltan, D., 1994. Etude de la faisabilité de l'utilisation des peuplements algaux comme bio-indicateurs de la qualité des eaux littorales marines en Méditerranée. Premier rapport intermédiaire : Analyse des données bibliographiques. Contrat N°9406 GIS Posidonie / Service assainissement Ville de Marseille, 1-12.
- Squibb, K.S., Fowler, B.A., 1983. *In* : Biological and Environmental Effects of Arsenic. Fowler, B.A., edit., Elsevier, pub., Amsterdam, 1- 233.
- Stark, J.S., Johnstone, G.J., Palmer, A.S., Snape, I., Larner, B.L., Riddle, M.J., 2006. Monitoring the remediation of a near shore waste disposal site in Antarctica using the amphipod *Paramoera walkeri* and diffusive gradients in thin films (DGTs). *Marine Pollution Bulletin* 52, 1595-1610.
- Stoppelli, N., Peirano, A., 1996. Continuous flowering of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Bay of Monterosso al Mare (SP) (Northwestern Mediterranean Sea). *Bollettino dei Musei e degli Istituti dell'Università di Genova* 60-61, 31-40.
- Strusk, B.D., Froning, M., Pelzer, I., Sistemich, I., Ostapezuk, P., 1996. Atmospheric dispersion and physiochemical behaviour of Cd and Pb in rainwater after emission by lead works. *The Science of the Total Environment* 182, 85-91.

Sunda, W. G., Huntsman, S. A., 1995. Cobalt and Zinc interreplacement in marine phytoplankton : Biological and geochemical implications. *Limnology and Oceanography* 40, 1404-1417.

Suszeysky, E.M., Shann, J.R., 1995. Phytotoxicity and accumulation of mercury in tobacco subjected to different exposure routes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 61-67.

Suzuki, T., Miyata, N., Horitsu, H., Kawai, K., Takamizawa, K., Tai, Y., Okazaki, M., 1992. NAD(P)H-dependent chromium(VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1 : a Cr(V) intermediate is formed during the reduction of Cr(VI) to Cr(III). *The Journal of Bacteriology* 174, 5340-5345.

Szefer, P., Ali, A.A., Ba-Haroon, A.A., Rajeh, A.A., Geldon, J., Nabrzyski, M., 1999. Distribution and relationships of selected trace metals in molluscs and associated sediments from the Gulf of Aden, Yemen. *Environmental Pollution* 106, 299-314.

Tabudravu, J.N., Gangaiya, P., Sotheeswaran, S., South, G.R., 2002. *Enteromorpha flexucosa* (Wulfen) J. Agardh (Chlorophyta : Ulvales) - evaluation as an indicator of heavy metal contamination in a tropical estuary. *Environmental Monitoring and Assessment* 75, 201-213.

Tankere-Muller, S., Zhang, H., Davison, W., Finke, N., Larsen, O., Stahl, H., Glud, R.N., 2006. Fine scale remobilisation of Fe, Mn, Co, Ni, Cu and Cd in contaminated marine sediment. *Marine Chemistry*, doi : 10.1016/j.marchem.2006.04.005.

Taramelli, E., Costantini, S., Giordano, R., Olivieri, N., Perdicaro, R., 1991. Cadmium in water, sediments and benthic organisms from a stretch of coast facing the thermoelectric power plant at Torvaldiga (Civitavecchia, Rome). In : UNEP/FAO, Final Reports on Research Projects Dealing with Bioaccumulation and Toxicity of Chemical Pollutants (MAP Technical Reports Series No. 52), Athens, 15-31.

Taylor, M.D., 1997. Accumulation of Cd derived from fertilizers in New Zealand soils. *The Science of the Total Environment* 206, 123-126.

Thélin, I., Boudouresque, C.F., 1983. Longévité des feuilles de *Posidonia oceanica* dans un herbier de la baie de Port-Cros (Var, France). *Rapports et Procès Verbaux des Réunions de la Commission Internationale sur l'Exploration Scientifique en Méditerranée* 28(3), 115-116.

Thompson, D.R., Furnes, R.W., Walsh, P.M., 1992. Historical changes in mercury concentrations in the marine ecosystems of the north and north-east Atlantic Ocean as indicated by seabird feathers. *The Journal of Applied Ecology* 29, 79-84.

Tomiyasu, T., Nagano, A., Yonehara, N., Sakamoto, H., Rifardi, Oki, K., Akagi, H., 2000. Mercury contamination in the Yatsushiro Sea, south-western Japan : spatial variations in sediment. *The Science of the Total Environment* 257, 121-132.

Tunesi, L., Boudouresque, C.F., 2006. Les causes de la régression des herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., edit., RAMOGE pub., France, 32-47.

Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., Akyurt, İ, 2005. Heavy metals in three commercially valuable fish species from İskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. *Food Chemistry* 91, 167-172.

Turnlund, J. R., 1998. Human whole-body copper metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition* 67, 960S-964S.

Ucun, H., Bayhan, Y.K., Kaya, Y., Cakıcı, A., Algur, O.F., 2002. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution by cone biomass of *Pinus sylvestris*. *Bioresource Technology* 85, 155-158.

UNEP, 1996. Etat du milieu marin et littoral de la région méditerranéenne. UNEP, MAP Technical reports 101, 1-148.

Ünlü, E., Akba, O., Sevim, S., Gümüş, B., 1996. Heavy metal levels in mullet, *Liza abu* (Heckel, 1843) (Mugilidae) from the Tigris River, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 5, 107-112.

US Environmental Protection Agency, 1997. Mercury Study Report to Congress. EPA-425/R-97-003, Office of Pollution Prevention and Toxics Washington, DC.

US Environmental Protection Agency, 1999. 33/50 Program – The final Record. EPA-745-R-99-004, Office of Pollution Prevention and Toxics, Agency (7408), 1-38.

US Environmental Protection Agency, 2000. Assigning values to non-detected/non-quantified pesticide residues in human health food exposure assessments. Retrieved February 15, 2007, from US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs Web site : <http://www.epa.gov/pesticides/trac/science/trac3b012.pdf>.

Usero, J., Morillo, J., Gracia, I., 2005. Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere* 59, 1175-1181.

Vahter, M., Åkesson, A., Lidén, C., Ceccatelli, S., Berglund, M., 2007. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environmental Research* 104, 85-95.

Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2001. *Ulva* and *Enteromorpha* as indicators of heavy metal pollution. *Hydrobiologia* 462, 221-232.

Voegborlo, R.B., Akagi, H., 2007. Determination of mercury in fish by cold vapour atomic absorption spectrometry using an automatic mercury analyser. *Food Chemistry* 100, 853-858.

Wang, Y.T., Shen, H., 1995. Bacterial reduction of hexavalent chromium. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 14, 159-163.

Wang, W.-X., Fisher, N.S., 1997. Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series* 161, 103-115.

Wang, G., Su, M.-Y., Chen, Y.-H., Lin, F.-F., Luo, D., Gao, S.-F., 2006. Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. *Environmental pollution* 144, 127-135.

Ward, T.J., 1987. Temporal variation of metals in the seagrass *Posidonia australis* and its potential as a sentinel accumulator near a lead smelter. *Marine Biology* 95, 315-321.

Ward, T.J., 1989. The accumulation and effects of metals in seagrass habitats. In : Biology of seagrasses, Aquatic Plant Studies 2. Larkum, A.W.D., Mc Comb, A.J., Shepherd, S.A., edit., Elsevier pub., 797-820.

Warnau, M., Ledent, G., Temara, A., Bouquegneau, J.M., Jangoux, M., Dubois, P., 1995. Heavy metals in *Posidonia oceanica* and *Paracentrotus lividus* from seagrass beds of the north-western Mediterranean. *The Science of the Total Environment* 171, 95-99.

Warnau, M., Fowler, S.W., Teyssié, J.L., 1996. Biokinetics of selected heavy metals and radionuclides in two marine macrophytes : the seagrass *Posidonia oceanica* and the alga *Caulerpa taxifolia*. *Marine Environmental Research* 41, 343-362.

- Warnau, M., Biondo, R., Temara, A., Bouquegneau, J.-M., Jangoux, M., Dubois, P., 1998. Distribution of heavy metals in the echinoid *Paracentrotus lividus* from the Mediterranean *Posidonia oceanica* ecosystem : seasonal and geographical variations. *Journal of Sea Research* 39, 267-280.
- Webb, N.A., Wood, C.M., 1998. Physiological analysis of the stress response associated with acute silver nitrate exposure in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 17 (4), 579-588.
- Webb, H., Keough, M.J., 2002. Measurement of environmental trace-metal levels with transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT) : a comparison of techniques. *Marine Pollution Bulletin* 44, 222-229.
- Weis, P., Weis, J.S., Proctor, T., 1993. Copper, chromium and arsenic in estuarine sediments adjacent to wood treated with chromated-copper-arsenate (CCA). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 36, 71-79.
- Wellman, C.H., Osterloff, P.L., Mohuddin, U., 2003. Fragments of the earliest land plants. *Nature* 425, 282-285.
- WHO, 1991. Inorganic Mercury : Environmental Health Criteria, vol. 118. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.
- WHO, 1995. Inorganic Lead : Environmental Health Criteria, vol. 165. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.
- Winge, D. R., Mehra, R. K., 1990. Host defences against copper toxicity. *International Review of Experimental Pathology* 31, 47-83.
- Wood, J.M., Kennedy, F.S., Rosen, C.G., 1968. Synthesis of methyl-mercury compounds by extracts of a methanogenic bacterium. *Nature* 220 (173-174).
- Wood, C.M., Hogstrand, C., Galvez, F., 1996. The physiology of waterborne silver toxicity in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 35, 93-109.
- Wood, C.M., Playle, R.C., Hogstrand, C., 1999. Physiology and modelling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 71-83.
- Yamamuchi, H., Fowler, B.A., 1994. Toxicity and metabolism of inorganic and methylated arsenicals. In : Arsenic in the Environment Part II. Human Health and Ecosystem Effects. Nriagu, J.O., edit., Wiley, pub., New York, 35-53.
- Yilmaz, A. B., Yilmaz, L., 2007. Influences of sex and seasons on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). *Food Chemistry* 101, 1696-1701.
- Yu, G., Saha, U.K., Kozak, L.M., Huang, P.M., 2006. Kinetics of cadmium adsorption on aluminum precipitation products formed under the influence of tannate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 5134-5145.
- Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B.R., Musarrat, J., 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere* 64, 991-997.
- Zakharova, T., Tatano, F., Menshikov, V., 2002. Health cancer risk assessment for arsenic exposure in potentially contaminated areas by fertilizers plants : a possible regulatory approach

applied to a case study in Moscow region, Russia. *Regulatory, Toxicology and Pharmacology* 36, 22-33.

Zakrzewski, S., 1991. Principles of Environmental Toxicology. American Chemical Society, Washington D.C., 1-270.

Zalokar, M., 1942. Les associations « sous-marines » de la côte adriatique au-dessous de Velebit. *Bulletin de la Société Botanique de Genève* 33, 171-195.

Zatta, P., Gobbos, S., Rocco, P., Perazzolo, M., Favarato, M., 1992. Evaluation of heavy metal pollution in the Venetian lagoon by using *Mytilus galloprovincialis* as biological indicator. *The Science of the Total Environment* 119, 29-41.

Zenk, M.H., 1996. Heavy metal detoxification in higher plants – a review. *Gene* 179, 21-30.

Zhang, J., Li, X., 1987. Chromium pollution of soil and water in Jinzhou. *Journal of Chinese Preventive Medicine* 21, 262-264.

Zhang, H., Davison, W., 2000. Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using DGT. *Analytical Chemistry* 72, 4447-4457.

Zhang, H., Davison, W., 2001. In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. *Pure Applied Chemistry* 73, 9-15.

Zhou, J.L., Salvador, S.M., Liu, Y.P., Sequeira, M., 2001. Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. *The Science of the Total Environment* 273, 61-76.

Zoller, U., Hushan, M., 2000. The nonionic surfactant pollution profile of Israel Mediterranean Sea coastal aquifer. *Water Science and Technology* 42 (1/2), 429-35.

Zoller, U., 2006. Estuarine and coastal zone marine pollution by the nonionic alkylphenol ethoxylates endocrine disrupters : Is there a potential ecotoxicological problem? *Environment International* 32, 269-272.

Zupo, V., Buia, M.C., Mazzella, L., 1997. A production model for *Posidonia oceanica* based on temperature. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 483-492.

Liste des figures et des tableaux

CHAPITRE I : CONTEXTE GÉNÉRAL

Figure I.1 : Aspect de l’herbier à *Posidonia oceanica* (Rondinara – Corse du Sud).....18

Figure I.2 : Arrangement caractéristique des rhizomes de *Posidonia oceanica* (D’après Boudouresque & Meinesz, 1982).....18

Figure I.3 : Rhizome plagiotrope de *Posidonia oceanica* dont partent vers le haut une demi-douzaine de rhizomes orthotropes et vers le bas des racines. Chaque rhizome porte un faisceau de feuilles. La barre d’échelle mesure 2 cm (D’après Boudouresque & Meinesz, 1982).....19

Figure I.4 : Morphologie de *Posidonia oceanica* (D’après Boudouresque & Meinesz, 1982).....19

Figure I.5 : La lépidochronologie. En haut : disposition des écailles le long d’un rhizome de *Posidonia oceanica*. En bas : épaisseur des écailles (en μm). M : maximum d’épaisseur. m : minimum d’épaisseur. f.s. : restes d’un pédoncule floral. P : prophyllé (= préfeuille) accompagnant le pédoncule floral. L1 : feuille vivante la plus âgée (D’après Pergent *et al.*, 1989b)..... 20

Figure I.6 : A gauche : une inflorescence de *Posidonia oceanica*. A droite : deux fleurs ; les étamines (e) sont situées à l’extérieur ; on aperçoit le sommet de l’ovaire doté de denticulations susceptibles d’accrocher le pollen filamenteux (o). D’après Hartog (1970).....21

Figure I.7 : Fruits de *Posidonia oceanica* (« olives de mer »). A gauche : Début de fructification (Photo de G. Pergent). Au centre : Fruits mûrs (couleur brun-rouge ; Photo internet France 3). A droite : Fruits à la surface de l’eau (Photo de G. Pergent).....22

Tableau I.1 : Utilisations et sources (naturelles et anthropiques) de quelques ETM et de leurs dérivés (Ag : argent ; As : arsenic ; Cd : cadmium ; Co : cobalt ; Cr : chrome ; Cu : cuivre ; Hg : mercure ; Ni : nickel ; Pb : plomb ; Zn : zinc).....4

Tableau I.2 : ETM inscrits dans la Directive Cadre Eau (DCE ; Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001), le programme 33/50 de l’United States Environmental Protection Agency (US EPA ; US Environmental Protection Agency, 1999) et la Convention OSPAR (OSPAR ; Commission OSPAR, 2006).....10

CHAPITRE II : TEMPORAL EVOLUTION OF METAL CONCENTRATIONS IN *POSIDONIA OCEANICA*

Figure II.1 : Sampling locations (Calvi, Canari, Cortiou and Toulon).....31

Figure II.2 : Mean evolution of shoots, over time (t0 to t8), in the site of Calvi. A = Adult leaves, I = Intermediate leaves, DL = Dead leaf.....33

Figure II.3 : Evolution of Mercury concentrations in the blades of adult leaves over time (mean and SE in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).....34

Figure II.4 : Evolution of Mercury concentrations in intermediate leaves over time (mean and SE in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).....34

Figure II.5 : Evolution of Mercury concentrations in the foliar tissues according to their age (mean and SE in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).....35

Figure II.6 : Evolution of Mercury concentration in the blades of adult leaves according to time, in Calvi and Toulon (measured and corrected values, in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). 38

Figure II.7 : Temporal evolutions of mercury concentrations by *Posidonia oceanica* (P.o.) and *Mytilus galloprovincialis* (M.g.) in Calvi and Toulon (from Kantin & Pergent, 2007).....40

Table II.1 : Sampling dates of *Posidonia oceanica* shoots collected in 2003.....**32**
Table II.2 : Rank of analyzed tissues according to the date of sampling in the site of Calvi.....**33**
Table II.3 : Metal concentrations measured in the four studied sites in April and July 2004 (mean \pm S.E. ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; the location presenting the maximum value for a given metal is in bold).....**36**
Table II.4 : Evolution over time of blade length (Bl. L., in mm), in Calvi and in Toulon, and determination of the corrective coefficient (Coef.).....**37**
Table II.5 : Metal concentrations (corrected values) in Calvi and Toulon in April and July 2004 (mean \pm S.E. ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.).....**38**
Table II.6 : Mean water temperature (T° in $^\circ\text{C}$; STARESO, unpublished data) and foliar surface (FS ; in cm^2) of *Posidonia oceanica* in Calvi.....**39**

CHAPITRE III : METAL CONTAMINATION OF *POSIDONIA OCEANICA* MEADOWS ALONG THE CORSICAN COASTLINE (MEDITERRANEAN)

Figure III.1 : Study area and sampling stations. 1 : Macinaggio ; 2 : Sisco ; 3 : Bastia ; 4 : Campoloro ; 5 : Diane ; 6 : Solenzara ; 7 : Sant’Amanza ; 8 : Bonifacio ; 9 : Propriano ; 10 : Ajaccio ; 11 : Porto ; 12 : Calvi ; 13 : Lumio ; 14 : Saint Florent ; 15 : Canari ; 16 : Centuri.....**46**
Figure III.2 : Map showing the marine currents (currents of cyclonic coastal drift in continuous arrows and currents of anticyclonic coastal drift in dotted arrows ; from Pluquet, 2006) and the Cd contamination levels of *Posidonia oceanica* meadows (a big star for a basic contamination level, a medium star for a low one and a small star for a moderate one ; from the classification of Pergent-Martini *et al.*, 2005a).....**55**

Table III.1 : Analysis of trace metals in the certified reference material *Lagarosiphon major*. Results are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (mean value \pm 95% confidence interval).....**48**
Table III.2 : Metal concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.), mean values and metal pollution index (MPI) in the blades of adult leaves of *Posidonia oceanica* (St. : station ; M : Mean ; mean \pm E.S. ; the maximum values are in bold and the minimum values are in italic).....**49**
Table III.3 : Metal concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.), mean values and metal pollution index (MPI) in the sheaths of adult leaves of *Posidonia oceanica* (St. : station ; M : Mean ; mean \pm E.S. ; the maximum values are in bold and the minimum values are in italic ; - : value below detectable limits).....**49**
Table III.4 : Matrix correlation of Pearson in the blades and in the sheaths (* : correlation significant at $P < 0.05$; ** : correlation significant at $P < 0.01$).....**51**
Table III.5 : Means and ranges (in brackets) of concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.) in *Posidonia oceanica* leaves reported in various studies (values with grey background correspond to stations considered as impacted by authors).....**54**

CHAPITRE IV : VALIDATION OF THE USE OF *POSIDONIA OCEANICA* AS A METAL BIOMONITOR

Figure IV.1 : Sampling locations in the north-western Mediterranean. 1 : Canari (Corsica, France) – 2 : Livorno (Toscana, Italy) – 3 : Porto-Torres (Sardinia, Italy).....**61**

Figure IV.2 : Mean bio-sediment accumulation factor values (BSAF) in *Mytilus galloprovincialis* and *Posidonia oceanica*.....**66**

Table IV.1 : Analysis of trace metals in the certified reference material *Lagarosiphon major*. Results are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (mean value \pm 95% confidence interval).....**64**

Table IV.2 : Metal concentrations in seawater (in ng.L^{-1} ; the location presenting the maximum value is in bold).....**65**

Table IV.3 : Metal concentrations in sediment (mean \pm S.E. in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. with S.E. : Standard Error ; Standard Error = Standard Deviation / \sqrt{n} ; n = 3 replicates – PT : Porto-Torres - the location presenting the maximum value is in bold).....**65**

Table IV.4 : Metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* (M.g.) and *Posidonia oceanica* (P.o. ; mean \pm S.E. in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; n = 3 replicates – PT : Porto-Torres - the location presenting the maximum value is in bold).....**65**

CHAPITRE V : EVALUATION OF METAL CONTAMINATION IN THE NORTH OCCIDENTAL MEDITERRANEAN FROM THE BIO-INDICATOR *POSIDONIA OCEANICA*

Figure V.1 : Sampling sites (1 : Mont Roig – 2 : Mataró – 3 : Marseille – 4 : Toulon – 5 : Macinaggio – 6 : Sisco – 7 : Bastia – 8 : Campoloro – 9 : Diane – 10 : Solenzara – 11 : Sant’Amanza – 12 : Bonifacio – 13 : Propriano – 14 : Ajaccio – 15 : Porto – 16 : Punta Bianca – 17 : Calvi – 18 : Calvi Cages – 19 : Lumio – 20 : St Florent – 21 : Canari 1 – 22 : Canari 2 – 23 : Canari 3 – 24 : Canari 4 – 25 : Canari 5 – 26 : Centuri – 27 : Porto-Torres 1 – 28 : Porto-Torres 2 – 29 : Porto-Torres 3 – 30 : Porto-Torres 4 – 31 : Livorno 1 – 32 : Livorno 2 – 33 : Livorno 3 – 34 : Livorno 4 – 35 : Rosignano – 36 : Piombino – 37 : Lacco Ameno – 38 : Scarrupata).....**75**

Figure V.2 : Cd concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (— — — — : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).....**80**

Figure V.3 : Hg concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (— — — — : limit established using the quantile method ; : limit established using the regular interval method).....**81**

Figure V.4 : Ni concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of

contamination is shown (— : limit established using the quantile method ;
 : limit established using the regular interval method).....82

Figure V.5 : Pb concentrations in the 38 sites studied (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt.). The limit between significant (Very High and High contamination levels) and non-significant levels (Moderate, Low and Very Low contamination levels) of contamination is shown (— : limit established using the quantile method ;
 : limit established using the regular interval method).....83

Table V.1 : Metal concentrations in *Posidonia oceanica* blades (mean \pm standard error ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; MD : missing data ; Calvi C. : Calvi Cages ; SM : Sant’Amanza ; P. Bianca : Punta Bianca ; PT : Porto-Torres ; L. Ameno : Lacco Ameno).....76

Table V.2 : Metal concentrations in *Posidonia oceanica* blades (mean \pm standard error ; in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. ; MD : missing data).....77

Table V.3 : Preliminary quality scale established using the quantile method.....78

Table V.4 : Preliminary quality scale established using the regular interval method.....79

Table V.5 : Classification of *Posidonia oceanica* seagrass beds as function of trace metal contamination levels in $\mu\text{g.g}^{-1}$ dry wt. (from Pergent-Martini *et al.*, 2005a).....84

CHAPITRE VI : *POSIDONIA OCEANICA* : A TRACER OF PAST MERCURY CONTAMINATION

Figure VI.1 : Study area showing the location of the sites.....89

Table VI.1 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in living and dead sheaths of *Posidonia oceanica* shoots (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the mercury concentration relative to this of the previous box ; *¹ $p < 0.05$; *² $p < 0.10$).....92

Table VI.2 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in the dead sheaths of the lepidochronological years 1994 and 1995 of *Posidonia oceanica* shoots (mean \pm S.E. ; 5 replicates).....92

Table VI.3 : Mercury concentrations (ng.g^{-1} dry wt.) recorded in the dead sheath showing the maximal thickness for the lepidochronological year 1994 (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the mercury concentration relative to this of the previous box, * $p < 0.05$).....93

Table VI.4 : Biomass (g dry wt. by shoot) of the dead sheath showing the maximal thickness for the lepidochronological year 1994 (mean \pm S.E. ; 5 replicates ; statistical significance of the value of the biomass relative to this of the previous box, * $p < 0.05$).....93

Annexes

Annexe 1 : Protocoles utilisés pour l'analyse des métaux traces

Les échantillons de *Posidonia oceanica* sont rincés, congelés ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), lyophilisés ($>72\text{ h}$, lyophilisateur Heto[®] FD4-85, HetoHolten A/S, Danemark) puis broyés jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Le laboratoire EqEL de l'Université de Corse réalise l'analyse d'Hg. Les autres éléments métalliques (Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn) sont analysés par le Laboratoire municipal de Rouen/ETSA.

Analyse d'Hg (laboratoire EqEL de l'Université de Corse) : 50 mg de poudre sont prélevés et placés dans un réacteur en Teflon ACV CEM[®] de 100 mL (CEM Corp., USA). 5 mL d'HNO₃ 69% (Normapur, 20 428.297 Prolabo[®]) et 1 ml d'H₂O₂ 30% (Normapur 23 619.297 Prolabo[®]) sont ajoutés. Les réacteurs sont fermés et placés dans le four MARS 5 CEM[®] (20 minutes à $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et 20 minutes de refroidissement). Après l'attaque acide à chaud, le contenu de chaque réacteur est versé dans une fiole jaugée et est dilué avec de l'eau ultra-pure jusqu'à obtention d'une solution de 25 ml. Cette solution est transférée dans un flacon en polypropylène de 60 ml. Les échantillons minéralisés sont analysés avec un spectromètre d'absorption atomique en vapeur froide (CV-AAS, Perkin Elmer[®]), équipé d'un système d'injection de l'échantillon (FIMS 100, Perkin Elmer[®]) et d'un passeur automatique (AS-90, Perkin Elmer[®]). Une solution "carrier" d'HNO₃ à 5% et une solution réductrice de SnCl₂ sont utilisées. La méthode des ajouts-dosés est appliquée pour la calibration. Les standards de calibration sont préparés à partir d'une solution standard d'Hg de $1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (30 130.263 Prolabo[®]).

Analyses d'Ag, As, Cd, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Ni et Zn (Laboratoire Municipal de Rouen) : 750 mg de poudre sont nécessaires pour l'analyse de ces éléments. Les échantillons sont minéralisés par une attaque acide à chaud puis analysés par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite (GF-AAS) ou par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) en fonction de l'élément métallique analysé.

Annexe 2 : Performances (contrôle et assurance de qualité)

Les procédures analytiques sont vérifiées en utilisant un matériel de référence certifié (*Lagarosiphon major*, CRM 60; Community Bureau of Reference – Commission of the European Communities).

Le laboratoire EqEL de l'Université de Corse réalise des inter-calibrations avec le Laboratoire de Rouen et le laboratoire IFREMER de Nantes.

Le Laboratoire de Rouen est accrédité COFRAC sur la base du référentiel NF EN ISO/CEI 17025. Il réalise des inter-calibrations avec le laboratoire EqEL de l'Université de Corse et le Laboratoire IFREMER de Nantes et participe aux inter-calibrations inter-laboratoires organisées par AGLAE et QUASIMEME.

Use of *Posidonia oceanica* (L.) Delile as bio-indicator of metal contamination

Abstract

The coastal zone of the continental shelf contains a high ecological richness. However, this zone is very fragile towards xenobiotics ; the pollution of this environment can be damaging to the structure of the biocenoses and to the productivity of the ecosystems. Metals, contrarily to numerous contaminants, are normal constituents of the environment at a trace level, but are all toxic above a certain threshold. At the end of the 1970s, several researchers proposed the use of organisms to evaluate the quality of the marine environment ; it is in this context that the bio-indicator concept arises. The seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile, endemic of the Mediterranean Sea, has been the subject of several works proposing to use this species to determine the metal concentrations of the environment. However, most studies carried out explorative research in order to qualify this species as bio-indicator. The results of this work validate the use of *Posidonia oceanica* as a reliable tool for the evaluation of metal contamination of coastal ecosystems. Indeed, this work allowed : (i) to better understand the trace metals accumulation processes by *Posidonia oceanica* (influence of age and growth of foliar tissues in the metal accumulation) ; (ii) to confirm the high sensitivity of this species as a tracer of metal contamination (identification of metal inputs associated to the previous asbestos mine of Canari and evaluation of the extent of the impact of this previous exploitation) ; (iii) to confirm its reliability as bio-indicator of metal contamination (same trends observed for this species and the bio-indicator *Mytilus galloprovincialis* Lamark, 1819). Therefore, *Posidonia oceanica* appears as an interesting tool in the frame of setting up biomonitoring networks at the scale of the Mediterranean Sea. A technique, which consists in collecting only the blades of the adult leaves is proposed insofar as it will allow to carry out trace metals analyses without inducing the mortality of the plant (protected species in numerous Mediterranean countries) and conserving its integrity. Preliminary scales to interpret the level of metal contamination in the environment have equally been proposed for cadmium, mercury, nickel and lead (priority substances ; Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001). Finally, this work shows equally the possible use of *Posidonia oceanica* as a « tracer » of the past mercurial contamination thanks to the lepidochronology technique.

Key words : *Posidonia oceanica*, bio-indicator, trace metals, metal contamination, human impacts, Mediterranean Sea

Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique

Résumé

La zone littorale du plateau continental renferme une grande richesse écologique. Or, cette zone présente une grande fragilité vis-à-vis des xénobiotiques ; la pollution de ce milieu peut porter atteinte à la structure des biocénoses et à la productivité des écosystèmes. Les métaux sont des constituants normaux de l'environnement à l'état de traces, contrairement à de nombreux contaminants, et sont tous toxiques au dessus d'un certain seuil. A la fin des années 1970, plusieurs chercheurs proposent l'utilisation d'organismes pour évaluer la qualité du milieu marin ; c'est dans ce contexte que naît le concept de bio-indicateur. La magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* (L.) Delile, endémique de Méditerranée, a fait l'objet de plusieurs travaux proposant d'utiliser cette espèce pour déterminer les concentrations métalliques du milieu. Toutefois, un certain nombre d'axes d'étude restait encore à explorer afin de qualifier cette espèce de bio-indicateur. Les résultats de ce travail valident l'utilisation de cette espèce en tant qu'outil fiable pour l'évaluation de la contamination métallique des écosystèmes littoraux. En effet, ce travail a permis : (i) de mieux comprendre les processus d'accumulation des métaux traces par *Posidonia oceanica* (influence de l'âge et de la croissance des tissus foliaires dans l'accumulation métallique) ; (ii) de confirmer la grande sensibilité de cette espèce comme traceur de la contamination métallique (identification des apports métalliques associés à l'ancienne mine d'amiante de Canari et évaluation de l'étendue de l'impact de cette ancienne exploitation) ; (iii) de confirmer sa fiabilité comme bio-indicateur de contamination métallique (mêmes tendances observées chez cette espèce et le bio-indicateur *Mytilus galloprovincialis* Lamark, 1819). *Posidonia oceanica* apparaît, par conséquent, comme un outil intéressant dans le cadre de la mise en œuvre de réseaux de surveillance à l'échelle de la Méditerranée. Une technique, consistant à prélever uniquement les limbes des feuilles adultes, est proposée dans la mesure où elle permettra de réaliser des analyses de métaux traces sans entraîner la mortalité de la plante (espèce protégée dans de nombreux pays méditerranéens) et tout en conservant son intégrité. Des grilles préliminaires d'interprétation de la contamination métallique du milieu ont également été proposées pour le cadmium, le mercure, le nickel et le plomb (substances prioritaires ; Decision N° 2455/2001/EC ; EC, 2001). Enfin, ce travail montre également l'utilisation possible de *Posidonia oceanica* comme « traceur » de la contamination mercurielle passée grâce à la technique de la lépidochronologie.

Mots clés : *Posidonia oceanica*, bio-indicateur, métaux traces, contamination métallique, impacts anthropiques, Méditerranée