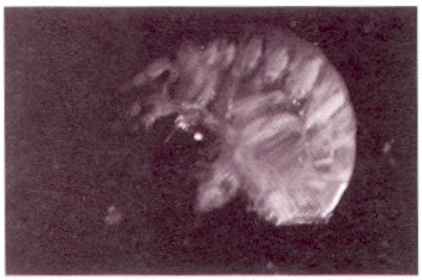
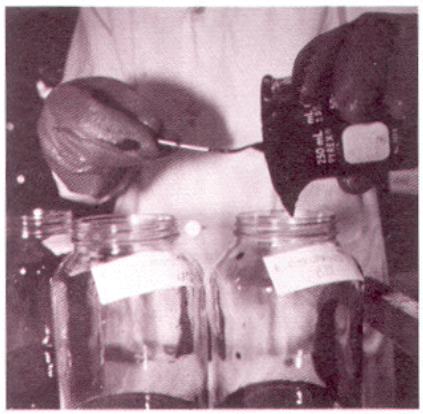
Série de la Protection de l'environnement





Méthode d'essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens

Rapport SPE 1/RM/26
Décembre 1992

(Avec modifications apportées en octobre 1998)

Canada

Environnement Canada | Environment Canada

Méthode d’essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens

Section de l’élaboration et de l’application des méthodes
Centre de technologie environnementale
Environnement Canada
Ottawa (Ontario)

Rapport SPE 1/RM/26
Décembre 1992
(Avec modifications apportées en octobre 1998)

Données de catalogage avant publication de la Bibliotèque nationale du Canada

Vedette principale au titre:

Méthode d'essai biologique. Essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens

(Rapport ; SPE 1/RM/26)
Publ. aussi en englais sous le titre: Biological test method. Acute test for sediment toxicity using marine or estuarine amphipods.
Comprend des références bibliographiques.
ISBN 0-662-98165-0
N°. de cat. MAS En49-24/1-26F

1. Amphipodes-- Toxicité -- Essais.
2. Hydrobiologie -- Aspect de l'environnement.

I. Canada. Direction générale de la protection de l'environnement.
II. Canada. Environnement Canada.
III. Coll. : Rapport (Canada. Environnement Canada) ; SPE 1/RM/26
IV Titre : Essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens

QL444.M315B5614 1993 595.3'71 C93-099492-2

©Ministre des Approvisionnements et Services Canada 1993
No., de catalogue En 49-24/1-26F
ISBN 0-662-98165-0

Commentaires

Pour formuler des commentaires sur la teneur du présent rapport, s'adresser à :

Richard Scroggins
Section de l'élaboration et de l'application des méthodes
Centre de technologie environnementale
335 River Road
Environnement Canada
Ottawa (Ontario)
K1A 0H3

This report is also available in English under the title *Biological Test Method: Acute Test for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Amphipods.* For copies, please contact:

Environmental Protection Publications
Environment Canada
Ottawa, Ontario
K1A 0H3

Avis de Révision

Le personnel de la Direction générale de l'avancement des technologies environnementales d'Environnement Canada a révisé ce rapport et en a autorisé le publication. La mention d'appellation commerciales ou de produits offerts sur le marché ne constitue ni une recommendation ni une approbation de l'emploi de ces derniers par Environnement Canada.

Résumé

Le présent rapport décrit des méthodes recommandées par Environnement Canada (EC) pour l'exécution d'essai statiques d'une durée de 10 jours visant à évaluer la toxicité de sédiments chez une ou plusieurs des espèces suivantes d'amphipodes fouisseurs marins ou estuariens : Amphiporeia virginiana, Corophium volutator, Eohaustorius estuarius, Eohaustorius washingtonianus, Foxiphalus xiximeus, Leptocheirus pinguis *et* Rhepoxynius abronius. *Le résultat biologique de l'essai est le pourcentage de mortalité au 10^{e} jour. Cet essai permet aussi de déterminer des résultats additionnels (sublétaux) tels que le pourcentage des amphipodes survivants qui émergent des sédiments au 10^{e} jour (c.-à-d., qui ont une réaction d'évitement) ou le pourcentage de ceux qui sont capables de s'enfouir dans un sédiment de contrôle après y avoir été transférés. L'essai est effectué dans des récipients de verre d'une capacité de 1 L, avec 175 mL de sédiments en phase solide recouverts de 750 mL d'eau de mer.*

On expose dans le présent rapport des conditions et méthodes générales se rapportant à la préparation et la réalisation de l'essai. On y précise aussi d'autres conditions et méthodes particulières qui dépendent de l'objectif de l'essai (p. ex., évaluation d'échantillons de sédiments prélevés sur le terrain, de boues ou d'autres déchets solides, ou encore de produits chimiques ajoutés à des sédiments). Le lecteur y trouvera des instructions concernant : le prélèvement, l'identification et le transport des organismes soumis à l'essai; le tri et la manipulation des échantillons; la détention et l'acclimatation des organismes soumis à l'essai; le transport et le stockage des échantillons; les installations d'essai; la préparation des sédiments d'essai et la mise en route des essais; les conditions prescrites pour les essais; les observations et mesures appropriées; les méthodes de calcul; l'utilisation de produits toxiques de référence; et la validation des résultats des essais.

Abstract

Methods recommended by Environment Canada (EC) for performing static 10-day tests for sediment toxicity, using one or more of the following species of marine or estuarine sediment-burrowing amphipods, are described in this report: Amphiporeia virginiana, Corophium volutator; Eohaustorius estuarius; Eohaustorius washingtonianus; Foxiphalus xiximeus; Leptocheirus pinguis; *and* Rhepoxynius abronius. *The biological endpoint for the test is percent mortality at Day 10. Additional (sublethal) endpoints that measure the percentage of surviving amphipods that emerge from the sediment at Day 10 (i.e., avoidance response), and/or the ability of the amphipods to rebury when transferred to control sediment, can also be determined using this test. The test is performed in 1-L glass vessels, with 175 mL of solid-phase sediment and 750 mL of overlying seawater.*

General or universal conditions and procedures are outlined for preparing for and undertaking the test. Additional conditions and procedures are stipulated that are specific to the intended use of the test (e.g., assessment of samples of field-collected sediment, sludge or other solid waste, or chemical introduced to sediment). Included are: instructions on collecting, identifying, and transporting test organisms; sorting and handling procedures; holding and acclimation conditions; sample transport and storage; test facility requirements; procedures for preparing test sediments and test initiation; specified test conditions; appropriate observations and measurements; endpoints; methods of calculation; the use of reference toxicants; and test validation.

Avant-propos

Le présent document fait partie d'une série de ***méthodes recommandées*** *pour mesurer et évaluer les effets toxiques sur une seule espèce d'organismes aquatiques ou terrestres causer par l'exposition de ces derniers à des échantillons de matières ou de substances d'essai, le tout dans des conditions de laboratoire contrôlées et définies. Ces méthodes ont été élaborées et publiées par Environnment Canada et sont recommandées pour les applications suivantes:*

- *utilisation dans les laboratoires d'Environnement Canada ou dans ceux relevant des ministères de l'environnement provinciaux;*

- *essais confiés en sous traitame par Environnement Canada ou requis par des organismes ou des entreprises externes;*

- *remplacement d'instructions plus précises, comme celles prévues dans des règlements; et*

- *comme fondement pour l'élaboration d'instructions très explicites pouvant être requises dans une programme de réglementation ou une méthode de référence normalisée.*

Les différents types d'essais compris dans cette série ont été choisis parce qu'ils étaient acceptables aux fins des programmes de protection et de gestion de l'environnement mis en oeuvre par Environnement Canada. Ces documents visent à fournir des lignes directrices et à faciliter l'utilisation de méthodes cohérentes, pertinentes et exhaustives pour recueillir des données sur les effets toxiques d'échantillons de produits chimiques, d'effluents, d'élutriats, de lixiviats, de milieux récepteurs ou, les cas échéant, de sédiments ou de solides assimilés.

Table des matières

Résumé v
Abstract vi
Avant-propos vii
Liste des tableaux xii
Liste des figures xii
Liste des abréviations et des formules chimiques xiii
Glossaire xv
Remerciements xxi

Section 1
Introduction 1
1.1 Contexte 1
1.2 Utilisation antérieure de l'essai 3
1.3 Espèces d'amphipodes étudiées et recommandées 5

Section 2
Organismes soumis à l'essai et acclimatation 7
2.1 Espèces 7
2.2 Stade du cycle biologique et taille 7
2.3 Source 7
2.4 Prélèvement, manipulation et transport 8
2.5 Détention et acclimatation 9
2.5.1 Tri et détention des organismes 9
2.5.2 Installations 9
2.5.3 Éclairage 11
2.5.4 Eau 11
2.5.5 Salinité 12
2.5.6 Température 13
2.5.7 Oxygène dissous 13
2.5.8 Acclimatation et alimentation 13
2.5.9 Sélection des organismes 13

Section 3
Système d'essai 14
3.1 Installations 14
3.2 Éclairage 14
3.3 Récipients d'essai 14
3.4 Sédiment de contrôle 14
3.5 Eau d'essai et eau de contrôle/de dilution 15

Section 4
Méthodes universelles 16
4.1 Mise en route de l'essai 16
4.2 Conditions de l'essai 21
4.3 Observations et mesures 21
4.4 Résultats et calculs 23
4.5 Produit toxique de référence 24

Section 5
Méthodes particulières pour l'essai de sédiments prélevés sur le terrain ou de substances solides assimilées 29
5.1 Prélèvement des échantillons 29
5.2 Étiquetage, transport, stockage et analyse des échantillons 30
5.3 Préparation des substances à expérimenter 31
5.4 Eau d'essai 32
5.5 Observations et mesures 33
5.6 Résultats et calculs 33

Section 6
Méthodes particulières pour l'essai de produits chimiques ajoutés à des sédiments 35
6.1 Propriétés, étiquetage et stockage des échantillons 35
6.2 Préparation des mélanges à expérimenter 35
6.3 Eau d'essai de contrôle/de dilution 38
6.4 Observations et mesures 38
6.5 Résultats et calculs 39

Section 7
Procès-verbal de l'essai 43
7.1 Substances à expérimenter 43
7.2 Organismes soumis à l'essai 44
7.3 Installations et appareillage 44
7.4 Sédiment de contrôle et eau d'essai 44
7.5 Méthode d'essai 44
7.6 Conditions de l'essai 45
7.7 Résultats de l'essai 45

Références 47

Annexe A
Membres du Groupe intergouvernemental de la toxicité environnementale 57

Annexe B
Administration centrale et bureaux régionaux d'Environnement Canada 59

Annexe C
Écarts de méthodologie pour l'exécution d'essais de toxicité de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens. 60

Annexe D
Illustration des principales parties anatomiques des amphipodes gammaridiens 67

Annexe E
Amphiporeia virginiana 70

Annexe F
Corophium volutator 74

Annexe G
Eohaustorius estuarius 78

Annexe H
Eohaustorius washingtonianus 82

Annexe I
Foxiphalus xiximeus 86

Annexe J
Leptocheirus pinguis 89

Annexe K
Rhepoxynius abronius 92

Annexe L
Série logarithmique de concentrations convenant aux essais de toxicité 96

Liste des tableaux

1 Liste de contrôle des conditions et méthodes recommandées pour la détention et l'acclimatation des amphipodes 10

2 Liste de contrôle des conditions et méthodes d'essai recommandées 17

Liste des figures

1 Schéma de la démarche adoptée pour définir les conditions et méthodes d'essai adaptées à différents types de substances 2

2 Estimation de la concentration létale 50 par la représentation graphique de la mortalité sur papier de probabilité logarithmique 41

Liste des abréviations et des formules chimiques

°C . . . . . degré Celsius

Cd . . . . . cadmium

CE50 . . . . . concentration efficace 50

Cl . . . . . chlore

CL50 . . . . . concentration létale 50

cm . . . . . centimètre

d . . . . . jour

g . . . . . gramme

h . . . . . heure

H_2O . . . . . eau

kg . . . . . kilogramme

L . . . . . litre

m . . . . . mètre

MC . . . . . marque de commerce

mg . . . . . milligramme

min . . . . . minute

mL . . . . . millilitre

mm . . . . . millimètre

rH . . . . . potentiel d'oxydo-réduction

SI . . . . . Système international d'unités

tr/min . . . . . tous par minute

µg . . . . . microgramme

µm . . . . . micromètre

σ . . . . . écart-type

> . . . . . supérieur à

< . . . . . inférieur à

≥ . . . . . supérieur ou égal à

≤ . . . . . inférieur ou égal à

± . . . . . plus ou moins

% . . . . . pour cent

‰ . . . . . pour mille

Glossaire

Remarque: Toutes les définitions ci-après s'appliquent aux méthodes énoncées dans le présent rapport; il se pourrait qu'elles ne soient pas adaptées à d'autre contextes.

Verbes auxiliaires

L'auxiliaire *doit (doivent)* est utilisé pour exprimer une obligation absolue.

L'auxiliaire *devrait (devraient)* et le conditionnel d'obligation (*il faudrait*, etc.) sont utilisés pour indiquer que la condition ou la méthode en cause est recommandée et doit être respectée dans la mesure du possible.

L'auxiliaire *peut (peuvent)* indique qu'opn est autorisé à faire une chose ou en mesure de la faire.

L'auxiliaire *pourrait (pourraient)* est utilisé pour indiquer le possibilité que quelque chose existe ou se produise.

Termes techniques généraux

Acclimatation - Adaptation physiologique à un niveau précis d'une ou de plusieurs variables environnementales, par exemple la température. Ce terme s'applique généralement à des conditions contrôlées en laboratoire.

Conductivité - Expression numérique de la capacité d'une solution aqueuse de transmettre un courant électrique. Cette capacité dépend de la concentration, de la valence et de la mobilité des ions en solution, ainsi que de la température de la solution. La conductivité s'exprime normalement en millisiemens par mètre (unité SI), ou en micromhos par centimètre (1 mS/m = 10 µmhos/cm).

Conformité - Fait de respecter les exigences du gouvernement en matière de réglementation ou de délivrance de permis.

Dopage - Addition d'une quantité connue d'un produit chimique à un sédiment de contrôle non contaminé; le sédiment est ensuite bien mélangé pour que le produit chimique y soit également réparti.

Lux - Unité SI d'éclairement, mesurant l'intensité lumineuse par mètre carré. 1 lux = 0,0929 pied-bougie; 1 pied-bougie = 10,76 lux.

pH - Logarithme négatif de l'activité des ions d'hydrogène, mesurée par leur concentration en moles par litre. Cette valeur exprime le degré ou l'intensité des réactions acides et alcalines selon une échelle de 0 à 14, où le nombre 7 représente la neutralité. Les nombres inférieurs à 7 correspondent, en ordre décroissant, à des réactions acides de plus en plus fortes, alors que les

nombres supérieurs à 7 indiquent, en ordre croissant, des réactions basiques ou alcalines de plus en plus fortes.

Pourcentage (%) - Concentration exprimée en parties par centaine. Dans le cas des substances à expérimenter, 10 % représentent 10 unités ou parties d'une substance diluée dans un sédiment ou dans de l'eau jusqu'à concurrence de 100 parties. Selon la substance en cause, on peut préparer des concentrations en se basant sur la masse, sur le volume ou sur la masse par volume. On les exprime ces concentrations en pourcentage de la substance à expérimenter dans le mélange final de sédiment ou dans la solution finale.

Prétraitement - Traitement d'un échantillon de sédiment ou d'une portion de cet échantillon, avant que les amphipodes n'y soient exposés.

Salinité - Quantité totale, en grammes, de solides dissous dans 1 kg d'eau. Elle se détermine après conversion de tous les carbonates en oxydes, après remplacement de tous les bromures et iodures par des chlorures, et après oxydation de toutes les matières organiques. La salinité peut aussi se mesurer directement grâce à un salinimètre/conductimètre ou par d'autres moyens (*cf.* APHA *et al.*, 1989). Elle s'exprime habituellement en grammes par kilogramme (g/kg) ou en parties par millier (‰).

Surveillance - Activités de vérification de la qualité ou de collecte et de communication de données, effectuées de façon régulière (p. ex., quotidienne, hebdomadaire, mensuelle ou trimensuelle). Ce terme s'applique soit à la vérification et à la mesure périodiques de certaines variables biologiques ou relatives à la qualité de l'eau, soit au prélèvement et à l'essai d'échantillons pour la mesure de leur toxicité.

Termes désignant les substances servant aux essais

Contrôle - Traitement reproduisant l'ensemble des facteurs qui pourraient influencer les résultats d'une enquête ou d'une étude, à l'exception de la condition particulière faisant l'objet de cette étude. Dans un essai de toxicité aquatique, le contrôle doit reproduire toutes les conditions du ou des traitements d'exposition, sans porter sur la substance à expérimenter. Le contrôle est utilisé pour établir l'absence de toxicité mesurable en raison des conditions de base de l'essai (p. ex., salinité, température, santé des organismes soumis à l'essai ou effets dus à leur manipulation).

Eau d'essai - Eau de mer recouvrant la couche de sédiment dans les récipients d'essai. On utilise aussi cette eau, au besoin, pour la manipulation des sédiments (p. ex., pour le tamisage à l'eau), et elle sert d'eau de contrôle/de dilution pour les essais effectués en eau de mer seulement avec des produits toxiques de référence.

Eau de contrôle/de dilution - Eau utilisée pour diluer un produit chimique à expérimenter ou un produit toxique de référence, pour un contrôle constitué d'eau de mer seulement, ou comme eau d'essai dans les essais de toxicité de sédiments d'une durée de 10 jours.

Eau de dilution - Eau utilisée pour préparer concentrations particulières d'un produit toxique de référence ou d'un autre produit chimique à expérimenter (exposition en eau de mer seulement).

Eau de mer (ou marine) - Eau qui se trouve ou qui a été prélevée dans l'océan, dans la mer ou près des côtes, à un endroit où elle n'a pas subi de dilution appréciable par l'eau douce naturelle apportée par les cours d'eau.

Eau de mer non contaminée - Eau de mer qui ne contient pas de concentrations de produits toxiques pouvant causer des désordres observables chez les organismes soumis à l'essai ou réduire leur survie dans des essais d'une durée de 10 jours.

Eau de mer reconstituée - Eau douce à laquelle on a ajouté de la saumure hyperconcentrée en quantité voulue pour atteindre la salinité (et le pH) requis pour la détention ou l'acclimatation des organismes et pour l'exécution de l'essai.

Eau de porosité - Eau occupant l'espace entre les particules d'un sédiment. La qualité d'eau de porosité s'exprime en pourcentage de la masse du sédiment humide.

Eau déchlorée - Eau chlorée (généralement, eau potable municipale) qu'on a traitée afin d'en éliminer le chlore et ses composés.

Eau désionisée - Eau douce qu'on a purifiée pour en extraire les ions en la faisant circuler dans des colonnes de résine ou dans un système d'osmose inverse.

Eau distillée - Eau qu'on a traitée au moyen d'un appareil de distillation (au verre borosilicaté ou autre) pour en éliminer les impuretés.

Eau estuarienne - Eau saumâtre des parties côtières des océans résultant de la dilution mesurable de l'eau de mer par de l'eau douce apportée par les cours d'eau.

Élutriat - Solution aqueuse obtenue après avoir ajouté de l'eau à une substance solide (p. ex., sédiments, stériles, boues de forage ou de dragage), avoir agité le mélange, puis l'avoir centrifugé ou filtré ou avoir décanté le surnageant.

Produit chimique - Tout élément, composé, formule ou mélange de substances chimiques qui pourrait se retrouver associé à des sédiments ou à de l'eau ou y être mélangé ou ajouté.

Produit toxique de référence - Produit chimique étalon utilisé pour mesurer la sensibilité des organismes soumis à l'essai afin d'établir les limites de confiance des données de toxicité recueillies sur une substance à expérimenter. Dans la plupart des cas, on procède à un essai de toxicité sur un produit toxique de référence afin d'évaluer la sensibilité des organismes au moment de l'étude d'une substance à expérimenter, ainsi que la précision des résultats obtenus par le laboratoire pour ce produit.

Sédiment - Substance naturelle formée de particules qui ont été transportées au fond d'une masse d'eau et qui s'y sont déposées. Ce terme peut aussi désigner un substrat préparé de façon expérimentale, dans lequel les organismes soumis à l'essai peuvent s'enfouir.

Sédiment d'essai - Échantillon, prélevé sur le terrain, de sédiment en phase solide qui a été recueilli à un endroit qu'on croit contaminé par un ou plusieurs produits chimiques et qui doit servir à l'essai 10 jours sur des amphipodes. Dans certains cas, ce terme pourrait aussi s'appliquer à tout échantillon de sédiment utilisé dans l'essai (y compris les sédiments de contrôle et de référence).

Sédiment de contrôle - Sédiment non contaminé prélevé au même endroit que les organismes soumis à l'essai (ou lorsque ceux-ci sont élevés en laboratoire, identique au sédiment utilisé pour l'élevage). Ce sédiment ne doit pas contenir la substance à expérimenter et doit permettre un taux acceptable de survie des organismes soumis à l'essai pendant la durée d'exposition de 10 jours. Il s'agit généralement d'un échantillon de sédiment tamisé, prélevé au même endroit et en même temps que les amphipodes.

Sédiment de contrôle dopé - Sédiment de contrôle auquel on a ajouté une quantité précise d'un produit toxique de référence afin d'y obtenir, de façon homogène, une concentration particulière de ce produit.

Sédiment de référence - Échantillon de sédiment présumément *propre* (non contaminé) dont les propriétés (par exemple, granulométrie, densité, contenu organique total) sont très semblables à celles de l'échantillon ou des échantillons soumis à l'essai, sauf en ce qui concerne la teneur en contaminants chimiques. Ce sédiment est souvent prélevé sur un site non ou très peu influencé par la (les) source(s) de contamination mais qui se trouve à proximité de l'endroit (des endroits) où l'on a recueilli les échantillons soumis à l'essai.

Sédiment dopé - Sédiment de contrôle ou de référence ou autre sédiment non contaminé auquel on a ajouté une substance à expérimenter (p. ex., un produit chimique, un mélange de produits chimiques, ou encore des boues, des déblais de dragage ou des boues de forage contaminés), en mélangeant ensuite bien le tout.

Sédiment en phase solide - Sédiment entier, intact, utilisé pour l'exposition des amphipodes. Il ne s'agit pas d'une forme ou d'un dérivé de sédiment tel qu'un élutriat ou un sédiment remis en suspension.

Sédiment non contaminé - Sédiment qui ne contient pas de concentrations de produits toxiques pouvant causer des désordres observables chez les organismes soumis à l'essai ou réduire peur survie dans des essais d'une durée de 10 jours.

Sédiments remis en suspension - Sédiment qui a été mélangé énergiquement à l'eau de mer et qu'on a laissé décanter.

Solution mère - Solution aqueuse concentrée de la substance à expérimenter. On ajoute des volumes mesurés de la solution mère de à l'eau de dilution afin de préparer les solutions d'essai aux concentrations requises.

Substance - Type particulier de matière ayant des propriétés relativement uniformes.

Termes de toxicologie

Aigu - Qui a lieu dans un bref délai (de quelques secondes, minutes, heures ou jours) par rapport à la durée de la vie de l'organisme soumis à l'essais.

CE50 - Concentration efficace 50 (ou médiane). Il s'agit de la concentration d'une substance dans un sédiment (p. ex., en mg/kg ou en pourcentage de la masse) ou dans de l'eau (p. ex., en mg/L) qui est estimée avoir causé un effet toxique sublétal observable chez 50 % des organismes soumis à l'essai. On calcule généralement la CE50 et ses limites de confiance à 95 % par analyse statistique d'une réaction sublétale (p. ex., émergence ou inhibition de l'enfouissement dans les sédiment de contrôle) observée à diverses concentrations d'essai, après une durée d'exposition déterminée. Cette durée doit être précisée (p. ex., CE50 après 10 jours).

CL50 - Concentration létale 50 (ou médiane). Il s'agit de la concentration d'une substance dans un sédiment (p. ex., en mg/kg) ou dans de l'eau (p. ex., en mg/L) qu'on estime létale pour 50 % des organismes soumis à l'essai. On calcule généralement la CL50 et ses limites de confiance à 95 % par analyse statistique de la mortalité à diverses concentrations d'essai, après une durée d'exposition déterminée. Cette durée doit être précisée (p. ex., une CL50 après 10 jours).

Concentration sublétale - Concentration d'une substance à expérimenter qui n'entraîne pas la mort dans les conditions d'essai définies.

Effet sublétal - Effet nocif pour un organismes mais en deçà du niveau qui entraîne directement la mort au cours de l'essai.

Essai à renouvellement continu - Essai de toxicité pendant lequel les solutions des récipients d'essai sont renouvelées en continu par l'apport constant d'une solution fraîche ou par un apport intermittent fréquent.

Essai de toxicité - Détermination de l'effet d'une substance sur un groupe d'organismes choisis appartenant à la même espèce (p. ex., *Rhepoxynius abronius*), dans des conditions définies. Un essai de toxicité aquatique permet généralement de mesurer soit la proporation des organismes sont affectés par l'exposition à un substance particulière telle qu'un échantillon de sédiment (effect de type "tout ou rien"), soit l'intensité de l'effet observé (effet mesurable).

Essai statique - Essai de toxicité pendant lequel les solutions d'essai ne sont pas renouvelées.

Létal - Qui entraîne la mort par action directe. Dans le cas des amphipodes, on entend par "mort" la cessation de tous les signes visibles de mouvement ou d'activité (p. ex., absence de tremblement des pléopodes).

Résultat - Variable (p. ex., le délai, la réaction des organismes soumis à l'essai) qui indique la fin de l'essai; mesure ou valeur dérivée caractérisant l'effet de la substance soumise à l'essai (p. ex., CE50, CL50, etc.).

Sublétal - Nocif pour les amphipodes, mais en deçà du niveau qui entraîne directement la mort au cours de l'essai.

Toxicité - Capacité propre d'une substance de provoquer des effets nocifs chez des organismes vivants.

Toxicité aiguë - Effet nocif observable (létal ou sublétal) provoqué chez les organismes soumis à l'essai après une brève période d'exposition à une substance (dans le cas présent, $\leq$10 jours).

Remerciements

Le présent document a été rédigé en collaboration par D.J. McLeay (McLeay Associates Ltd., West Vancouver, C.-B.) et J.B. Sprague (Sprague Associates Ltd., Guelph, Ont.). Il est fondé sur des rapports antérieurs qui décrivent des méthodes et les conditions adoptées aux États-Unis pour exécuter des essais statiques d'une durée de 10 jours sur certaines espèces d'amphipodes fouisseurs marins ou estuariens (Swartz et al., 1985; EPA, 1990; ASTM, 1991a). MM. G. Sergy et R. Scroggins (Protection de l'environnement, Conservation et Protection, Environnement Canada [EC]) ont fait fonction de responsables scientifiques et ont apporté leur collaboration et leurs conseils techniques pendant la durée des travaux.

Les membres du Groupe intergouvernemental sur la toxicité (GITA) (cf. annexe A) ont participé activement à l'élaboration et à l'examen du rapport et méritent tous nos remerciements. Nous tenons à souligner en particulier l'apport technique considérables des membres du sous-comité du GITA qui a assuré la première et de la dernière révision du rapport : E. Bousfield (Royal British Columbia Museum, Victoria, C.-B.), P. Chapman (EVS Consultants Ltd., North Vancouver, C.-B.), K. Day (EC, Burlington, Ont.), K. Doe (EC, Laboratoire de l'Atlantique, Dartmouth, N.-É), L. Porebski (EC, Ottawa, Ont.), R. Scroggins (EC, Ottawa, Ont.), G. Sergy (EC, Edmonton, Alb.), R. Swartz (EPA, Newport, OR), P. Wells (EC, Dartmouth, N.-È.) et S. Yee (EC, Laboratoire du Pacifique et du Yukon, North Vancouver, C.-B.) M.E. Bousfield, PhD., a été le principal responsable de la sélection et de l'identification des organismes pouvant être soumis à l'essai, et il a fourni la plus grande partie des renseignements concernant leur cycle biologique et leur distribution. Nous remercions M.K. Conlan, PhD., et M^{me} D. Laubitz, du Musée canadien de la nature (Ottawa, Ont.), pour les références et les renseignements utiles qu'ils nous ont fournis concernant la biologie des amphipodes et leur distribution au Canada. Les sociétés Harris Industiral Testing Services Ltd. (Hants Co., N.-É.), EVS Consultants Ltd. et Northwestern Aquatic Servies (Newport, OR) ont recueilli les populations d'amphipodes utilisées pour les évaluations en laboratoire visant à choisir les organismes soumis à l'essai. Nous tenons également à remercier les équipes des laboratoires d'essai d'Environnement Canada, soit le laboratoire régional de l'Atlantique (K. Doe, S. Wade, A. Huybers) et celui du Pacifique et du Yukon (S. Yee, S. van der Geest, S. Clee) (cf. annexe B), ainsi que de EVS Consultatns Ltd. (C. McPherson, B. Keleman).

Les personnes suivantes, qui ont passé en revue la version définitive, ont apporté des observations et des conseils à la fois nombreux et utiles : G. Atkinson (EC, Ottawa, Ont.), S. Bay (Southern California Coastal Water Research Project, Long Beach, CA), G.A. Burton (Wright State University, Dayton, OH), C. Cairncross (National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, WA), J.M. Lazorchak (EPA, Cincinnati, OH), P. Murdoch (EC, Ottawa, Ont.), R. Parrish (SETAC, Pensacola, FL), D.J. Reish (California State University, Long Beach, CA), M. Smith (TAI Ltd., Cincinnati, OH), S. Wade (EC, Dartmouth, N.-É.), R. Waters (Castor Consultants, Vancouver, C.-B.) Et T. Wiederholm (Statens Naturvardsverk, Stockholn, Suède).

Les photographes de la page couverture ont été fournies par M. Stewart Yee, du laboratoire de toxicologie aquatique de la région du Pacifique et du Yukon d'Environnement Canada, et par M. Ken Doe, de la Division des laboratoires de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada.

Introduction

1.1 Contexte

Au Canada et ailleurs, on se sert d'essais de toxicité aquatique pour mesurer, prévoir et contrôler le rejet de substances qui pourraient être nocives pour les organismes aquatique indigènes, et pour déterminer et surveiller les effets toxiques de ces substances sur le milieu récepteur (eau et sédiments). On ne peut s'attendre à ce qu'un seul organisme ou une seule méthode d'essai répondent aux besoins d'une démarche globale en matière de conservation et de protection de l'environnement. C'est pourquoi le Groupe intergouvernemental sur la toxicité aquatique (GITA, *cf.* annexe A) a proposé un ensemble d'essais de toxicité aquatique qui seraient généralement acceptables et qui permettraient de mesurer différents types d'effets toxiques au moyens de diverses substances. Des échantillons de produits chimiques, d'effluents, de milieux récepteurs ou de sédiments sont utilisés pour ces essais, de même que des organismes représentant différents niveaux trophiques et groupes taxinomiques (Sergy, 1987). Un essai d'une durée de 10 jours destiné à mesurer la létalité aiguë de sédiments chez l'amphipode endofaunique marin *Rhepoxynius abronius* (Swartz *et al.,* 1985a) était l'un des essais de base qu'on a choisi de normaliser en 1987 de façon à respecter les exigences d'Environnement Canada en matière d'essais. Récemment, les laboratoires régionaux d'Environnement Canada (*cf.* annexe B) on étudié la sensibilité et la performance de différents essais de sédiments d'une durée de 10 jours effectués sur *R. abronius* et sur d'autres espèces d'amphipodes endofauniques marins ou estuariens que l'on trouve communément dans les eaux littorales canadiennes.

Le présent rapport décrit des méthodes universelles qui s'appliquent à tout essai visant à évaluer la toxicité aiguë de sédiments chez une ou plusieurs des espèces d'amphipodes foussieurs qu'on retrouve dans les eaux littorales canadiennes (océans Atlantique, Pacifique et Arctique). On y présente également des ensembles particuliers de conditions et de méthodes qui sont prescrits ou recommandés lorsque l'essai est effectué pour évaluer différents types de substances. La figure 1 donne une idée d'ensemble des méthodes universelles décrites dans les présent rapport ainsi que des méthodes particulières applicables aux essais d'échantillons de sédiments prélevés sur le terrain, de substances solides assimilées, de produits chimiques, ou de mélanges de produits chimiques et de sédiments.

La méthode d'essai biologique présentée ci-après est fondée en grande partie sur la méthode mise au point par l'Environnemental Protection Agency des États-Unis (EPA) pour évaluer, sur une durée de 10 jours, la toxicité de sédiments marins chez l'espèce *R. abronius* (Swartz *et al.*, 1985a), ainsi que sur les documents préparés par la suite par l'American Society for Testing and Materials (ASTM, 1991a,b) et par l'EPA (1990, 1994a). Elle a été élaborée après une étude des écarts relevés dans les documents canadiens et américains décrivant les méthodes applicables à des essais d'une durée de 10 jours effectués sur des amphipodes (*cf.* annexe C); les auteurs ont

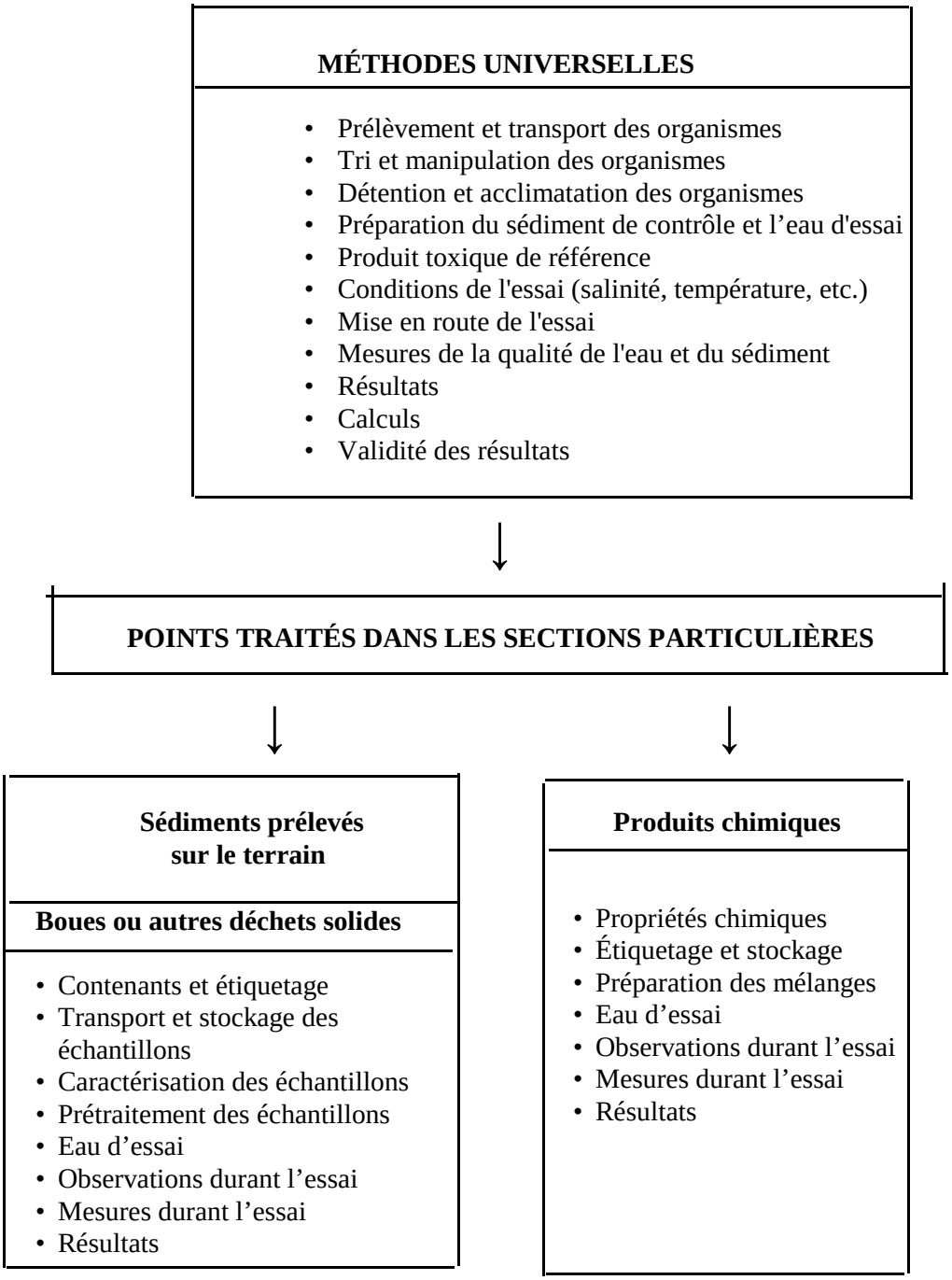


Figure 1 Schéma de la démarche adoptée pour définir les conditions et méthodes d'essai adaptée à différents types de substances

également étudié les rapports et les publications auxquels ils ont pu avoir accès et qui traitaient de sujets connexes (McLeay et Sprague, 1991).

Les modifications apportées en octobre 1998 reflètent les améliorations méthodologiques apportées depuis 1992 et visent à assurer que cette méthode est compatible avec la méthode de référence d'Environnement Canada pour la mesure de la toxicité de sédiments au moyen d'amphipodes marins ou estuariens (EC, 1998a).

Le résultat biologique de l'essai est le pourcentage de survie au dixième jour. On peut aussi obtenir des résultats additionnels (sublétaux), soit le pourcentage des amphipodes survivants qui émergent des sédiments le dixième jour (c.-à-d., qui ont une réaction d'évitement) et (ou) le pourcentage de ceux qui sont capables de s'enfouir dans les sédiments de contrôle après y avoir été transférés. L'essai a pour but d'évaluer la toxicité d'échantillons de sédiments marins ou estuariens, de produits chimiques, de boues industrielles ou municipales ou de déchets solides du genre dont on envisage le rejet en milieu marin ou estuarien. D'autres essais et organismes apparentés (p. ex., ASTM, 1991c) qui utilisent des sédiments ou des matériaux provenant de milieux dulcicoles, conviennent à l'évaluation de la toxicité de sédiments d'eau douce chez les organismes aquatiques indigènes.

En décrivant les méthodes ci-après, on s'est efforcé de mettre en balance des considérations scientifiques, pratiques et financières, en plus de veiller à ce que les résultats soient assez exacts et précis pour la majorité de leurs cas d'application. Les auteurs ont postulé que le lecteur connaît déjà, dans une certaine mesure, les essais de toxicité aquatique. Le présent document ne renferme pas d'instructions explicites comme celles qui pourraient s'avérer nécessaires dans un protocole réglementaire particulier; néanmoins, il est destiné à servir de document d'orientation pour cette application et d'autres utilisations.

1.2 Utilisation antérieure de l'essai

Les essai de sédiments effectués sur des organismes appropriés, y compris des amphipodes, sont de plus en plus reconnus et acceptés comme des outils efficaces permettant de déterminer l'importance biologique de la contamination touchant les sédiments littoraux. Les amphipodes constituent un groupe abondant dans les communautés benthiques des milieux estuariens et marins, et ils sont une sources importante de nourriture pour certaines espèces de baleines et pour de nombreuses espèces d'oiseaux, de poissons et de gros invertébrés. Bien que certaines espèces d'amphipodes se nourrissent d'invertébrés benthiques de plus petite taille, beaucoup d'amphipodes fouisseurs ou tubicoles ingèrent des particules de sédiments et sont ainsi directement exposés aux contaminants qui s'y trouvent associés. Selon l'ASTM (1991a) : "L'importance écologique des amphipodes, leur vaste distribution géographique, la facilité avec laquelle ils peuvent être manipulés en laboratoire ainsi que leur sensibilité aux sédiments contaminés en font des organismes appropriés pour les essais de toxicité de sédiments."

En 1985, des chercheurs de l'EPA ont publié une méthode normalisée l'essai de toxicité de sédiments, d'une durée de 10 jours, sur l'amphipode endofaunique marin *Rhepoxynius abronius* (Swartz *et al.*, 1985a). Cet essai, réalisé avec *R. abronius* et d'autres espèces d'amphipodes marins ou estuariens,

est très utilisé par les chercheurs et les organismes de réglementation américains afin d'évaluer la distribution spatiale et temporelle de contaminants dans les sédiments marins (Ott *et al.,* 1982; Swartz *et al.,* 1982, 1985b, 1986; Long, 1983; Chapman et Becker, 1986; Kemp *et al.,* 1986). Il peut aussi servir à d'autres fins, notamment à déterminer si des déblais de dragage ou d'autres déchets solides peuvent êtres déversés dans la mer (Swartz *et al.,* 1984; Chapman, 1986, 1988; Scott *et al.,* 1990a); on peut également tirer parti de sa capacité de mesurer la toxicité de produits chimiques particuliers lorsqu'ils sont mélangés à des sédiments et y sont fixés par adsorption (Swartz *et al.,* 1985c; Kemp et Swartz, 1988; Plesha *et al.,* 1988; Swartz *et al.,* 1988; Word et Ward, 1991).

L'essai d'une durée de 10 jours visant à évaluer la toxicité de sédiments marins chez *R. abronius* est actuellement l'essai de toxicité de sédiments le mieux défini. Une comparaison des résultats de l'essai, tel qu'exécuté par cinq laboratoires différents avec sept sédiments marins, a montré une concordance acceptable des données de toxicité obtenues (Mearns *et al.,* 1986). On a évalué la sensibilité de cet essai par rapport à celle d'essais sur des élutriats de sédiments et d'essais en phase solides sur d'autres espèces d'invertébrés marins (p. ex., des essais de fécondation et de développement d'oursins de mer, des essais de développement de moules bleues, des essais de luminescence bactérienne (Microtox^{MC}) et des essais sur des larves d'huîtres ou des polychètes); on a alors conclu que l'essai d'une durée de 10 jours sur *R. abronius* est parmi les plus sensibles (Williams *et al.,* 1986; Long et Buchman, 1989; Pastorak et Becker, 1989; Long *et al.,* 1990; Tay *et al.,* 1991; Chapman *et al.,* 1991).

S'il est utilisé conjointement avec des mesures chimiques d'échantillons de sédiments et avec des études sur le benthos marin visant à déterminer les effets biologiques, *in situ,* l'essai de 10 jours sur des amphipodes peut permettre une détermination spatiale ou temporelle de la dégradation de l'environnement marin due à la contamination (Long et Chapman, 1985; Chapman *et al.,* 1986, 1987, 1991; Cross *et al.,* 1991; Dexter, 1991). Un certain nombre d'études ont montré que les résultats obtenus en laboratoire sur *R. abronius* avec des sédiments prélevés sur le terrain sont en corrélation positive avec les observations sur le terrain concernant la densité des amphipodes et la diversité des espèces (Swartz *et al.,* 1982, 1985b; Swartz, 1987). Des études plus approfondies de validation sur le terrain ont généralement révélé une réduction significative de la richesse et de l'abondance des communautés macrobenthiques, lorsque les sédiments présentaient une toxicité aiguë chez *R. abronius* ou d'autres espèces d'amphipodes endofauniques et qu'ils contenaient de fortes concentrations de contaminants chimiques (Swartz *et al.,* 1985b, 1986; Chapman, 1986; Swartz, 1987; Becker *et al.,* 1990); certaines exceptions ont cependant été signalées (Scott, 1991; Shimek *et al.,* 1991).

La méthode de Swartz *et al.* (1985a) a été adoptée, avec de légères modifications, par l'ASTM (1991a) et par les scientifiques et les autorités de réglementation de l'EPA (DeWitt *et al.,* 1989; Scott *et al.,* 1990a; EPA, 1990), en tant que méthode normalisée d'évaluation de la toxicité de sédiments marins ou estuariens. Au Canada, l'essai est utilisé depuis plusieurs années par certains

chercheurs (p. ex., Chapman *et al.,* 1982; Chapman et Fink, 1983), et il a été étudié récemment dans les laboratoires régionaux d'Environnement Canada[1] (McLeay *et al.,* 1989, 1991; Nicol et Doe, 1990; Paine et McPherson, 1991a,b; Tay *et al.,* 1991).

Les chercheurs canadiens qui connaissent cet essai ont recommandé qu'il soit utilisé de façon courante pour la mesure et l'évaluation de la toxicité de sédiments marins ou de déchets solides qu'on envisage de déverser dans la mer (Konasewich *et al.,* 1986; Chapman, 1988; Cross *et al.,* 1991).

1.3 Espèces d'amphipodes étudiées et recommandées

On a étudié la performance en laboratoire et la sensibilité de diverses espèces d'amphipodes fouisseurs de sédiments marins ou estuariens autres que *R. abronius*, en suivant la méthode d'essai de 10 jours normalisée par Swartz *et al.* (1985a). Des scientifiques américains, y compris ceux travaillant avec l'Environmental Research Laboratory de l'EPA à Narragansett (RI), utilisent actuellement l'amphipode marin *Rhepoxynius hudsoni*[2], de la famille des Phoxocephalidae (Scott *et al.,* 1990a, b), ainsi que l'amphipode tubicole euryhalin *Ampelisca abdita*[3] (Breteler *et al.,* 1989; Long et Buchman, 1989; Long *et al.,* 1990; Scott *et al.,* 1990a, b) pour des essais de toxicité de sédiments. L'amphipode tubicole *Grandidierella japonica*[4], de la famille des Corophiidae, a été utilisé récemment dans le sud-ouest des États-Unis (en Californie) pour les essais en phase solide sur des sédiments (Nipper *et al.,* 1989; Carr et Chapman, 1990). Une espèce d'amphipode marin quelque peu euryhaline et appartenant à la famille des Haustoriidae, *Eohaustorius washingtonianus*[5] (Bosworth, 1976), a été utilisée à l'occasion dans des essais portant sur de l'eau de mer seulement (Meador *et al.,* 1991); et sur des sédiments (Ott *et al.,* 1982); récemment, elle a aussi été utilisée par des chercheurs canadiens (Paine et McPherson, 1991a, b). Un amphipode euryhalin apparenté, *Eohaustorius estuarius*[6], a été étudié de manière plus poussée dans le cadre d'essais de 10 jours sur des sédiments (DeWitt *et al.,* 1989; Pastorak et Becker, 1989); des scientifiques canadiens l'ont utilisé récemment dans des essai portant sur différentes espèces simultanément (Paine et McPherson, 1991a, b). Des chercheurs canadiens ont également évalué la performance et la sensibilité de l'amphipode de la côte ouest *Foxiphalus xiximeus*[7], de la famille des Phoxocephalidae (Paine et McPherson, 1991a, b), et des espèces suivantes provenant de la côte est :

---

[1] Les adresses de ces laboratoires sont données à l'annexe B.

[2] Se retrouve dans les eaux littorales du sud du Maine à la Caroline du Nord (Bousfield, 1973).

[3] Se retrouve sur la côte est, du Maine jusqu'au centre-sud de la Floride et dans la partie est du golfe du Mexique (Mills, 1964; Bousfield, 1973) ainsi que sur la côte ouest, dans la baie de San Francisco (Long *et al.,* 1990).

[4] Se retrouve en Californie, de Long Beach à la baie de San Francisco (ASTM, 1991a).

[5] Se retrouve sur la côte ouest de l'Amérique du Nord, de l'Oregon au sud-ouest de l'Alaska (Bousfield, 1990a).

[6] Se retrouve dans la partie ouest de l'Amérique du Nord, du centre de la Californie aux îles de la Reine-Charlotte (C.-B.) (ASTM, 1991a; Bousfield, 1990a).

[7] Se retrouve dans la partie ouest de l'Amérique du Nord, du sud de la Californie au sud-est de l'Alaska et aux îles Aléoutiennes (Bousfield, 1990a).

Corophium volutator[8] (Nicol et doe, 1990; McLeay *et al.*, 1991; Tay *et al.*, 1991; Paine et McPherson, 1991a, b); *Amphiporeia virginiana*[9] (Doe et Wade, 1991; Paine et McPherson, 1991a, b); et *Leptochirus pinguis*[10] (Paine et McPherson, 1991b).

L'ASTM a recommandé l'utilisation des espèces suivantes d'amphipodes marins ou estuariens pour les essais de 10 jours sur des sédiments : *Ampelisca abdita, Eohaustorius estuarius, Grandidierella japonica* et *Rhepoxynius abronius* (ASTM, 1991a). Dans la région 10 de l'EPA (Seattle, WA), les règlements exigent l'utilisation de *R. abronius* ou de *E. estaurius* pour les essais de 10 jours portant sur les sédiments du Puget Sound (EPA, 1990).

Un certain nombre d'espèces d'amphipodes fouisseurs marins ou estuariens, que l'on trouve communément dans les eaux littorales canadiennes, sont recommandées dans le présent rapport comme pouvant convenir à des essais statiques d'une durée de 10 jours portant sur des échantillons de sédiments prélevés sur le terrain, de sédiments dopés avec des produits chimiques, de boues ou d'autres déchets solides. Ces espèces *(A. virginiana, C. volutator, E. estuarius, E. washingtonianus, F. xiximeus, L. pinguis* et *R. abronius)* ont été choisies parce qu'elles possèdent les caractéristiques suivantes : distribution dans l'ensemble des eaux littorales canadiennes (océans Atlantique, Pacifique et Arctique); tolérance (variant selon l'espèce) à une gamme de degrés de salinité, en milieu tant estuarien que marin; sites de prélèvement connus et facilité du prélèvement et de la manipulation; disponibilité saisonnière; capacité d'adaptation aux conditions en laboratoire; taux de survie élevé dans des conditions contrôlées; sensibilité aux sédiments contaminés; faible sensibilité aux variations naturelles entre les sédiments; et utilisation actuelle par de nombreux chercheurs en Amérique du Nord et ailleurs.

Les amphipodes appartenant au sous-ordre des Gammarides comprennent près de 85 % des espèces connues d'amphipodes marins ou estuariens, y compris toutes les espèces recommandées pour cet essai (*cf.* 2.1). L'anatomie de base des amphipodes gammaridiens est illustrée à l'annexe D. Les annexes E à K présentent, pour chaque espèce, un résumé des données connues concernant la distribution géographique, l'habitat, le cycle biologique, l'anatomie, l'aspect, le comportement, la tolérance aux variables environnementales naturelles ainsi que la tolérance aux contaminants. La liste des organismes convenant à l'exécution d'essai pourrait subir des modifications avec l'évolution de la recherche.

---

[8] Espèce estuarienne tubicole, de la famille des Corophiidae, qui se retrouve le long de la côte de l'Atlantique Nord en Europe et, en Amérique du Nord, seulement dans la baie de Fundy au sud de Yarmouth (N.-É.) et dans la baie de Casco (Maine) (Bousfield, 1973).

[9] Amphipode marin de la famille des Pontoporeiidae qui se retrouve de l'est de la Nouvelle-Écosse à la Caroline du Nord (Boudfield, 1973).

[10] Amphipode tubicole de la famille des Corophiidae qui se retourve dans les estuaires de la côte est de l'Amérique du Nord, du sud du Labrador, à la Virginie (Bousfield, 1973).

Organismes soumis à l'essai et acclimatation

2.1 Espèces

L'utilisation des espèces suivantes d'amphipodes endofauniques marins ou estuariens est recommandée pour l'essai :

Pacifique/Artique

Eohaustorius estuarius
Eohaustorius washingtonianus
Foxiphalus xiximeus
Rhepoxynius abronius

Atlantique/Arctique

Amphiporeia virginiana
Corophium volutator
Leptocheirus pinguis

Le choix de l'une ou plusieurs de ces sept espèces pour une étude donnée doit prendre en considération les propriétés physico-chimiques connues ou anticipées du matériau soumis à l'essai (p. ex., granulométrie, salinité de l'eau de porosité, teneur en ammoniaque de l'eau de porosité) ainsi que les limites de tolérance des organismes retenus à ces propriétés. Les espèces choisies devraient en particulier tolérer la granulométrie et la salinité de l'eau de porosité du matériau soumis à l'essai, et l'expérimentateur devrait s'en assurer s'il veut obtenir des résultats probants. Les annexes E à K donnent des renseignements utiles sur les limites connues de tolérance de chaque espèce aux variables des matériaux sans rapport avec les contaminants, y compris la salinité et la granulométrie. Il est conseillé de consulter les annexes D à G de la publication d'Environnement Canada (1998a) pour des renseignements plus récents sur *R. abronius*, *E. washingtonianus*, *E. estuarius* et *A. virginiana*.

Les annexes E à K offrent des conseils en ce qui a trait au choix de l'espèce à employer pour un essai. L'espèce devrait être confirmée par un taxinomiste habitué à identifier des amphipodes marins ou estuariens.

2.2 Stade du cycle biologique et taille

L'investigateur devrait savoir que *F. xiximeus* et *L. pinguis* n'ont été que très peu testés au moyen de cette méthode d'essai et que l'on sait peu de choses sur leurs limites de tolérance aux variables sans rapport avec les contaminants, y compris la salinité et la granulométrie. *A. virginiana* et *E. washingtonianus* se sont montrés très sensibles au choc thermique et à la manipulation (Doe et Wade, 1991; Paine et McPherson, 1991a,b). Des soins particuliers devraient donc être apportés lors du prélèvement, du transport et de l'acclimatation de ces deux espèces. L'espèce des organismes retenus devrait être confirmée par un taxinomiste habitué à identifier des amphipodes marins ou estuariens.

2.3 Source

Tous les amphipodes utilisés pour un essai doivent provenir de la même population et du même site. Les organismes soumis à l'essai ont normalement été prélevés récemment dans une population sauvage vivant dans un endroit non contaminé, bien

qu'il puisse être possible d'élever certaines espèces ou de les détenir en laboratoire pour une période prolongée. On recommande la première façon de procéder jusqu'à ce qu'il soit possible de démontrer que la sensibilité aux produits toxiques de référence ou aux sédiments contaminés n'est pas modifiée de façon de appréciable chez des animaux élevés en laboratoire par rapport à des spécimens prélevés récemment, comme ce pourrait être le cas si les méthodes ou les conditions d'élevage n'étaient pas optimales (Robinson *et al.,* 1988; McLeay *et al.,* 1989).

2.4 Prélèvement, manipulation et transport

Selon l'espèce choisie, la saison et le site de prélèvement, les amphipodes devant être soumis à l'essai peuvent être prélevés à l'aide d'une benne (p. ex., Smith-McIntyre ou van Veen) ou d'une petite drague biologique dans la zone infratidale, ou encore d'une pelle dans la zone intertidale. Si l'on utilise une drague, il est recommandé de la traîner sur une courte distance ($\leq$10 m) afin de minimiser les dommages aux animaux (Swartz *et al.,* 1985a). Il faut prélever un nombre de spécimens d'au moins un tiers plus élevé que celui requis pour l'essai. Pour qu'un site de prélèvement soir choisi, il faudrait qu'on ait établi au préalable l'abondance d'organismes présentant la taille et l'âge voulus, et que l'espèce ait été confirmé de façon taxinomique (p. ex., Bousfield, 1973; Barnard et Barnard, 1982).

On devrait mesurer et consigner la salinité et la température de l'eau de mer au site de prélèvement, en surface et au fond. Pour le transport des amphipodes, on utilise généralement les récipients servant à la détention et l'acclimatation des organismes en laboratoire. Les boîtes à aliments en plastique ou des seaux de plastique avec couvercle étanche peuvent convenir. Une épaisseur d'au moins 2 à 4 cm (ou plus) de sédiments passés à travers un tamis à mailles de 0,5 à 1,0 mm[11] et provenant de l'endroit où les organismes sont prélevés, devrait être placée dans le fond du (des) récipient(s), sur le site de prélèvement. Recouvrir ensuite les sédiments d'une couche de $\geq$2 cm d'eau prélevée au même endroit. Les amphipodes tamisés des autres parties aliquotes de sédiments prélevés sont ensuite transférés délicatement dans le (les) récipient(s). On devrait compter et consigner le nombre d'organismes déposés dans chaque récipient. La densité d'amphipodes dans un récipient donné ne devrait pas être supérieure à 1 amphipode/cm^2.

Une portion supplémentaire de sédiments tamisés (mailles de 0,5 à 1,0 mm) provenant du site de prélèvement des amphipodes devrait être livrée au laboratoire pour servir de sédiments de contrôle et pour les analyses physico-chimiques (*cf.* 3.4).

Selon les conditions et la durée du transport il pourrait s'avérer nécessaire durant le trajet de refroidir le contenu des récipients (à l'aide de sacs réfrigérants), de maintenir une température fraîche (à l'aide d'une glacière) ou d'aérer la couche d'eau de mer recouvrant les sédiments. Tout l'équipement et tous les contenants utilisés pour le prélèvement, le tamisage et le transport des organismes et des sédiments doivent être propres et faits de matériaux non toxiques (cf. 2.5.2). Ils doivent être utiliés exclusivement pour la manipulation et le transport d'animaux vivants et de sédiments de contrôle. Les contenants et le reste de l'équipement servant

[11] La dimension des mailles du tamis devrait être légèrement inférieure à la taille minimale des amphipodes devant être soumis à l'essai (*cf.* annexes E à K pour les tailles acceptables pour chaque espèce).

au prélèvement devraient être nettoyés et rincés avec de l'eau distillée, de l'eau désionisée, de l'eau de laboratoire déchlorée, de l'eau de mer reconstituée ou de l'eau de mer naturelle provenant du site de prélèvement ou d'une source non contaminée.

La manipulation des amphipodes sur le terrain et en laboratoire devrait être réduite au minimum. Les organismes devraient être manipulés doucement à l'aide d'un tamis plongé dans l'eau de mer et agité lentement, ou à l'aide d'une pipette de grand calibre[12]. Les organismes passés au tamis dans l'eau de mer. La manipulation devrait se faire avec soin et rapidité afin de minimiser le stress pour les animaux. Les amphipodes qu'on laisse tomber et ceux qui sont blessés ou qui entrent en contact avec des surfaces sèches doivent être rejetés.

2.5 Détention et acclimatation

Le tableau 1 donne une liste de contrôle sommaire des conditions et des méthodes recommandées pour la détention et l'acclimatation des amphipodes en laboratoire.

2.5.1 Tri et détention des organismes

Il est déconseillé de procéder au tamisage et au tri des amphipodes en laboratoire au moment de leur réception ou à n'importe quel temps avant le jour où l'essai est mis en route, vu que cela peut stresser inutilement les organismes. On devrait, après réception des organismes au laboratoire, mesurer et inscrire la qualité de l'eau qui recouvre les sédiments (c.-à-d., température, salinité, teneur en oxygène dissous et pH) dans l'un ou plusieurs des récipients contenant les organismes recueillis sur le terrain et les sédiments provenant du site de prélèvement. Il faudrait compter et éliminer tous les organismes morts observés à la surface des sédiments, et retirer tous les détritus visibles.

Afin de déranger au minimum les amphipodes, on recommande de les détenir et de les acclimater dans le(les) récipient(s) utilisés pour la collecte et le transport des organismes. Une autre façon de procéder consiste à retirer doucement et sans les tamiser les sédiments (et les amphipodes enfouis) du(des) récipients utilisés pour la collecte et de les transférer dans une plus grande cuve d'acclimatation/de détention. Cette méthode est utile lorsqu'on juge que les sédiments contiennent trop d'organismes et qu'il faut en réduire le nombre (c.-à-d., pour assurer une densité de $\leq$1 amphipode/cm^2, sous-section 2.3) et qu'on veut accroître la surface active.

Au cours de la période de détention et d'acclimatation, les amphipodes ne devraient pas être alimentés et devraient être conservés dans une couche d'au moins 2 à 4 cm (ou plus) de sédiments tamisés provenant du site de prélèvement. Les sédiments devraient être recouverts d'au moins 2 cm d'eau Si la durée de détention/ d'acclimatation dépasse deux jours, l'eau de recouvrement devrait être renouvelée en continu ou périodiquement (c.-à-d., quotidiennement ou tous les deux jours). Utiliser pour cela de l'eau de mer fraîche saturée en air et présentant les conditions requises de température et de salinité.

2.5.2 Installations

Les amphipodes devraient être détenus et acclimatés aux conditions de l'essai dans un laboratoire. L'alimentation en air devrait être exempte de poussières et d'odeurs

[12] Une pipette de verre jetable dont l'extrémité d'éjection est coupée et polie à la flamme afin d'assurer une ouverture de 5 mm peut servir aux transferts, à moins que les amphipodes ne soient trop gros.

Tableau 1 Liste de contrôle des conditions et méthodes recommandées pour la détention et l'acclimatation des amphipodes

Source	Sédiments non contaminés de la zone infratidale ou de la zone intertidale.
Stade du cycle biologique	Juvéniles ou jeunes adultes.
Détention des amphipodes	Ne pas tamiser ou trier les amphipodes avant le jour où l'essai doit commencer; conserver normalement dans le(les) récipient(s) de transport; densité de ≤ 1 amphipode/cm^2; détenir les organismes dans des sédiments tamisés (mailles de 0,5 à 1,0 mm) provenant du site où ils ont été recueillis et recouverts d'une couche de ≥ 2 cm d'eau.
Sédiments servant à la détention	Couche de 2 à 4 cm de sédiments provenant du site de collecte (de contrôle), tamisés (mailles de 0,5 à 1 mm) sur le terrain.
Eau de mer servant à la détention	Eau de mer reconstituée ou eau de mer naturelle non contaminée.
Conditions d'acclimatation	Eau de mer ayant les caractéristiques suivantes : salinité égale à celle de l'eau qui recouvrira le sédiment durant l'essai; température normalement de 15 ± 2° C; et teneur en oxygène dissous de 90 à 100 % de la valeur de saturation en air. On mesure la température et la salinité quotidiennement durant la période d'ajustement initiale [≤ 3° C/d, ≤ 5 g/(kg · d)]; par la suite, on mesure et on consigne la température, la salinité, le pH et l'oxygène dissous au moins au début et à la fin de la période restante d'acclimatation.
Éclairage	Éclairage constant par le haut (lampe fluorescente ou à spectre étendu équivalent); 500 à 1000 lux adjacent à la surface de la couche d'eau de recouvrement dans les récipients de détention/d'acclimatation.
Alimentation	Aucune.
Durée de l'acclimatation	De 2 à 10 jours, à partir du moment où la température et la salinité correspondent à celles de l'eau d'essai.
Choix des organismes d'essai	Retirer et rejeter les amphipodes inactifs qui ont émergé des sédiments ou qui ne s'y enfouissent pas à quelque moment que ce soit au cours de la période d'acclimatation; le jour de l'essai, choisir des amphipodes actifs et apparemment sains et dont l'aspect et le comportement sont typiques à l'espèce (voir annexes E à K); rejeter tous les organismes ayant un aspect ou un comportement atypique.

détectables. Idéalement, l'installation de détention devrait être isolée de l'installation d'essai, afin de réduire le risque que les amphipodes soient exposés à des substances volatiles provenant de sédiments contaminés.

Les récipients de détention devraient être placés dans l'un des contenants suivants : un réservoir ou un bassin où de l'eau de mer peut s'écouler; un grand aquarium (p. ex., de 60 à 100 L) contenant de l'eau de mer reconstituée ou de l'eau de mer naturelle non contaminée qui n'est pas renouvelée; ou un aquarium de dimensions plus petites (p. ex., de 20 à 40 L) contenant de l'eau de mer renouvelée périodiquement (p. ex., à 50 % chaque jour). On peut aussi les placer dans une installation séparée présentent les conditions requises de température et d'éclairage. L'eau de mer dans laquelle sont submergés les contenants de détention devrait être aérée (*cf.* 2.5.7).

Tous les récipients et les accessoires qui pourraient entrer en contact avec les organismes, le sédiment de contrôle ou l'eau de mer lors du tri, de la manipulation, de la détention ou de l'acclimatation doivent être propres, rincés et faits de matériaux non toxiques (p. ex., verre, acier inoxydable, Nalgene^{MC}, nylon, porcelaine, polyéthylène, polypropylène, fibre de verre). Des matériaux comme le cuivre, le zinc, le laiton, le métal galvanisé, le plomb et le caoutchouc naturel ne doivent pas entrer en contact avec cet équipement, ni avec l'eau de mer, les récipients d'essai et les échantillons de sédiments de contrôle, de référence ou d'essai.

2.5.3 Éclairage

L'installation où sont détenus et acclimatés les amphipodes devrait être bien éclairée, l'éclairement étant de 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement. On devrait utiliser des lampes fluorescentes (ou à spectre étendu équivalent); l'éclairage doit être constant et continu pendant toute la période de détention ou d'acclimatation.

2.5.4 Eau

Selon la nature et l'objectif de l'essai (*cf.* sections 5 et 6), la détention et l'acclimatation des amphipodes peuvent se faire à l'aide d'eau de mer naturelle non contaminée ou d'eau de mer reconstituée.

On devrait préparer de l'eau de mer reconstituée en ajoutant, en quantité suffisante pour obtenir la salinité souhaitée, de la saumure hyperconcentrée (SHC) à de l'eau douce de qualité satisfaisante. On recommande l'utilisation de la SHC préparée avec une source d'eau de mer naturelle non contaminée (EC, 1997). On peut aussi préparer de la saumure hyperconcentrée au moyen de sels de mer secs disponibles dans le commerce (p. ex., Instant Ocean^{MC}) ou des sels de qualité réactif (p. ex., "GP2 modifié"; voir tableau 2 dans EPA, 1994b, ou EPA, 1995). Cependant, toute SHC préparée au moyen de sel de mer vendu dans le commerce ou de sels de qualité réactif doit être filtrée ($\leq$1 µm) et aérée jusqu'au lendemain. Le récipient d'entreposage est alors fermé et entreposé à l'obscurité à 4 ± 2° C pendant une semaine au moins avant que la saumure puisse être utilisée (EC, 1997). L'eau de mer reconstituée devrait être filtrée ($\leq$5 mm) peu avant de l'utiliser pour la débarrasser des particules en suspension, et devrait être utilisée dans les 24 h une fois filtrée (EPA, 1994a).

Avant d'utiliser de l'eau de mer artificielle pour préparer la SHC ou l'eau d'essai, le laboratoire doit faire la preuve que la SHC répond aux critères spécifiques à l'essai pour que l'essai conduit avec des sédiments de

contrôle et de l'eau de mer artificielle vieillie comme eau de recouvrement (d'essai) soit valide (*cf.* 4.2). Si la SHC est préparée avec des sels de mer, on devrait vérifier, à l'aide d'essais, leur homogénéité et qualité, car des chercheurs croient que certains lots de sel de mer peuvent avoir des effets toxiques ou emprisonner les substances d'essai.

L'eau utilisée pour la préparation d'eau de mer reconstituée peut être de l'eau désionisée ou de l'eau distillée, ou peut provenir d'une source non contaminée d'eau potable municipale déchlorée ou d'eau naturelle (de surface ou souterraine). Si l'on a recours à de l'eau douce municipale ou naturelle, on devrait aussi la soumettre à des contrôles et à des évaluations de sa qualité. L'analyse de variables telles que le chlore résiduel total, le pH, la conductivité, les solides en suspension, l'oxygène dissous, les gaz totaux dissous, la température, l'azote ammoniacal, les nitrites, les pesticides et les métaux est recommandée.

L'utilisation d'eau municipale déchlorée pour la préparation d'eau de mer reconstituée n'est pas recommandée, du fait que la déchloration est souvent incomplète et que le chlore est fortement toxique chez les organismes aquatiques. Si l'on utilise de l'eau provenant du réseau d'eau potable municipal, il faut donc s'assurer d'une déchloration efficace. L'utilisation de filtres au charbon activé (noir d'os) et d'un rayonnement ultraviolet (Armstrong et Scott, 1974) convient à cette fin; le fait de conserver de l'eau dans un réservoir aéré peut aussi favoriser le processus. On ne devrait pas employer de thiosulfate ou d'autres produits chimiques pour la déchloration, à moins qu'ils ne soient appliqués en quantités infimes pour "affiner" l'eau filtrée au charbon ou pour contrer la présence d'ajouts connus de chlore dans les eaux municipales; l'utilisation de thiosulfate ou d'autres agents chélateurs est déconseillée parce qu'ils peuvent avoir un pouvoir séquestrant sur les substances toxiques.

Selon sa provenance, l'eau de mer devant servir à la détention ou à l'acclimatation des amphipodes (et devant recouvrir les sédiments lors de l'essai) devrait être filtrée ($\leq$5 µm) peu avant d'être utilisée, afin que les particules et les organismes en suspension soient éliminés. Lorsqu'une eau pourrait être contaminée par des pathogènes, on devrait la soumettre, peu avant son utilisation, à un nouveau filtrage ($\leq$0,45 µm) ou à une stérilisation par rayonnement ultraviolet (ASTM, 1991a). Si elle est entreposée, l'eau de mer naturelle devrait être conservée à la température de l'essai (normalement 15 ± 2° C) ou à une température inférieure, et être utilisée dans un délai de quelques jours. L'eau reconstituée devrait être filtrée et (ou) stérilisée, et utilisée dans un délai de 24 h.

2.5.5 Salinité

La salinité de l'eau de mer servant à acclimater les amphipodes devrait être la même que celle de l'eau devant servir à recouvrir les sédiments au cours de l'essai. À leur arrivée au laboratoire, les amphipodes devraient passer de la salinité ambiante à ce degré de salinité; à cette fin, on ajuste la salinité du récipient de détention à raison d'au plus 5 g/(kg · d). Par la suite, les amphipodes devraient être acclimatés à la salinité de l'eau d'essai pendant au moins deux jours avant l'essai. Le choix de la salinité adéquate pour l'essai dépend d'un certain nombre de considérations, dont la salinité de l'eau de porosité des sédiments à expérimenter, la gamme de degrés de salinité tolérée par l'espèce soumise à l'essai (voir annexes E à K), et les objectifs de l'essai. On devrait connaître avant l'essai la salinité de l'eau de porosité des sédiments évalués; elle devrait être à l'intérieur des limites de tolérance des organismes exposés.

2.5.6 Température

Lors de l'acclimatation des amphipodes aux conditions de l'essai, la température des sédiments et de la couche d'eau de mer les recouvrant dans les récipients de détention ou d'acclimatation ne devrait pas être modifiée à raison de plus de 3° C/jour. Lorsque la température d'acclimatation et d'essai est atteinte (normalement 15 ± 2° C, excepté pour *A virginiana* - voir section 4.2), les amphipodes doivent s'y acclimater pendant au moins deux jours avant l'essai. On peut utiliser un incubateur, une pièce à température contrôlée ou un bain-marie muni d'un réglage de température pour maintenir la température au degré voulu.

2.5.7 Oxygène dissous

La teneur en oxygène dissous de l'eau de mer recouvrant les sédiments servant à la détention devrait être de 90 à 100 % de la valeur de saturation en air. Afin de maintenir ce niveau d'oxygène dissous, on devrait procéder à une légère aération de l'eau de mer à l'aide d'air comprimé filtré et exempt d'huile.

2.5.8 Acclimatation et alimentation

Les amphipodes recueillis sur le terrain doivent être acclimatés aux conditions de l'essai pendant une période d'au moins deux jours et d'au plus dix jours avant l'essai. La température et la salinité de l'eau devraient être vérifiées au moins une fois par jour durant la période initiale, lorsque les amphipodes s'adaptent aux conditions de l'eau d'essai. Par la suite, on devrait mesurer et consigner la température, la salinité, le pH et la teneur en oxygène dissous de l'eau de mer dans les récipients de détention ou d'acclimatation, au moins au début et à la fin de la période d'acclimatation restante, mais de préférence quotidiennement. Il ne faut pas nourrir les amphipodes durant la période d'acclimatation aux conditions de l'essai, ni au cours de l'essai lui-même.

2.5.9 Sélection des organismes

Les amphipodes se trouvant dans les récipients de détention/d'acclimatation devraient subir un contrôle quotidien. Les individus qui demeurent émergés des sédiments ou ceux qui émergent des sédiments et semblent morts ou inactifs lorsqu'on les pousse doucement, devraient être rejetés.

Le jour où l'essai est mis en route, les amphipodes devraient être tamisés des sédiments à même les récipients de détention/d'acclimatation (*cf.* 4.1). Dans un essai de toxicité de sédiments ou un essai de référence de la toxicité de sédiments, n'utiliser que les organismes dont la taille et l'intervalle de variation sont appropriés, qui sont actifs et apparemment sains et à l'aspect et au comportement typique de l'espèce retenue (*cf.* 2.2 et annexes E à K).

Système d'essai

3.1 Installations

L'essai peut être effectué dans un bain-marie, un simulateur d'environnement ou une installation équivalente pourvue d'un réglage de température. Cette installation devrait être bien ventilée et à l'abri de perturbations physiques pouvant affecter les organismes soumis à l'essai. Il est souhaitable de séparer l'installation d'essai de la zone d'acclimatation. Les poussières et les émanations devraient être réduites au minimum dans l'installation d'essai. Les matériaux de construction devraient être non toxiques (*cf.* 2.5.2).

3.2 Éclairage

Tous les récipients d'essai devraient recevoir un éclairage à large spectre continu (p. ex., fluorescent ou à spectre étendu) directement à la verticale, assurant un éclairement de 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai. L'éclairement devrait être aussi uniforme que possible dans tous les récipients d'essai, et doit être continu tout au long de la période d'essai (Swartz *et al.*, 1985a).

3.3 Récipients d'essai

Des contenants de verre d'une capacité de 1L (bechers ou bocaux à large ouverture) et d'un diamètre interne d'environ 10 cm devraient servir de récipients d'essai. Avant chaque utilisation, tous les récipients d'essai et autres accessoires de verre devraient être lavés avec du détergent de laboratoire, puis rincés trois fois avec de l'eau distillée, une fois avec de l'acide nitrique à 10 %, au moins deux fois avec de l'eau distillée, et au moins deux fois avec de l'eau d'essai (ASTM, 1991a; Paine et McPherson, 1991a). Chaque récipient d'essai devrait avoir un couvercle (p. ex., un verre de montre ou un couvercle de plastique), afin de réduire le risque de contamination de contenu et de minimiser l'évaporation.

3.4 Sédiment de contrôle

La portion de sédiment de contrôle recueillie au site de prélèvement des amphipodes et devant être utilisée pour l'essai de toxicité et pour des analyses chimiques et granulométriques devrait être placée dans un contenant scellé fait d'un matériau non toxique, et entreposée dans l'obscurité à une température de 4 ± 2° C jusqu'à ce qu'on ait besoin. On devrait faire passer ce sédiment à travers un tamis à mailles de 0,5 mm dans le but d'enlever les petits amphipodes et les autres organismes. Une portion de l'eau d'essai devrait être utilisée pour ce tamisage; il faudrait au préalable que sa température ait été amenée à la température d'essai (normalement 15 ± 2° C) et sa salinité au degré requis (fréquemment 28 ± 2 g/kg), et qu'elle ait été aérée pour assurer une teneur en oxygène dissous de 90 à 100 % de la valeur de saturation (*cf.* 3.5). L'eau recouvrant le sédiment de contrôle passé au tamis devrait reposer pendant au moins 4h (de préférence pendant une nuit) afin de permettre le dépôt des particules fines (c.-à-d., la fraction limon/argile, <0,063 mm) avant qu'elle décantée et jetée. Si l'on doit utiliser le sédiment de contrôle au terme de l'essai pour déterminer si les amphipodes survivants sont capables de s'y enfouir, la quantité nécessaire devrait être scellée et réfrigérée.

Un sous-échantillon du sédiment de contrôle doit être soumis au moins aux analyses suivantes : *sédiment entier* – pourcentage de sédiment à grain très grossier (c.-à-d., particules >1,0 mm), pourcentage de sable (>0,063 à 2,0 mm), pourcentage de limon (>0,004 à 0,063 mm), pourcentage d'argile (<0,004 mm), pourcentage d'eau, et teneur en carbone organique total; *eau de porosité* – salinité, pH et teneur en ammoniaque (total et non dissocié). Les autres analyses pourraient inclure : *sédiment entier* – carbone inorganique total, pouvoir d'échange cationique, sulfures volatils en milieu acide, demande biochimique en oxygène, demande chimique en oxygène, métaux, composés organiques synthétiques, huiles et graisses, hydrocarbures pétroliers; *eau de porosité* – métaux, composés organiques synthétiques et hydrogène sulfuré (ASTM, 1991a,b; Burton, 1991; Chapman, 1991; EC, 1994; USEPA, 1994a). La méthode pour la collecte de l'eau de porosité, décrite dans la publication d'Environnement Canada (1994), devrait être suivie.

3.5 Eau d'essai et eau de contrôle/de dilution

Suivant le plan et l'objectif de l'essai (*cf.* section 5 et 6), l'eau d'essai (c.-à-d., l'eau recouvrant le sédiment au cours de l'essai) et l'eau de contrôle/de dilution (c.-à-d., l'eau servant à la dilution des produits chimiques soumis à l'essai et servant d'eau de contrôle dans les essais effectués avec des produits toxiques de référence dans de l'eau de mer seulement) peut être de l'eau de mer reconstituée (*cf.* 2.5.4) ou de l'eau de mer naturelle provenant d'une source non contaminée.

La salinité de l'eau de mer naturelle ou reconstituée peut être ajustée au degré requis (*cf.* 2.5.5 et Sections 5 et 6) par l'ajout de saumure hyperconcentrée (si l'eau n'est pas assez salée) ou d'eau distillée ou désionisée (si l'eau est trop salée). On trouvera des conseils se rapportant à la préparation de cette eau en 2.5.4.

La température de l'eau d'essai et de l'eau de contrôle/de dilution devrait être amenée à la température d'essai (normalement 15 ± 2° C) avant utilisation. La teneur en oxygène dissous de l'eau devrait être de 90 à 100 % de la valeur de saturation en air à la température d'essai. Au besoin, le volume d'eau requis devrait être aéré vigoureusement juste avant l'utilisation (à l'aide d'air comprimé exempt d'huile passant à travers de pierres de barbotage); on devrait contrôler la teneur en oxygène dissous de cette eau afin de s'assurer qu'elle se situe bien entre 90 et 100 % de la valeur de saturation.

Méthodes universelles

Les méthodes exposées dans la présente section s'appliquent à tous les essais effectués sur des échantillons de sédiments, de déchets solides ou de produits chimiques qui sont décrits aux section 5 et 6. Tous les éléments du système d'essai défini à la section 3 doivent leur être intégrés. La liste de contrôle sommaire du tableau 2, qui présente les conditions et les méthodes recommandées, décrit tant les méthodes universelle que celles s'appliquant à des essais sur des types de substances particuliers.

4.1 Mise en route de l'essai

Chaque récipient d'essai se trouvant dans l'installation d'essai doit porter un code ou une étiquette identifiant clairement la substance et la concentration soumises à l'essai ainsi que la date et l'heure du début de l'essai. Il faudrait placer les récipients de façon à faciliter l'observation des amphipodes. Chaque série de traitements répétés devrait être placée selon un ordre aléatoire dans l'installation d'essai.

La veille de l'essai, chaque échantillon de sédiments d'essai ou d'une matière solide analogue (y compris les sédiments de contrôle et de référence) devrait être bien mélangé[13] pour obtenir un mélange homogène, de couleur, texture et teneur en eau constantes (*cf.* 5.3 et 6.2). Immédiatement après le mélange, ajouter une aliquote de 175 mL dans chaque récipient d'essai d'échantillon répété[14]. Pour chaque traitement, il faut préparer au moins cinq réplicats de laboratoire (*cf.* 5.1 et 6.2).[15]

[13] Tout liquide qui serait séparé de l'échantillon durant le transport et le stockage doit être mélangé à cet échantillon.

[14] Cela suffit pour obtenir au fond du récipient une couche d'une épaisseur uniforme d'environ 2 cm.

[15] Pour l'évaluation de la toxicité de sédiments au moyen de sédiments prélevés sur le terrain (voir Section 5), le nombre de stations à échantillonner à un site d'étude et le nombre d'échantillons répétés à prélever par station seront déterminés pour chaque étude. La plupart du temps, il s'agit de faire un compromis entre les contraintes logistiques et pratiques (p. ex., temps et coûts) et les considérations statistiques. La publication d'Environnement Canada (1994) donne des renseignements utiles relativement au plan d'échantillonnage, y compris le nombre minimum d'échantillons de terrain répétés qu'il est conseillé de prélever.

Pour les essais de toxicité de sédiments effectués sur des concentrations multiples de sédiments dopés avec des produits chimiques (Section 6), il faut normalement au moins cinq récipients d'essai pour chaque concentration (traitement), y compris chaque traitement de contrôle (c.-à-d., un contrôle négatif utilisant ≥ 5 aliquotes de sédiments de contrôle plus, dans certains cas, ≥ 5 aliquotes d'un solvant de contrôle). Pour les essais ne comportant aucune exigence réglementaire, on peut diminuer le nombre d'échantillons répétés par traitement (voir subdivision 6.2). Pour un essai de référence de la toxicité (subdivision 4.5), on peut réduire le nombre d'échantillons répétés par traitement (concentration), ou carrément les éliminer.

Plus le nombre d'échantillons répétés par traitement est élevé, plus on améliore le pouvoir de détecter un certain pourcentage de réduction dans les résultats du traitement (p. ex., ≥ 20 % de réduction de la survie moyenne) par rapport à un traitement de référence ou de contrôle. Il est toujours prudent d'inclure dans le plan d'expérience autant d'échantillons répétés admissibles du point de vue économique et logistique. Des conseils et explications sur le nombre d'échantillons répétés par traitement et la puissance du test sont donnés dans Environnement Canada (1994) et EPA (1994a).

Dans certains cas, un échantillon répété ou plus par traitement peut être requis pour la surveillance des paramètres chimiques des sédiments (p. ex., salinité de l'eau de porosité ou teneur en hydrogène sulfuré). Les données de toxicité ne tiennent pas compte de ces échantillons répétés supplémentaires du fait des effets destructeurs liés à l'échantillonnage et les analyses des sédiments.

Tableau 2 Liste de contrôle des conditions et méthodes d'essai recommandées

Type d'essai	Statique, d'une durée de 10 jours[16]
Récipient d'essai	Becher ou bocal de verre de l L; diamètre interne d'environ 10 cm.
Sédiments de contrôle	Sédiments non contaminés provenant généralement du site de prélèvement des organismes soumis à l'essai. On doit les faire passer à travers un tamis à mailles de 0,5 mm avec de l'eau d'essai. Le volume et l'épaisseur dans les récipients d'essai sont de 175 mL et ~ 2 cm respectivement.
Eau d'essai	Eau de mer naturelle ou reconstituée, non contaminée; de même salinité et température que l'eau de recouvrement durant la période d'acclimatation; teneur en oxygène dissous : entre 90 et 100 % de la valeur de saturation; cette eau est versée sur une couche de 175 mL de sédiments dans le récipient d'essai (jusqu'à la marque de 750 mL) le jour précédant la mise en route de l'essai et le volume est porté à 950 mL après l'introduction des amphipodes.
Aération	Aérer l'eau dans chaque récipient d'essai pendant la nuit précédant la mise en route de l'essai et tout au long de l'essai; l'aération doit être continue et se faire à un rythme modéré (p. ex., 2 à 3 bulles/s).
Éclairage	Éclairage constant par le haut (fluorescent ou à spectre étendu); 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.
Amphipodes	Juvéniles ou jeunes adultes, de 3 à 10 mm de longueur (selon l'espèce); normalement 20 sujets par récipient d'essai.
Nombre de répétitions	On recommande ≥ 5 échantillons distincts (c.-à-d., différent) de sédiments prélevés au même endroit; obligatoirement ≥ 5 sous-échantillons de laboratoire pour chaque échantillons répété prélevé sur le terrain par concentration (traitement) pour les essais à concentrations multiples exécutés avec des échantillons de sédiments enrichis à des fins réglementaires.
Alimentation	Aucune.
Observations	Vérifier chaque jour ou à une fréquence moindre (p. ex., chaque jour du lundi au vendredi) le débit d'air dans chaque récipient d'essai ainsi que la présence d'amphipodes flottant à la surface de l'eau d'essai ou de la solution d'essai. À la fin de l'essai, on observe la mortalité dans chaque récipient d'essai et si les résultats sublétaux sont inclus dans l'essai, le nombre de survivants qui ont émergé et (ou) qui ne s'enfouissent pas dans les sédiments de contrôle dans un délai de 1 h.

[16] Des circonstances particulières (p. ex., la présence de produits chimiques volatils ou instables dans l'eau de mer recouvrant les sédiments d'essai ou une demande en oxygène élevée de ceux-ci) peuvent nécessiter l'exécution d'un essai à renouvellement continu ou périodique, ou encore la modification de la durée de l'essai.

Tableau 2 Liste de contrôle des conditions et méthodes d'essai recommandées (suite)

Mesures dans l'eau de recouvrement	Mesurer, dans chaque traitement, ≥3 fois par semaine (jours non consécutifs) la température et l'oxygène dissous; au début et à la fin de l'essai, la salinité, le pH et la teneur en ammoniaque dans chaque traitement.
Résultats	Pour chaque traitement, pourcentage moyen (± écart type) d'amphipodes vivants après 10 jours d'exposition; résultats facultatifs basés sur le pourcentage d'organismes qui ont émergé au bout de ≤10 jours et (ou) le pourcentage de survivants qui se sont réenfouis à la fin de l'essai.
Essai sur un produit toxique de référence	Essai statique de détermination de la CL50 après 4 jours, en eau de mer seulement, avec du cadmium ; ou essai s'une durée de 120 jours avec sédiments de contrôle dopés avec du cuivre, du cadmium ou du fluoranthène.
Validité de l'essai	Pour que l'essai soit valable, le taux de survie moyen après 10 jours dans les sédiments de contrôle doit être de ≥85 % pour *E. washingtonianus*, de ≥80 % pour *A. virginiana*, et de ≥90 % pour toutes les autres espèces.
Sédiments prélevés sur le terrain ou matière particulaire semblable	
Transport et stockage	Si la température des échantillons est supérieure à 7° C, la ramener entre 1 et 7° C (avec de la glace ou des sacs réfrigérants). Transporter les échantillons dans l'obscurité entre 1 et 7° C (de préférence, à 4 ± 2° C); les stocker dans l'obscurité à 4 ± 2° C. L'essai devrait commencer dans les deux semaines suivant le prélèvement et doit commencer au plus tard six semaines après.
Sédiment de référence	Un ou plusieurs échantillons sont requis pour les essais de sédiments prélevés sur le terrain. Ils devraient être recueillis à des endroits qu'on croit non contaminés, mais non loin des sites d'échantillonnage des sédiments d'essai; idéalement, leur granulométrie et leur contenu organique devraient correspondre à des sédiments d'essai.
Description de l'échantillon	*Sédiments entiers* – au moins pourcentage de sédiments à grains très grossiers (c.-à-d., particules >1,0 mm), pourcentage de sable (>0,063 à 2,0 mm), pourcentage de limon >0,004 à 0,063 mm), pourcentage d'argile (<0,004 mm), pourcentage de la teneur en eau et carbone organique total; *eau de porosité* – au moins salinité, pH et ammoniaque (total et non dissocié).
Préparation de l'échantillon	L'échantillon ne subit pas normalement de tamisage à l'eau mais est homogénéisé. Des circonstances particulières peuvent justifier qu'on ne le mélange pas (p. ex., la possibilité d'une altération des sédiments anaérobies) ou qu'on le tamise avec de l'eau d'essai (p. ex., s'il s'agit d'une substance dont on envisage le déversement en mer ou qui fait l'objet d'une recherche).
Eau d'essai	Eau de mer naturelle ou reconstituée, non contaminée.

Tableau 2 Liste de contrôle des conditions et méthodes d'essai recommandées (suite)

Produit chimique	
Description	Renseignements nécessaires concernant la solubilité dans l'eau, la tension de vapeur, la stabilité, la biodégradabilité et la pureté.
Solvant	L'eau d'essai est le solvant recommandé; si l'on utilise un solvant organique, on doit inclure un contrôle avec solvant.
Préparation des mélanges	La mode opératoire dépend du plan et des objectifs de l'essai. On pourrait mélanger un sédiment de contrôle ou d'essai avec une ou plusieurs concentrations du produit chimique, ou ajouter dans l'essai recouvrant le sédiment de contrôle des concentrations précises du produits chimiques à expérimenter. Les mélanges de sédiments et de produits chimiques peuvent être préparés à la main ou par agitation mécanique, sous forme de boues liquides ou de mélanges secs.
Concentration	Il serait souhaitable de la mesurer au début et à la fin de la période d'exposition, dans les mélanges à teneur supérieure, moyenne et inférieure.
Eau d'essai et de dilution	Eau de mer reconstituée si un niveau élevé de normalisation est requis; sinon, de l'eau de mer naturelle non contaminée est acceptable.

On prépare normalement un ou plusieurs récipients additionnels pour des analyses des caractéristiques chimiques des sédiments et de la qualité de l'eau de mer qui les recouvre (*cf.* 4.3). Si l'on doit analyser les caractéristiques chimiques des sédiments dans les conditions de l'essai (*cf.* 4.3), on doit préparer un récipient pour chaque analyse (p. ex., au début de l'essai et au 10^{e} jour). On ne devrait pas déposer d'amphipodes dans les récipients d'essai soumis à des analyses au début de l'essai.

Cependant, on doit en déposer dans tout récipient dont le sédiment est analysé plus tard au cours de l'essai (p. ex., au 10^{e} jour), en raison des effets de la bioturbation sur le partage chimique (Swartz, 1991). On ne recueille pas de données de toxicité concernant ces récipients en raison du caractère destructeur de l'échantillonage et de l'analyse des sédiments.

On devrait lisser le sédiment déposé dans chaque récipient soit à l'aide d'une spatule, soit en frappant doucement le récipient avec le côté de la main. Afin de minimiser la perturbation du sédiment au moment où l'on ajoute l'eau d'essai, on peut placer à la surface du sédiment un disque fait de polyéthylène, de nylon ou de Teflon^{MC} [épaisseur recommandée de 0,10 à 0,15 mm (4 à 6 mils)], d'un diamètre correspondant au diamètre intérieur du récipient d'essai (ASTM, 1991a). L'eau d'essai (ou, dans certains cas, la solution d'essai) est alors ajoutée en quantité suffisante pour atteindre la marque des 750 mL sur le côté du

récipient. Le disque devrait être enlevé[17] et rincé avec de l'eau d'essai entre les répétitions de chaque traitement. Un disque différent devrait être utilisé pour chaque traitement.

L'eau de mer recouvrant les sédiments dans chaque récipient d'essai (y compris les contrôles) doit être aérée durant la nuit précédant l'introduction des amphipodes, ainsi que tout au long de l'essai. De l'air comprimé, préalablement filtré afin d'être exempt d'huile, devrait être soufflé à travers une pipette de verre ou de plastique et des tubes de plastique attenants (équipement d'aquarium). L'embout de la pipette devrait se trouver à une distance de 2 à 4 cm de la surface des sédiments. Le débit d'air dans chaque récipient d'essai doit être modéré (p. ex., 2 à 3 bulles/s). L'aération ne devrait pas perturber la surface des sédiments. L'ajuster au besoin de manière à maintenir la teneur en oxygène dissous dans l'eau de recouvrement à au moins 90 % de la valeur de saturation (EPA, 1994a).

L'essai de toxicité devrait débuter le jour suivant, par la distribution de 20 amphipodes dans chaque récipient d'essai. Il faudrait tamiser un nombre d'amphipodes plus élevé d'environ un tiers que le nombre requis pour l'essai, et les transférer du sédiment de contrôle se trouvant dans les contenants de détention à un plateau de tri. La présence d'un surplus d'animaux permet la sélection de sujets en bonne santé (actifs).

Les amphipodes qui sont actifs devraient être retirés du sédiment du contenant de détention (*cf.* 2.5.1) à l'aide d'un tamis à mailles de 0,5 mm ou plus (selon la taille des amphipodes devant être soumis à l'essai; *cf.* annexes E à K). On devrait choisir les sujets au hasard, à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un d'autre moyen approprié les distribuer de façon séquentielle dans de plats contenant au plus 150 mL d'eau d'essai (ou, dans certains cas, d'une solution d'essai particulière), et ce jusqu'à ce que chaque plat afin de vérifier leur nombre (Swartz *et al.*, 1985a; ASTM, 1991a).

Étant donné que l'on procède à des traitements répétés, on devrait déposer les amphipodes en même temps dans chaque jeu ou bloc de récipients d'essai lorque l'on suit un plan en blocs aléatoires complets. Pour cela, il faudrait verser doucement l'eau et les amphipodes du plat de tri dans les récipients d'essai. Les amphipodes demeurés dans le plat de tri devraient être délicatement délogés avec de l'eau d'essai versés dans le récipient d'essai. Le niveau de l'eau dans le récipient d'essai devrait amené jusqu'à la marque des 950 mL (sédiments et liquides); on devrait ensuite retirer le disque, couvrir le récipient et poursuivre l'aération.

Il faudrait laisser aux amphipodes 1 h afin de leur permettre de s'enfouir dans le substrat d'essai et le sédiment de contrôle. Entre-temps, on devrait les observer attentivement. Selon l'espèce d'amphipodes en cause[18], les sujets qui ne se sont pas enfouis après 1 h devraient être remplacés à moins qu'on ne remarque qu'ils s'enfouissent à plusieurs reprises pour émerger immédiatement, dans une réaction d'évitement à l'égard du substrat

[17] Le disque devrait être attaché à un fil fait d'un monofilament de nylon (ou d'une matériau équivalent, non toxique) afin qu'on puisse le retirer après l'addition de l'eau de mer.

[18] Dans le cas des essais effectués avec *Corophium volutator* ou *Amphipoeria virginiana*, les amphipodes ne devraient être remplacés au cours de la première heure de l'essai que si l'on remarque qu'ils sont morts ou moribonds, ou si leur aspect ou leur comportement est atypique de l'espèce. Ces espèces mettent souvent plusieurs heures avant de s'enfouir dans des sédiments de contrôle ou d'autres sédiments non contaminés, après qu'on les a dérangés pour les transférer.

d'essai. Les amphipodes qui manifestent ce comportement d'évitement au cours de la première heure de l'essai ne devraient pas être remplacés; il faudrait les compter au nombre des 20 organismes soumis à l'essai dans chaque récipient.

4.2 Conditions de l'essai

- L'essai doit être statique (le sédiment et la solution qui le recouvre ne doivent pas être remplacés au cours de l'essai).

- La durée de l'essai est de 10 jours.

- L'essai doit être effectué à une température de 15 ± 2° C, sauf pour *A. virginiana*. Pour cette espèce, la température doit être de 10 ± 2° C[19].

- Les sédiments de contrôle et d'essai doivent former une couche uniforme de 175 mL, d'une épaisseur d'environ 2 cm.

- Les solutions qui recouvrent les sédiments doivent être aérées à un faible rythme (p. ex., 2 à 3 bulles/s) et sans interruption, sans perturber les sédiments.

- Il faut assurer un éclairage par le haut constant (fluorescent ou à spectre étendu), fournissant un éclairement de 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.

- Il ne faut donner aucune nourriture supplémentaire aux amphipodes durant l'essai.

- Pour qu'un test de toxicité des sédiments soit valable, le taux moyen de survie dans les sédiments de contrôle après 10 jours doit être de ≥85 % pour *E. washingtonianus*, de ≥80 % pour *A. virginiana*, et de ≥90 % pour toutes les autres espèces.

4.3 Observations et mesures

Au cours des 10 jours de l'essai, il faut examiner régulièrement chaque récipient d'essai pour s'assurer que le débit d'air dans la solution recouvrant les sédiments est ininterrompu sans être excessif et pour observer si des amphipodes nagent dans cette solution ou flottent à la surface. Les amphipodes pris dans la pellicule de surface devraient être doucement replongés dans l'eau à l'aide d'une tige de verre ou d'une pipette. Les animaux qui semblent morts ne devraient pas être enlevés (Swartz *et al.*, 1985a; Chapman et Becker, 1986).

Au bout de 10 jours d'exposition, l'essai est terminé. Dans le cas des essais destinés à déterminer si 'exposition aux sédiments déclenche une réaction d'émergence (*cf.* 4.4), on devrait consigner, avant que le contenu de chaque récipient d'essai ne soit remué et passé au tamis, le nombre d'amphipodes survivants complètement ou partiellement sortis du sédiment (c.-à-d., se trouvant à la surface du sédiment, nageant dans l'eau sus-jacente ou flottant à la surface de l'eau).

On fait ensuite passer le contenu de chaque récipient d'essai à travers un tamis à mailles de 1,0 mm (ou moins) afin de retirer les organismes soumis à l'essai et de déterminer s'ils sont morts ou vivants. Pour ce tamisage, on devrait utiliser une quantité supplémentaire d'eau d'essai dont la salinité et la température correspondent, à deux unités près, à celles de l'eau utilisée pour

---

[19] Les études conduites dans les laboratoires d'Environnement Canada, région des Maritimes, indiquent qu'une température de 10 ± 2° C est celle qui convient le mieux pour cette espèce (Doe et Wade, 1991).

l'essai. Les matières retenues dans le tamis devraient être transvasées dans un plateau de tri à l'aide d'une quantité d'eau d'essai propre; on devrait alors consigner le nombre total d'amphipodes vivants et morts. Il faudrait observer les amphipodes inactifs mais non visiblement morts à l'aide d'un microscope à dissection de faible puissance ou d'une loupe. On considère que les animaux sont morts s'ils ne font aucun mouvement (p. ex., tremblement des pléopodes) quand on les pousse doucement. Les animaux qui manquent sont considérés morts et sont comptés comme organismes morts dans les calculs (*cf.* 4.4).

Dans certains cas, il pourrait être souhaitable de déterminer l'effet de l'exposition de 10 jours aux sédiments d'essai sur la capacité des amphipodes survivants de s'enfouir dans des sédiments de contrôle (Swartz *et al.*, 1985a; USEPA, 1990; ASTM, 1991a)[20]. Si l'on veut le faire, on devrait transférer les amphipodes ayant survécu à l'essai dans des récipients contenant une couche de 2 cm de sédiments de contrôle (préalablement amenés à la température d'essai et passés à travers un tamis à mailles de 0,5 mm à l'aide d'eau d'essai, recouverte d'une couche ($\geq$2 cm) d'eau d'essai. On consigne ensuite, pour chaque récipient d'essai, le nombre d'amphipodes survivants qui sont incapables de s'enfouir dans les sédiments de contrôle au cours de l'heure qui suit.

Il faut mesurer les divers paramètres d'essai dans au moins un des récipients d'essai utilisés pour chaque traitement. La température de l'eau de recouvrement doit être mesurée au début de l'essai puis au moins trois fois par semaine sur des jours non consécutifs (p. ex., les lundis, mercredis et vendredis) jusqu'à la fin de l'essai. On recommande de mesurer plus fréquemment la température (p ex., chaque jour). De plus, il est recommandé de mesurer en continu la température de chaque bain ou de l'air dans une enceinte ou pièce à température contrôlée où l'essai est conduit.

La teneur en oxygène dissous de l'eau de recouvrement dans au moins un des récipients utilisés pour chaque traitement doit être mesurée au début de l'essai, puis au moins trois fois par semaine sur des jours non consécutifs (p. ex., les lundis, mercredis et vendredis) jusqu'à la fin de l'essai. Il est recommandé et on devrait procéder plus fréquemment (p. ex., chaque jour; EPA, 1994a) à la mesure de l'oxygène dissous pour les sédiments à forte demande en oxygène qui abaissent l'oxygène dissous à moins de 90 % de la valeur de saturation. On recommande d'utiliser à cette fin une sonde à oxygène dissous ou un oxygénomètre étalonné pour l'oxygène dissous. La sonde doit être soigneusement inspectée après chaque lecture pour s'assurer que des organismes n'y ont pas adhéré. La sonde doit être rincée entre les échantillons pour réduire au minimum l'intercontamination. La position de la pointe de la pipette ainsi que le taux d'aération dans chaque récipient d'essai devraient être contrôlés fréquemment et régulièrement (p. ex., chaque jour) tout au long de l'essai.

Si à n'importe quel moment de l'essai on remarque que le débit d'air dans un ou plusieurs des récipients d'essai s'est arrêté, la teneur en oxygène dissous de l'eau de recouvrement doit être mesurée après quoi l'aération est rétablie à un rythme modéré.

---

[20] Selon cette méthode, on peut analyser les données de toxicité en fonction de la "mortalité effective", c'est-à-dire, de la somme des sujets morts et des sujets survivants incapables de s'enfouir. Cependant, dans la plupart des cas, les amphipodes survivants sont capables de s'enfouir dans les sédiments de contrôle.

Toutes les lectures d'OD inférieures à 60 % de la valeur de saturation (EPA, 1994a) doivent être consignées dans le procès-verbal de l'essai.

La salinité et le pH de l'eau de recouvrement doivent être mesurées au début et à la fin de l'essai dans au moins un des récipients d'essai utilisés pour chaque traitement. Il faut de plus mesurer les teneurs en ammoniaque dans l'eau de recouvrement (ammoniaque total; voir par exemple, APHA *et al.*, 1989) et les calculer (ammoniaque en NH_3; Bower et Bidwell, 1978) au début et à la fin de l'essai dans au moins un des récipients d'essai utilisés pour chaque traitement. La salinité et le pH peuvent être mesurés au moyen de sondes et d'instruments calibrés. L'ammoniaque peut être mesuré à l'aide d'une électrode ionique spécifique ou par extraction d'une partie aliquote de l'eau de recouvrement pour cette analyse. Tout comme pour les mesures de l'OD, il faut, après chaque lecture, inspecter immédiatement et minutieusement toute sonde insérée dans une chambre d'essai et la rincer dans de l'eau désionisée ou distillée entre les échantillons testés. Pour les mesures de l'ammoniaque sur des parties aliquotes de l'échantillon, les échantillons d'eau de recouvrement doivent être prélevés juste avant l'introduction des organismes soumis à l'essai ainsi qu'à la fin de l'essai. Dans l'un et l'autre cas, on ne devrait pas prélever plus de 10 % du volume d'eau de recouvrement dans le récipient d'essai. Ce genre de prélèvement devrait être fait au moyen d'une pipette introduite gentiment à environ 1 à 2 cm au-dessus de la surface des sédiments. La pipette devrait être inspectée pour s'assurer que des amphipodes n'ont pas été aspirés lors du prélèvement de la partie aliquote de l'eau de recouvrement.

4.4 Résultats et calculs

Au terme de tous les essais, il faut calculer le résultat suivant pour chaque traitement :

- Le pourcentage moyen (± l'écart type [σ]) d'amphipodes qui ont survécu au cours de la période d'exposition de 10 jours (c.-à-d., le pourcentage de survie au dixième jour).

Deux résultats biologiques supplémentaires pourraient aussi être calculés, selon le plan de l'étude et les objectifs de l'essai :

- Le pourcentage moyen (± σ) d'amphipodes ayant survécu à la période d'exposition de 10 jours qui ont émergé de chaque matériau (en phase solide) soumis à l'essai au cours de cette période;

- Le pourcentage moyen (± σ) d'amphipodes survivants qui ne se sont pas enfouis dans les sédiments de contrôle à la fin de la période d'exposition.

On détermine et on consigne le nombre d'amphipodes morts, manquants ou vivants dans chaque récipient d'essai au dixième jour. On suppose que les sujets manquants sont morts et se sont désintégrés au cours de l'essai; on doit donc les inclure dans le calcul du pourcentage de survie pour chaque récipient. On calcule ensuite le pourcentage de survie moyen (± σ) de chaque traitement répété (normalement $n = 5$ au minimum). On calcule également pour chaque traitement répété les moyennes et les écarts types de toutes les données relatives aux effets sublétaux à évaluer (c.-à-d., les pourcentages des amphipodes survivants ayant émergé des sédiments au dixième jour ou ne s'étant pas enfouis dans les sédiments de contrôle à la fin de l'essai). On effectue alors une comparaison statistique entre les valeurs

moyennes obtenues pour les traitements répétés dans chaque récipient de sédiments d'essai et celles obtenues avec les sédiments de contrôle ou de référence, dans des conditions par ailleurs identiques.

Le but d'un essai visant à établir la toxicité de sédiments est de quantifier les effets des contaminants sur des groupes d'organismes d'essai exposés à des sédiments recueillis sur le terrain ou de matériaux dragués semblables ou encore de sédiments de laboratoire enrichis, et de déterminer si ces effets diffèrent statistiquement de ceux enregistrés pour les sédiments de référence ou de contrôle. Diverses méthodes statistiques peuvent être utilisées pour évaluer les résultats obtenus lors d'un tel essai. Les options, la justification du choix et les méthodes de calcul sont discutées en profondeur dans les documents de l'Agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA, 1994a) et d'Environnement Canada (1998b). Le choix du traitement statistique dépend du test et du plan d'étude, et plus particulièrement si l'essai utilise des échantillons répétés ou des concentrations multiples des substances soumises à l'essai. La sous-section 5.6 donne des indications sur les résultats et les calculs pour les essais de toxicité effectués avec des sédiments recueillis sur le terrain ou des matériaux dragués de même type. Le lecteur trouvera à la sous-section 6.5 des informations sur les résultats et calculs pour des essais à concentrations multiples effectués avec des sédiments enrichis expérimentalement avec une substance chimique donnée ou un mélange chimique soumis aux essais.

4.5 Produit toxique de référence

L'utilisation systématique d'un produit toxique de référence est nécessaire pour évaluer, dans des conditions d'essai normalisées, la sensibilité relative de la population d'organismes devant servir à déterminer la toxicité des sédiments soumis à l'essai ainsi que la précision et la fiabilité des données obtenues par le personnel du laboratoire (Environnement Canada, 1990a, 1995). Lorsqu'on détermine la sensibilité d'échantillons du matériau évalué, un essai avec un produit toxique de référence doit être fait pour chaque lot d'amphipodes recueillis sur le terrain qui seront exposés. On pourrait procéder à un essai statique de détermination de la CL50 après quatre jours à l'aide de diverses concentrations de cadmium (sous forme de chlorure de cadmium) dans de l'eau de mer seulement (sans sédiments) (McLeay *et al.*, 1989, 1991; EPA, 1990; ASTM, 1991a; Paine et McPherson, 1991a,b). On peut aussi enrichir des sédiments de contrôle avec du cuivre, du cadmium ou du fluoranthène, et les utiliser pour déterminer une C50 après 10 jours (Environnement Canada, 1995)[21]. Tout essai avec un produit toxique de référence devrait commencer dans la journée suivant le début des essais de 10 jours avec le(s) matériau(x) testé(s); il est normalement entrepris le même jour.

Quand on procède à un essai de détermination de la CL50 après quatre jours avec seulement de l'eau de mer contenant du cadmium, le test se déroule dans des béchers

[21] Le dopage de sédiments de contrôle ou d'autres sédiments non contaminés avec du cuivre, du cadmium, du fluoranthène ou un autre produit chimique se révèle utile pour des essais de produits toxiques de référence enrichis en phase solide (Cairns *et al.*, 1984; Ditsworth *et al.*, 1990; Yee *et al.*, 1992; Environnement Canada, 1995). Cette méthode devrait être de plus en plus utilisée, surtout lorsque la recherche aura produit des sédiments à formule normalisée (ou "artificiels") convenant à chacune des espèces d'amphipodes utilisées (Environnement Canada, 1995).

ou des bocaux de 1 L en verre, avec ≥800 mL de solution d'essai et au moins 10 amphipodes par récipient d'essai. À moins d'indications contraires, les conditions et les méthodes d'essai doivent être identiques à celles décrites aux sections 2, 3, 4 et 6 de ce rapport, sauf qu'il ne faut pas ajouter de sédiments dans les récipients d'essai et qu'il n'est pas nécessaire de prévoir des répétitions pour chaque concentration d'essai. Contrairement à l'essai visant à établir la toxicité de sédiments qui exige un éclairage par le haut continu des récipients d'essai, l'essai avec un produit toxique de référence se déroule dans l'obscurité (EPA, 1994a). Les récipients d'essai sont dans ce cas recouverts d'un matériau opaque (p. ex., du papier d'aluminium) ou l'essai est conduit dans une installation d'essai distincte en veillant à éteindre les lumières. Une autre différence est que contrairement à l'essai de toxicité conduit avec des sédiments qui exige une légère aération de l'eau de recouvrement tout au long de l'essai, les solutions de cadmium ou l'eau (de contrôle) des récipients d'essai ne sont pas aérées étant donné que la teneur en oxygène dissous de chaque solution d'essai (y compris les contrôles) satisfait les besoins en oxygène des organismes d'essai. Chaque récipient d'essai est couvert pour minimiser la contamination et les pertes par évaporation.

Si l'essai avec un produit de référence est conduit avec des sédiments enrichis de cadmium, de cuivre ou de fluoranthène, la méthode indiquée dans le document d'Environnement Canada (1995) et la section 6 du présent document s'applique. Les critères appliqués au choix des produits toxiques de référence convenant à cet essai sont les suivants :

- facilité d'obtention à l'état pur;
- durée de conservation prolongée (stabilité);
- facilité de mélange uniforme à un substrat non contaminé;
- courbe dose-effet satisfaisante pour l'organisme soumis à l'essai;
- stabilité en solution aqueuse;
- risque minimal pour l'utilisateur;
- facilité et précision de l'analyse;
- influence connue de la salinité sur la toxicité du produit chez l'organisme soumis à l'essai;
- influence connue du pH sur la toxicité du produit chez l'organisme soumis à l'essai.

On recommande l'utilisation de cadmium (sous forme de chlorure de cadmium) ou de cuivre (sous forme de sulfate de cuivre) de qualité "réactif" comme produits toxiques de référence pour l'essai, bien qu'il soit possible que des études futures fassent connaître d'autres produits chimiques présentent des propriétés égales ou supérieures. Lorsqu'un produit toxique organique est nécessaire, on recommande l'usage du fluoranthène (Swartz *et al.*, 1990; Environnement Canada, 1993b). Dans de nombreuses études, on a fait état de la forte tolérance à la létalité aiguë manifestée par des amphipodes marins ou estuariens exposés à de cadmium lors d'essais effectués avec de l'eau de mer seulement (Swartz *et al.*, 1985c; DeWitt *et al.*, 1989; McLeay *et al.*, 1989, 1991; Nicol et Doe, 1990; Tay *et*

al., 1991; ASTM, 1991a; Paine et McPherson, 1991a, b). Des essais de toxicité portant sur des sédiments de contrôle dopés avec du cuivre ont aussi été exécutés (Cairns *et al.*, 1984; Environnement Canada, 1993b).

On devrait utiliser le même type (c.-à-d., eau de mer naturelle ou reconstituée), la même source et le même prétraitement de l'eau d'essai (c.-à-d., eau de contrôle/de dilution dans un essai de 4 jours avec de l'eau de mer seulement; ou eau de recouvrement utilisée dans un essai de 10 jours avec des sédiments enrichis d'un produit chimique) pour chaque essai conduit avec un produit de référence enrichi exécuté par le laboratoire selon cette méthode et avec une seule espèce d'organismes d'essai. La salinité de cette eau d'essai doit être de 28 ± 2 g/kg, et devrait être identique d'une installation à l'autre pour chaque essai avec un produit toxique de référence exécuté avec une espèce donnée. Il faut ajuster la température de l'eau d'essai (c.-à-d., 10 ± 2° C pour *A. virginiana*; 15 ± 2° C pour les autres espèces) et au besoin aérer l'eau pour obtenir une teneur en oxygène dissous de 90 à 100 % de la valeur de saturation, avant de l'utiliser pour préparer les solutions d'essai ou l'eau de recouvrement destinées à un essai de toxicité avec des sédiments de contrôle enrichis d'un produit chimique de référence. La température de la solution (essai de 4 jours avec de l'eau de mer seulement) ou de l'eau de recouvrement (essai de 10 jours avec sédiments de contrôle enrichis d'un produit chimique) dans chaque récipient d'essai devrait être mesurée chaque jour, et obligatoirement au début et à la fin de l'essai. La température journalière moyenne au cours de l'essai doit être de 15 ± 2° C pour chaque espèce exposée, sauf pour *A. virginiana*, espèce pour laquelle elle doit être de 10 ± 2° C. La teneur en oxygène dissous, la salinité et le pH dans chaque récipient d'essai doivent être mesurés au début et à la fin de l'essai.

Pour les essais de quatre jours conduits avec de l'eau de mer seulement et avec *R. abronius*, *E. estuarius*, *C. volutator*, *F. xiximeus*, *L. pinguis*, ou *A. virginiana*, les résultats de l'essai avec produit toxique de référence ne sont valides et acceptables que si le taux de survie après 96 h est de $\geq$90 %. En se basant sur les résultats antérieurs obtenus avec *E. washingtonianus* lors d'essais de quatre jours avec de l'eau de mer seulement (Fennell, 1998), les résultats pour un essai de quatre jours avec de l'eau de mer seulement et des solutions de cadmium ne sont valides et acceptables que si, pour cette espèce seulement, le taux de survie des contrôles après 96 h est de $\geq$85 %. Pour les essais de 10 jours avec sédiments de contrôle enrichis d'une produit chimique de référence, c'est le critère spécifique à l'espèce indiqué en 4.2 qui s'applique pour que l'essai soit valide.

De nombreuses études font état de la tolérance létale aiguë d'amphipodes marins ou estuariens au cadmium, dans des essais conduits avec de l'eau de mer seulement (Swartz *et al.*, 1985c; DeWitt *et al.*, 1989; McLeay *et al.*, 1989, 1991; Nicol et Doe, 1990; Tay *et al.*, 1991; ASTM, 1991a; Paine et McPherson, 1991a,b). Des essais de toxicité avec des sédiments de contrôle enrichis de cadmium, de cuivre ou de fluoranthène ont également été conduits (voir Cairns *et al.*, 1984; Swartz *et al.*, 1990; Environnement Canada, 1995).

Des renseignements sur le choix, la conduite et l'utilisation d'essais avec des produits toxiques de référence sont donnés dans le document d'Environnement Canada (1990a) pour les essais conduits avec de l'eau de mer

seulement et dans Environnement Canada (1995) pour ceux effectués avec des sédiments dopés. On conseille au personnel de laboratoire qui n'est pas familier avec de tels essais de consulter ces rapports avant de se préparer à ou conduire ce genre d'essais.

Le personnel de laboratoire a la responsabilité de démontrer qu'il peut obtenir des résultats constants et précis avec un produit toxique de référence préalablement à la conduite d'essais définitifs avec cette méthode d'essai biologique de mesure de la toxicité de sédiments. Pour y parvenir, le laboratoire devrait déterminer en premier sa précision intralaboratoire, exprimée en pourcentage du coefficient de variation (% CV), en exécutant cinq essais ou plus avec le(les) produit(s) toxique(s) de référence recommandé(s) et différents lots d'organismes d'essai de la même espèce, au moyen des méthodes et conditions indiquées dans le présent document. Ceci devrait permettre d'acquérir l'expérience nécessaire avec cette méthode d'essai et servir de référence pour des essais ultérieurs (EPA, 1994a).

Le personnel de laboratoire devrait, pour chaque lot d'amphipodes de la même espèce recueillis sur le terrain, suivre la même procédure dans l'application courante de cet essai avec des produits toxiques de référence. Lorsque l'on a recueilli suffisamment de données (EC, 1990a), les CL50 obtenues lors de ces essais doivent être représentées graphiquement sur un diagramme de contrôle propre à l'espèce et étudiées pour déterminer si les résultats sont dans l'intervalle de ± 2 écarts types des valeurs obtenues dans les essais antérieurs avec la même espèce, le même produit toxique de référence et la même méthode. Un diagramme de contrôle distinct doit être préparé et mis à jour pour chaque espèce d'amphipodes marins ou estuariens utilisée avec cette méthode d'essai de toxicité de sédiments. Les logarithmes de concentrations devraient être portés en ordonnée et la date de l'essai ou le nombre d'essais en abscisse. Chaque nouvelle CL50 obtenue pour le produit toxique de référence doit être comparée avec les limites établies sur le diagramme de contrôle; la CL50 est acceptable si elle se situe à l'intérieur des limites d'avertissement. Tous les calculs d'écart moyen et d'écart type devraient être faits sur la base logarithmique (CL50).

Le logarithme de concentration (y compris la CL50) devrait être utilisé dans tous les calculs d'écart moyen ou d'écart type, et dans toutes les méthodes de présentation graphique. On a de la sorte l'assurance que toutes les CL50 ont été estimées en fonction des logarithmes de concentrations. Le diagramme de contrôle peut être établi en reportant les logarithmes de l'écart moyen et de ± 2 fois l'écart type sur du papier à échelle arithmétique, ou en portant les valeurs arithmétiques sur l'échelle logarithmique de papier semi-logarithmique. Lorsqu'on ne peut obtenir une distribution log-normale des CL50, il se peut qu'une moyenne arithmétique accompagnée d'un écart type se révèle plus appropriée. On devrait recalculer la moyenne des valeurs logarithmiques (CL50) disponibles ainsi que les limites de contrôle supérieure et inférieure (± 2 écarts types) pour chaque CL50 successive jusqu'à ce que les données statistiques se stabilisent (EC, 1990a, 1995, 1998b; EPA, 1994a).

Lorsqu'une CL50 donnée déborde des limites d'avertissement, la sensibilité des organismes soumis à l'essai ainsi que la valeur et la précision du système d'essai sont mises en doute. Comme cette situation peut se produire dans 5 % des cas, du fait du hasard

seulement, une CL50 qui s'inscrit en dehors des limites ne signifie pas nécessairement que la sensibilité du lot d'organismes d'essai ou que la précision des données toxicologiques soient en cause. Il s'agit plutôt d'un avertissement qu'il pourrait y avoir un problème. On devrait alors vérifier toutes les conditions de détention et d'essai et les modalités utilisées. Selon les résultats obtenus, la reprise de l'essai avec un produit toxique de référence pourrait s'avérer nécessaire, ou il se pourrait qu'il faille obtenir un nouveau lot d'organismes recueillis sur le terrain pour évaluer la toxicité des échantillons du matériau soumis à l'essai (lot qui fera l'objet d'un nouvel essai avec un produit toxique de référence).

Des résultats à l'intérieur des limites d'avertissement n'indiquent pas nécessairement qu'un laboratoire produit des résultats constants. Un laboratoire produisant des données très variables pour un produit toxique de référence aurait des limites d'avertissement très étendues. Une nouvelle donnée simple pourrait fort bien s'inscrire dans cet intervalle, mais refléter néanmoins une variation indésirable des résultats. Pour Environnement Canada (1990a, 1995), un coefficient de variation d'au plus 30 %, et de préférence de 20 % ou moins, semble raisonnable.

Méthodes particulières pour l'essai de sédiments prélevés sur le terrain ou de substances solides assimilées

La présente section donne des directives particulières pour la préparation et l'essai d'échantillons de sédiments prélevés sur le terrain ou de substances solides assimilées. Ces directives s'ajoutent aux méthodes décrites à la section 4.

On trouvera dans un document d'orientation d'Environnement Canada (1994), des recommandations détaillées sur le prélèvement, la manutention, le transport, le stockage et l'analyse de sédiments prélevés sur le terrain. Il faudrait suivre ces recommandations (en plus de celles qui sont fournies ci-après) lorsqu'on prélève des échantillons de sédiments et qu'on les prépare en vue d'essais de toxicité sur des amphipodes marins ou estuariens.

5.1 Prélèvement des échantillons

Le prélèvement d'échantillons de sédiments marins ou estuariens dont on veut évaluer la toxicité aiguë chez une ou plusieurs espèces d'amphipodes endofauniques marins ou estuariens peut se faire soit de façon régulière (p. ex., tous les trois, six ou douze mois) à un certain nombre de sites désignés, à des fins d'observation ou de conformité, soit lors d'études sur le terrain effectuées en vue de la définition spatial de la qualité des sédiments. Au cours de chaque échantillonnage sur le terrain, on devrait prélever à un ou plusieurs sites des échantillons de sédiments de référence (censément non contaminés).

Quand il s'agit de surveillance courante et de contrôle de la conformité aux règlements, on devrait prélever à chaque site d'échantillonnage, y compris un site ou plus de référence, des échantillons répétés multiples (c.-à-d., des échantillons distincts provenant de prises ou de carottes différentes extraites au même site (ASTM, 1991a; Chapman, 1991; Swartz, 1991; EC, 1994). Chacun de ces échantillons répétés prélevés sur le site doit être testé afin d'en déterminer la toxicité aiguë pour les amphipodes, en utilisant à cet effet au moins cinq récipients d'essai distincts par répétition. Quand on poursuit certains autres objectifs (p. ex., étude préliminaire ou approfondie de la répartition spatiale de la toxicité), le plan d'expérience pourrait ne prévoir qu'un seul échantillon par station, auquel cas l'échantillon serait normalement homogénéisé et réparti dans cinq récipients d'essai (c.-à-d., des échantillons répétés de laboratoire). Cette dernière méthode exclut toute détermination d'une toxicité moyenne à un site (station) d'échantillonnage donné, mais permet la comparaison statistique de la toxicité de chaque échantillon avec le contrôle, et si désiré, une comparaison entre les échantillons (stations) d'essai, en appliquant les tests statistiques appropriés.

On devrait chercher à prélever les sédiments de référence dans des sites où les propriétés physico-chimiques des sédiments, y compris les caractéristiques granulométriques, sont comparables à celles du(des) site(s) d'où proviennent les sédiments destinés aux essais. Idéalement, les sédiments de référence devraient être prélevés dans un site qui ne subit pas l'influence de la (des) source(s) de contamination mais proche de la région d'où proviennent les sédiments d'essai. Pour faciliter le choix des sites de prélèvement des sédiments de référence, il

est utile de réaliser des études préliminaires pour évaluer la toxicité et les propriétés physico-chimiques des sédiments dans la(les) région(s) concernée(s) et des sites à proximité. On recommande de prélever des sédiments de référence dans plus d'un site pour augmenter la probabilité d'une bonne concordance de la granulométrie et autres propriétés physico-chimiques avec les sédiments d'essai.

On peut prélever des échantillons de boues d'origine municipale ou industrielle (p. ex., boues d'égout, résidus miniers déshydratés ou boues provenant d'un clarificateur industriel ou d'un étang de décantation) dans le but d'évaluer leur toxicité aiguë, dans une environnement marin ou estuarien, chez des amphipodes endofauniques ou d'autres organismes benthiques sensibles. On peut aussi prélever d'autres déchets solides (p. ex., résidus de boues de forage provenant d'installations marines) afin d'en évaluer la toxicité et la composition chimique.

La méthode de prélèvement des échantillons (c.-à-d., à l'aide d'un carottier, d'une benne ou d'une drague, ou encore par une combinaison de moyens) dépend des objectifs de l'étude et de la nature des déchets solides. Pour prélever des échantillons de sédiments, on devrait utiliser une benne ou un carottier plutôt que de recourir à la drague, afin de minimiser la perturbation des échantillons. Il faut s'efforcer de réduire au minimum les pertes de particules fines au cours du prélèvement des échantillons. Si l'on obtient l'échantillon à l'aide d'une benne, on devrait employer un carottier de verre afin de prélever un échantillon dans la couche superficielle de 2 cm ou dans la couche visée. Cela est possible si l'on peut ouvrir la benne par le dessus pour mettre à découvert la surface des sédiments non remués.

L'échantillon devrait être transféré dans un récipient de verre ou de plastique propre (ASTM, 1991a; Environnement Canada, 1994).

On devrait appliquer la même méthode de prélèvement à tous les sites échantillonnés. Les avantages et désavantages d'une variété de méthodes et d'appareils servant au prélèvement des sédiments ont récemment fait l'objet d'études (ASTM, 1991b; Mudroch et MacKnight, 1991; EC, 1994).

5.2 Étiquetage, transport, stockage et analyse des échantillons

Les récipients destinés au transport et au stockage des échantillons de sédiments prélevés sur le terrain ou de matériaux solides assimilés doivent être faits d'un matériau non toxique. Ils doivent être neufs ou avoir été parfaitement nettoyés puis rincés avec de l'eau non contaminée.

Chaque récipient d'échantillonnage devrait être rempli à capacité pour éliminer l'air. Immédiatement après le remplissage, chaque récipient doit être scellé, puis étiqueté ou codé. L'étiquetage et un dossier s'y rattachant constitué à ce moment doit inclure au moins un code pouvant servir à identifier l'échantillon ainsi que son type, la source, l'endroit exact, le nombre d'échantillons répétés et la date de prélèvement. Ce dossier devrait aussi indiquer le nom et être signé par la(les) personne(s) ayant prélevé l'échantillon.

Les échantillons dont la température, lors de la collecte, est supérieure à 7° C devraient être ramenés à une température entre 1 et 7° C à l'aide de glace naturelle ou de sacs réfrigérants. Les échantillons devraient être gardés au frais (4 ± 3° C) et dans l'obscurité pendant toute la durée du transport (EC,

1994). La température et la date de réception des échantillons doivent être enregistrées à leur arrivée au laboratoire. Les échantillons destinés à un usage ultérieur doivent être stockés dans des récipients hermétiques et à l'obscurité, à 4 ± 2 ˚C (EC, 1994). Tout vide d'air dans le récipient de stockage doit être purgé avec de l'azote gazeux avant de le fermer hermétiquement (EC, 1994).

Les échantillons ne doivent pas geler entièrement ou partiellement pendant le transport ou le stockage et l'on ne doit pas les laisser se dessécher (ASTM, 1991a,b; EC, 1994). Il est recommandé de soumettre à l'essai les échantillons de sédiments ou de matière du même type dès que possible après leur prélèvement. Les essais de toxicité des sédiments devraient commencer dans un délai de deux semaines (Chapman, 1988; ASTM, 1991a,b), et de préférence d'une semaine; ils doivent commencer au plus six semaines après le prélèvement[22].

Au laboratoire, chaque échantillon de sédiments prélevés sur le terrain devrait être complètement homogénéisé (*cf.* 5.3), et des sous-échantillons représentatifs devraient être prélevés pour la caractérisation physico-chimique. Chaque échantillon (y compris tous les échantillons de sédiments de contrôle et de référence) doit être caractérisé par l'analyse de sous-échantillons qui portera au minimum sur : *pour les sédiments entiers* : pourcentage de sédiments à grains très grossiers (c.-à-d. particules > 1,0 mm), pourcentage de sable (>0,063 à 2,0 mm), pourcentage de limon (>0,004 à 0,063 mm), pourcentage d'argile (<0,004 mm), pourcentage de la teneur en eau et teneur en carbone organique total; p*our l'eau de porosité* : salinité, pH et ammoniaque (total et dissocié). Les autres analyses facultatives indiquées en 3.4 pour les sédiments de contrôle devraient également être considérées et faites au besoin. À moins d'indication contraire, les mêmes analyses devraient être effectuées sur des sous-échantillons représentatifs de chaque échantillon répété de sédiments prélevés sur le terrain (y compris les sédiments de référence) en vue d'une étude particulière de la qualité des sédiments, de même que sur un ou plusieurs sous-échantillons des sédiments de contrôle.

5.3 Préparation des matériaux à expérimenter

À l'exception des sédiments de contrôle, les échantillons de sédiments d'essai prélevés sur le terrain (y compris les sédiments de référence) ne doivent pas faire l'objet d'un tamisage à l'eau, car celui-ci élimine les contaminants qui sont présents dans l'eau de porosité ou faiblement fixés aux particules par adsorption (ASTM, 1991a; EC, 1994). Si les échantillons doivent être débarrassés d'organismes indigènes ou de débris, on peut les passer à travers un tamis en acier inoxydable à mailles de 1 ou 2 mm (sans ajout d'eau) (EPA, 1994a). On peut aussi se servir de pinces ou les retirer avec une main gantée.

---

[22] Il a été rapporté que la toxicité et la géochimie de sédiments contaminés provenant du port de Hamilton ont subi des changements après un stockage de plus d'une semaine, mais les données à l'appui de cette affirmation n'ont pas été fournies (Brouwer *et al.,* 1990). Une durée de stockage maximale de deux semaines est conforme aux normes actuellement en vigueur aux États-Unis (ASTM, 1991a,b). Dans des directives provisoires, on a prévu une durée de stockage maximale admissible de six semaines pour la mesure de la toxicité d'échantillons de sédiments (Environnement Canada, 1990a,c), compte tenu des difficultés pratique inhérentes à un délai plus court, notamment lorsque des analyses chimiques doivent être effectuées au préalable. D'après une étude récente de Outhoudt *et al.* (1991), la toxicité d'échantillons de sédiments d'eau douce n'a pas varié de façon significative à la suite de périodes de stockage de 7 à 112 jours, à une température de 4° C.

À moins que les objectifs d'une recherche ou d'une étude spéciale n'imposent un autre mode opératoire, on devrait homogénéiser au laboratoire chaque échantillon de matériau à expérimenter prélevé sur le terrain, avant de l'utiliser. L'homogénéisation des échantillons est précisée dans les documents d'orientation existants (EPA, 1990; ASTM, 1991a; EC, 1994); cependant, elle peut influer sur la biodisponibilité des contaminants, et elle pourrait donc ne pas être souhaitable dans tous les cas.

Pour obtenir un échantillon homogène, il pourrait s'avérer nécessaire de transférer dans un bol ou autre contenant de mélange la portion de l'échantillon requise pour les essais biologiques et chimiques. L'échantillon devrait être mélangé à l'aide d'un instrument non toxique (p. ex., cuillère ou spatule de plastique) jusqu'à ce que sa texture et sa couleur soient homogènes (Chapman, 1988). Les conditions dans lesquelles le mélange est effectué, notamment la durée et la température, doivent être normalisées pour chaque échantillon soumis à l'essai. Après l'opération de mélange, on doit retirer les sous-échantillons de la substance à expérimenter nécessaires pour les analyses chimiques, les combiner et les mélanger soigneusement pour s'assurer qu'ils sont représentatifs de la substance qui sera analysée dans l'essai de toxicité. En cas de doutes quant à l'efficacité du mélange auquel l'échantillon est soumis, on devrait prélever des sous-échantillons dans les contenant de mélange et les analyser séparément pour en déterminer l'homogénéité.

Si la granulométrie ou la salinité de l'eau de porosité se situent en dehors de l'intervalle des valeurs tolérables par l'espèce d'amphipodes soumise à l'essai, on doit recourir à une autre espèce d'organisme d'essai pouvant tolérer ces caractéristiques physico-chimiques (*cf.* 2.1 et annexes E à K). Pour tout essai effectué à des fins de surveillance ou de contrôle de la conformité aux règlements, il est interdit de procéder au tamisage à l'eau des échantillons de sédiments prélevés sur le terrain en vue d'ajuster la salinité de l'eau de porosité; cette pratique n'est d'ailleurs pas recommandée pour les autres activités courantes de surveillance[23].

Dans certains travaux de recherche, le tamisage à l'eau des échantillons de sédiments (ou d'une partie des échantillons) pourrait être indiqué; ainsi, on pourrait examiner l'effet de la salinité de l'eau de porosité sur la toxicité des échantillons en effectuant une série d'essai de 10 jours à des degrés de salinités différents. On pourrait aussi avoir recours à cette pratique lorsque les essais portent sur des sédiments qu'on sait anaérobies ou lorsqu'ils visent déterminer le rapport entre certains fractions des sédiments (tailles des particules) et la toxicité des échantillons. La méthode décrite à la sous-section 3.4 pour le tamisage du sédiment de contrôle peut servir de guide. Il pourrait s'avérer nécessaire, dans certains cas, de procéder à des essais de toxicité comparatifs portant sur des sédiments non tamisés, d'autre part, dans le but de déterminer l'effet du tamisage à l'eau sur la toxicité des échantillons et sur les constituants chimiques associés aux sédiments.

5.4 Eau d'essai

Pour les essais portant sur des sédiments prélevés sur le terrain ou des substances

---

[23] Elle entraîne une perte d'eau de porosité et la perte éventuelle de contaminants qui pourraient être biologiquement disponibles et, de ce fait, contribuer à la toxicité de l'échantillon.

solides assimilées, l'eau de mer versée dans les récipients d'essai devrait normalement provenir de la même source que l'eau utilisée pour acclimater les amphipodes et pour tamiser le sédiment de contrôle (*cf.* 3.5). Il peut s'agir de la réserve d'eau de mer naturelle non contaminée dont dispose le laboratoire, ou d'eau de mer reconstituée.

Dans certaines applications, le plan de l'expérience pourrait exiger l'utilisation d'eau de mer provenant du site où les sédiments d'essai ont été prélevés. Des directives sur la préparation et l'analyse de l'eau d'essai sont données en 2.5.4.

5.5 Observations et mesures

Lorsque l'essai est mis en route, on devrait faire une description qualitative de chaque matériau à expérimenter prélevé sur le terrain, ou l'on pourrait présenter les observations faites sur la couleur, la texture et l'homogénéité ainsi que sur la présence de plantes, d'animaux et de traces de terriers d'animaux. On devrait noter et rapporter tout changement dans l'aspect du matériau à expérimenter ou de l'eau de mer sus-jacente qui surviendrait au cours ou à la fin de l'essai.

Des mesures de la qualité de chaque échantillon du matériel devant être soumis à l'essai doivent être faites tel qu'indiqué en 5.2. La qualité de l'eau de recouvrement dans au moins un des récipients d'essai des échantillons répétés représentant chaque traitement doit être surveillée tel que décrit à la sous-section 4.3.

5.6 Résultats et calculs

Les documents d'Environnement Canada (1998b) ainsi que de l'EPA (1994a) devraient être consultés pour des renseignements détaillés sur les analyses statistiques appropriées pour les échantillons de sédiments prélevés sur le terrain.

Pour chaque échantillon du matériau à expérimenter prélevé sur le terrain (y compris les sédiments de contrôle et de référence), il faut calculer le pourcentage de survie des amphipodes dans chaque récipient d'essai au dixième jour. On doit aussi calculer le pourcentage moyen de survie (± l'écart type) pour les échantillons répétés de laboratoire de chaque échantillon et déterminer par comparaison les différences significatives résultant du traitement.

Dans bien des cas, il n'est pas nécessaire de mesurer les réactions sublétales des amphipodes aux sédiments prélevés sur le terrain ou autres matériaux du genre, car ces résultats secondaires ne montrent souvent guère plus de toxicité de l'échantillon (si même ils en montrent) que ne le font les données de toxicité aiguë. Sauf indication contraire dans les protocoles ou directives réglementaires, il n'est donc pas nécessaire de prévoir la mesure des résultats sublétaux pour les essais effectués à des fins de surveillance ou de contrôle de la conformité aux règlements. Font exception les essais de conformité effectués avec *Corophium volutator*, pour lesquels on devrait déterminer, pour chaque traitement répété, le pourcentage d'amphipodes survivants ayant émergé des sédiments au 10^{e} jour.

Si l'on mesure les effets sublétaux (c.-à-d., les pourcentages des amphipodes survivants qui ont émergé ou qui ne s'enfouissent pas dans les sédiments de contrôle au terme de l'exposition de 10 jours), ces données devraient être traitées statistiquement tel qu'indiqué dans le présent document.

À des fins de comparaison, il est préférable d'utiliser chaque fois que cela est possible les données d'essais avec des échantillons

répétés de laboratoire d'un échantillon de référence convenable (Paine et McPherson, 1991b; USEPA, 1994a). Il peut arriver que les sédiments de référence ne conviennent pas en raison de leur toxicité ou de caractéristiques physico-chimiques atypiques. Dans ces cas, les sédiments d'essais devraient être comparés aux sédiments de contrôle. Les résultats des sédiments de contrôle aideront à distinguer les effets qui sont dus au contaminant des effets résultant d'autres facteurs, comme la granulométrie. Que la comparaison statistique ait été établie avec les sédiments de référence ou de contrôle, il demeure que les résultats des sédiments de contrôle doivent être utilisés pour juger de la validité et de l'acceptabilité de l'essai (*cf.* 4.2).

Les méthodes statistiques et l'interprétation des résultats devraient être choisies en fonction du plan d'expérimentation et des objectifs de l'étude (voir EPA, 1994a; EC, 1998b et 1998c pour de plus amples renseignements). Lorsqu'on utilise la présente méthode d'essai biologique, on procède normalement en établissant des comparaisons par paire des données de survie pour chaque traitement par rapport aux données de survie pour des sédiments de référence ou de contrôle donnés. On commence par la vérification de la normalité de toutes les données par le test de *Shapiro-Wilk*, et de l'homogénéité de la variance (Eisenhart *et al.*, 1947; Sokal et Rohlf, 1969) par le *test de Bartlett* ou autres tests appropriés (EPA, 1994a). Ces méthodes et d'autres méthodes statistiques sont offertes dans TOXSTAT, une série de programmes statistiques informatisés que l'on peut se procurer auprès de WEST, Inc. (2003 Central Avenue, Cheyenne, WY, USA). Des instructions accompagnent les programmes informatisés TOXSTAT.

Les données de survie qui passent les tests de normalité et d'homogénéité de la variance devraient être traitées par comparaison par paire des résultats de chaque traitement d'essai par rapport aux résultats du traitement de référence ou de contrôle (voir explication donnée plus haut). On devrait pour cela appliquer le *test t de Student unilatéral* (Steel et Torrie, 1960). Si un ensemble de données ne répondent pas aux exigences de normalité et d'homogénéité de la variance, on devrait procéder à la transformation de la racine carrée arc sinus puis procéder à nouveau à la vérification de la normalité et de l'homogénéité de la variance (EPA, 1994a). Si, après transformation, les données ne répondent pas aux exigences de normalité, des analyses non paramétriques, telles que le *test de Wilcoxon* ou autres tests appropriés, devraient être conduites (EPA, 1994a). Si les données rencontrent les exigences de normalité, on devrait utiliser le *test de Bartlett* ou le *test de Hartley* pour vérifier l'hypothèse d'homogénéité de la variance. En cas d'échec, il faut utiliser un *test t de Student unilatéral modifié*, avec degré de liberté ajusté (EPA, 1994a). Pour les données transformées qui répondent aux exigences de normalité et d'homogénéité de la variance, on devrait effectuer une comparaison par paires directe au moyen du *test t de Student unilatéral*. Pour les essais comparatifs en vue de définir les variations spatiales de la toxicité des sédiments au moyen d'échantillons multiples, une analyse de la variance (ANOVA), suivie du *test de Dunnett*, du *test de Williams* (Williams, 1971, 1972) ou autre méthode appropriée pour les comparaisons multiples (EPA, 1994a; EC, 1998b), devrait être conduite à la suite des transformations arc sinus nécessaires pour déterminer si les valeurs des résultats pour différents traitements sont significativement différentes.

Méthodes particulières pour l'essai de produits chimiques ajoutés à des sédiments

La présente section donne des directives particulières concernant la préparation et l'essai de sédiments dopés avec des produits chimiques ou des mélanges de produits chimiques particuliers. Ces directives s'ajoutent aux méthodes décrites à la section 4. Les rapports d'Environnement Canada (1994, 1995) donnent des instructions plus détaillées et des recommandations pour la préparation et l'essai de sédiments dopés, et devraient être consultés pour des directives plus poussées.

Il pourrait être nécessaire d'effectuer des essais additionnels et de normaliser la méthode de préparation des mélanges à expérimenter (*cf. 6.2)* avant qu'on puisse appliquer cet essai à l'évaluation de mélanges particuliers de produits chimiques à des fins réglementaires.

6.1 Propriétés, étiquetage et stockage des échantillons

On devrait obtenir des renseignements sur les propriétés du produit chimique à expérimenter, notamment sa solubilité dans l'eau, sa tension de vapeur, sa stabilité chimique, ses constantes de dissociation et sa biodégradabilité. Lorsque la solubilité d'un produit dans l'eau est douteuse ou présente de difficultés, on devrait recueillir et consigner les méthodes admissibles utilisées antérieurement pour la préparation de solutions aqueuses de ce produit. On devrait également receuillir et consigner les autres renseignements existants, tels que la formule développée, le degré de pureté, la nature et la pourcentage des impuretés, la présence et les quantités d'additifs, et le coefficient de partage *n*-octanol/eau.

Dès réception, les contenants de produits chimiques doivent être fermés hermétiquement et codés ou étiquetés (nom du produit, fournisseur, date de réception, personne responsable de l'essai). Les conditions de stockage (p. ex., température et protection contre la lumière) sont souvent dictées par la nature du produit. On doit suivre les modes opératoires normalisés pour la manipulation et le stockage des produits chimiques.

6.2 Préparation des mélanges mélanges à expérimenter

Dans le cas d'un produit chimique, on devrait généralement effectuer un essai à concentrations multiples afin de déterminer la concentration létale 50 (CL50) après 10 jours de mélanges de ce produit chimique et d'un sédiment. Pour cela, on prépare normalement au moins cinq concentrations d'essai et un témoin. On peut utiliser une série géométrique de dilutions appropriée, dans laquelle chaque concentration du produit chimique dans le sédiment représente au moins 50 % de la concentration précédente (p. ex., 10 mg/kg, 5 mg/kg, 2,5 mg/kg, 1,25 mg/kg, 0,63 mg/kg)[24]. Les concentrations

[24] Les concentrations du produit chimique dans le sédiment sont normalement calculées et exprimées en µg/g ou mg/kg de matière sèche. Dans certains cas, les concentrations dans l'eau de porosité pourraient également être mesurées et exprimées en mg/L (Swartz *et al.*, 1985c, 1988).

d'essai peuvent également être choisies au moyen d'autres séries logarithmiques de dilutions appropriées (*cf.* annexe L). Afin de choisir une gamme de concentrations adéquate, on peut effectuer un essai préliminaire de détermination de l'ordre de grandeur, qui couvre une gamme plus vaste de concentrations.

Dans le cas des essais effectués pour évaluer la toxicité d'un produit chimique ou d'un mélange de plusieurs produits chimiques dans des sédiments de contrôle aux fins de réglementation par le gouvernement fédéral ou autres fins réglementaires, il faut préparer un minimum de cinq échantillons répétés pour chaque concentration d'essai et chacun des sédiments de contrôle inclus dans l'essai (voir note de bas de page 15, section 4). Les traitements répétés pourraient être réduits en nombre ou même complètement éliminés pour les essais de détermination de l'ordre de grandeur et, selon les différences prévues entre les récipients d'essai d'un même traitement, pour les essais de dépistage non réglementaires ou pour les travaux de recherche.

Il est recommandé de faire vieillir les mélanges de sédiments dopés pendant quatre semaines avant de mettre en route l'essai, conformément à la pratique courante (EPA, 1994a; EC, 1995). Bien que plusieurs études avec des sédiments dopés aient été entreprises dans les quelques heures ou quelques jours suivant la préparation des mélanges, des périodes de temps aussi courtes et variées pourraient ne pas être assez longues pour obtenir les conditions d'équilibre des produits chimiques mélangés dans les sédiments de contrôle. Un temps de vieillissement constant de quatre semaines avant d'entreprendre un essai de toxicité permettrait une certaine normalisation pour les comparaisons intra et interlaboratoires des résultats des essais conduits avec des sédiments dopés. Une fois préparé, chaque mélange devrait être placé dans un récipient approprié, hermétiquement fermé (pas de vide d'air), et entreposé à l'obscurité à 4 ± 2° C (*cf.* 5.2) pendant quatre semaines avant de l'utiliser.

Le choix de la méthode à utiliser dépend des objectifs de l'étude et de la nature du produit chimique à expérimenter. Dans la plupart des cas, on obtient un mélange en préparant une solution mère du produit chimique, dont on mélange un ou plusieurs volumes connus à un sédiment de contrôle (Swartz *et al.*, 1985c, 1988; ASTM, 1991a). Les concentrations du produit chimique dans le sédiment sont normalement calculées et exprimées en µg/g ou mg/kg de matière sèche (Swartz *et al.*, 1985c, 1988). Le solvant recommandé pour la préparation de la solution mère est de l'eau de mer filtrée dont la salinité est celle prévue pour l'essai (ASTM, 1991a). Cette eau peut être reconstituée ou naturelle (*cf.* 2.5.4); elle devrait être identique à l'eau de mer recouvrant le sédiment lors de l'essai (*cf.* 3.5 et 4.1).

Dans le cas d'un produit chimique qui ne se dissout pas facilement dans l'eau de mer, la solution mère peut être préparée au moyen de la technique de la colonne génératrice (Billington *et al.*, 1988; Shiu *et al.*, 1988) ou, comme second choix, par dispersion ultrasonique[25]. On peut aussi employeer d'autres techniques mises au point pour préparer des solutions mères aqueuses de substances peu solubles sans utiliser de

[25] La dispersion ultrasonique n'est pas recommandée parce qu'elle pourrait entraîner des variations de la biodisponibilité du produit chimique, et donc de sa toxicité, en raison de la production de gouttelettes non uniformes et de tailles différentes. Des gouttelettes pourraient également migrer vers la surface de l'eau pendant l'essai.

solvants organiques (ASTM, 1991a). Par ailleurs, on peut utiliser un solvant organique; le triéthylèneglycol est recommandé en raison de sa faible toxicité chez les organismes aquatiques, de sa faible volatilité et des sa capacité élevée de dissoudre de nombreux produits chimiques organiques (ASTM, 1991a). On peut enfin utiliser d'autres solvants, tels que le méthanol, l'éthanol ou l'acétone, bien qu'ils puissent contribuer à la toxicité de échantillons, modifier les propriétés des sédiments ou disparaître de la substance à expérimenter en raison de leur volatilité. On ne devrait pas utiliser de surfactants (ASTM, 1991a).

Si un solvant organique est utilisé, l'essai doit être effectué avec, d'une part, un sédiment de contrôle intact et, d'autre part, un sédiment de contrôle dans lequel le solvant est incorporé à la concentration la plus élevée présente dans les mélanges à expérimenter. Les solvants devraient être utilisés parcimonieusement, parce qu'ils pourraient contribuer à la toxicité des sédiments d'essai.

On devrait mélanger un volume connu de solution mère au sédiment de contrôle de façon à obtenir une distribution homogène du produit chimique dans le sédiment. Le mélange peut se faire à la main (p. ex., à l'aide d'une spatule ou d'une tige de verre propre), ou à l'aide d'un mélangeur mécanique (p. ex., Ditsworth *et al.*, 1990). On peut aussi enduire les parois d'un ballon avec le produit chimique, y ajouter une boue liquide formée de sédiment de contrôle et d'eau de mer, et mélanger le tout par agitation. Une autre solution consiste à ajouter directement un volume connu de la solution mère du produit chimique à une boue liquide composée de sédiment de contrôle et d'eau de mer, puis à agiter le mélange et à le laisser décanter (ASTM, 1991a, b). D'autres méthodes de mélange pourraient se révéler acceptables, pourvu qu'on puisse observer que le produit chimique est distribué de façon égale dans les sédiment. Les conditions du mélange doivent être normalisées pour chaque traitement inclus dans un essai, en particulier les proportions de solution et de sédiment, la durée du mélange, le temps de repos ainsi que la température au moment du mélange et du repos. Au besoin, on peut analyser des sous-échantillons du mélange afin de déterminer le degré de mélange et d'homogénéité.

Selon les objectifs de l'essai, il pourrait être souhaitable de déterminer l'effet des caractéristiques du substrat, soit sa granulométrie et son contenu organique, sur la toxicité létale aiguë des mélanges de produit chimique et de sédiment. On pourrait mesurer l'influence du premier de ces facteurs grâce à un essai simultané à concentrations multiples d'une durée de 10 jours portant sur des mélanges du produit chimique et de différentes fractions granulométriques du sédiment de contrôle tamisé. De même, on pourrait étudier l'effet du contenu organique du sédiment grâce à un essai simultané à concentrations multiples portant sur des mélanges du produit chimique et d'une série de sédiments de contrôle dont le contenu organique a été enrichi (Swartz *et al.*, 1985c). Un témoin distinct devrait être préparé et soumis à l'essai pour chaque fraction de sédiment ou chaque mélange de sédiment enrichi de matière organique qui est utilisé dans l'essai.

Les essais pourraient viser à mesurer la toxicité létale aiguë, chez une ou plusieurs espèces d'amphipodes endofauniques marins ou estuariens, d'une ou plusieurs concentrations d'un produit chimique particulier, ajoutées dans le récipient d'essai sous forme de solutions diluées d'eau de mer

recouvrant le sédiment. La méthode de préparation des concentrations d'essai pourrait varier selon les objectifs de l'étude. Une façon de procéder consisterait à introduire chaque solution d'essai dans un récipient contenant une couche de 2 cm de sédiment de contrôle ou d'un autre type de sédiment (p. ex., sédiment échantillonné sur le terrain) sans perturber le sédiment ou mélanger par la suite le sédiment et la solution d'essai. Selon une deuxième manière de procéder, la solution ajoutée à chaque récipient d'essai serait agitée en présence du sédiment durant une période prédéterminée, avant l'introduction des organismes soumis à l'essai. Les interactions entre le sédiment et le produit chimique pourraient varier de façon appréciable selon la démarche choisie, et entraîner ainsi des résultats qui pourraient être sensiblement différents. Sauf indication contraire, la température et la salinité de chaque solution d'essai devraient être telles que décrites à la sous-section 6.3. On doit préparer et traiter de façon identique des solutions de contrôle, y compris des solutions répétées d'eau de mer et, si l'on utilise un solvant, des mélanges répétés d'eau de mer et de solvant renfermant du solvant à la concentration la plus élevée observée dans les solutions d'essai.

6.3 Eau d'essai et eau de contrôle/de dilution

L'eau utilisée dans les essai d'un durée de 10 jours portant sur des mélanges de produit chimique et de sédiment, que ce soit pour la préparation des solutions mères ou des solutions d'essai ou en tant qu'eau d'essai, devrait normalement être de l'eau de mer non contaminée ayant une température de 15 ± 2° C et une salinité de 28 ± 2 g/kg[26]. Cette eau peut être de l'eau de mer reconstituée ou naturelle (*cf.* 2.5.4, 3.5). On recommande l'utilisation d'eau de mer reconstituée lorsqu'un niveau élevé de normalisation est requis (p. ex., lorsqu'il faut comparer et évaluer les mesures de la toxicité de mélanges de produit chimique et de sédiment avec les données de toxicité obtenues pour le même produit ou d'autres dans différentes installations d'essai).

6.4 Observations et mesures

Au moment où l'essai est mis en place, on devrait procéder à une description qualitative de chaque mélange de produit chimique et de sédiments ainsi que de l'eau de mer qui les recouvre. Cette description pourrait comprendre des observations sur la couleur, la texture et l'homogénéité de chaque mélange et sur la couleur et l'opacité de l'eau de mer sus-jacente. On devrait noter tout changement dans l'aspect du mélange ou de l'eau de mer, aussi bien au cours de l'essai qu'au terme de l'essai. On devrait procéder à des mesures de la qualité de chaque mélange soumis à l'essai (y compris les sédiments de contrôle) et de l'eau de mer sus-jacente, et consigner ces mesures de la façon décrite aux sous-sections 3.4, 4.3 et 5.2.

Si les moyens d'analyse le permettent, il est recommandé d'analyser les solutions mères, l'eau de porosité[27], les mélanges de produit

---

[26] Selon le plan et les objectifs de l'étude, ou d'autres considérations, il se pourrait qu'une salinité différente convienne mieux. Par exemple, on pourrait utiliser dans l'essai une salinité caractéristique d'un milieu récepteur particulier. Si *A. virginiana* est l'organisme d'essai, la température d'essai doit être de 10 ± 2° C (*cf.* 3.2).

[27] L'eau de porosité des sédiments peut être isolée par différentes méthodes; la centrifugation et la compression produisent généralement les meilleurs résultats (ASTM, 1991b). On devrait suivre les recommandations d'Environnement Canada (1994) concernant l'extraction de l'eau de porosité.

chimique et de sédiment (analyse de la masse sèche) et les solutions d'essai (si elles sont étudiées) afin de déterminer les concentrations exactes du produit chimique auxquelles sont exposés les amphipodes. Pour ce faire, on devrait prendre des aliquotes au moins dans les solutions à concentration supérieure, moyenne et inférieure, au début et à la fin de l'essai. Ces aliquotes devraient être préservées, stockées et analysées au moyen des meilleures méthodes éprouvées dont on dispose pour mesurer la concentrations du produit chimique en cause, qu'il soir en solution aqueuse ou fixé au sédiment par adsorption.

Dans tous les essais au cours desquels on mesure les concentrations, les résultats de toxicité devraient être calculés et exprimés en fonction des concentrations moyennes mesurées tant pour les sédiments entiers (µg/kg ou mg/kg, poids sec) que pour l'eau de porosité (µg/L ou mg/L), à moins qu'il n'y ait de bonnes raisons de croire que les mesures chimiques ne sont pas exactes. Lorsque l'essai concerne des concentrations d'un produit chimique ajouté à l'eau de mer sus-jacente, on devrait également exprimer les résultats sous forme d'une moyenne des concentrations mesurées pour les sédiments et l'eau de porosité; on devrait cependant calculer et consigner aussi les concentrations moyennes du produit chimique mesurées dans les solutions d'essai recouvrant les sédiments.

6.5 Résultats et calculs

Dans la plupart des cas, les résultats des essais effectués avec des mélanges de produit chimique et de sédiment comprendront une CL50 après 10 jours (basée sur le pourcentage de mortalité), ainsi que toute CE50 après 10 jours qui pourrait être basée sur les pourcentages d'émergence ou d'enfouissement dans le sédiment de contrôle à la fin de l'essai. Le résultat principal est la CL50 après 10 jours; la détermination de résultats secondaires (effets sublétaux) pourrait ou non faire partie des objectifs de l'essai et, dans certains cas, pourrait être impossible à partir des données de l'étude.

Si l'on étudie une gamme appropriée de concentrations du produit chimique dans le sédiment (*cf.* 6.2), on peut utiliser les données sur la mortalité des amphipodes à chaque concentration afin de calculer la concentration létale 50 (CL50) après 10 jours et ses limites de confiance à 95 %. Afin d'estimer une CL50, on compile les données de mortalité après 10 jours pour tous les traitements répétés de chaque concentration. Lorsque la mortalité n'est pas égale ou supérieure à 50 % dans au moins une concentration, il est impossible d'estimer la CL50. Lorsque la mortalité est nulle à une certaine concentration, on considère que l'effet correspond à 0 % de mortalité. Cependant, lorsque la mortalité est nulle dans une série de concentrations successives, une seule de ces valeurs devrait être utilisée pour l'évaluation de la CL50; il s'agit du résultat associé à la plus forte concentration, c'est-à-dire de l'effet nul est "le plus près du centre" de l'intervalle de distribution des données. De la même façon, s'il y avait une série de taux de mortalité de 100 % à des concentrations élevées dans un essai, une seule valeur correspondant à un effet de 100 % serait utilisée; une fois encore, ce serait celle qui est "le plus près du centre"de l'intervalle des valeurs, c'est-à-dire l'effet à la plus faible de ces concentrations. L'utilisation d'une seule valeur correspondant à 0 % et d'une seule valeur correspondant à 100 % d'effet s'applique à l'analyse des données par programme informatique ou par établissement manuel d'un graphique. L'utilisation de valeurs

additionnelles de 0 % ou de 100 % pourrait fausser l'estimation de la CL50.

On peut utiliser différents programmes informatiques pour calculer la CL50 et ses limites de confiance. Stephan (1977) a mis au point un programme de calcul de la CL50 qui fait appel à trois méthodes (des probits, de la moyenne mobile et binomiale) et l'a adapté aux ordinateurs personnels compatibles IBM. Ce programme en BASIC est recommandé; il est possible d'en obtenir une copie en envoyant une disquette à Environnement Canada, à l'adresse fournie à l'annexe B[28]. Un programme efficace d'analyse des probits sur micro-ordinateur est également offert par Hubert (1987); en outre, on peut utiliser d'autres méthodes manuelles et informatiques qui donnent des résultats satisfaisants (APHA *et al.*, 1989; EPA, 1989). Des programmes qui font appel à la méthode abrégée de Spearman-Karber (Hamilton *et al.*, 1977) sont indisponibles pour les ordinateurs personnels, mais nous ne les recommandons pas puisque les personnes qui ne connaissent pas bien les incidences de l' écrêtement des données dose-effet pourraient obtenir des résultats divergents.

Le programme de Stephan (1977), que nous recommandons, fournit des estimations de la CL50 et des limites de confiance selon chacune des trois méthodes qu'il utilise, pourvu que l'ensemble de données comprenne au moins deux cas où une partie des amphipodes sont morts. Avec des données uniformes ou régulières, les trois estimations seront sans doute semblables, et les valeurs fournies par l'analyse des probits devraient être préférées aux autres et consignées dans le procès-verbal de l'essai. L'estimation binomiale pourrait différer quelque peu des autres, et on ne devrait l'utiliser qu'en dernier recours. Lorsqu'il n'y a pas, dans les résultats, deux cas où une partie des amphipodes sont morts, seule la méthode binomiale fonctionne; elle peut être appliquée à l'obtention de la meilleure estimation possible de la CL50, avec des limites de confiance prudentes (larges).

Toute CL50 qui résulte de calculs informatique devrait être vérifiée au moyen d'un graphique, sur échelle de probabilité logarithmique, du pourcentage de mortalité après 10 jours aux différentes concentrations d'essai (APHA *et al.*, 1989). Tout écart important entre la CL50 estimée sur ce graphique et la valeur calculée par ordinateur doit être résolu.

La figure 2 présente une courbe tracée à la main des données sur la mortalité et les concentrations, qu'on utilise pour estimer une CL50. Dans cet exemple théorique, 100 amphipodes (cinq répétitions de 20 organismes par concentration) ont été exposé à chacune de cinq concentrations (1,8, 3,2, 5,6, 10 et 18 mg de produit chimique par kilogramme de sédiment, selon la masse sèche). Les pourcentages de mortalité (0, 20, 40, 90 et 100 %) on été inscrits sur le graphique et on a tracé, à l'oeil, la droite de meilleur ajustement. On peut établir la concentration qu'on prévoit être létale pour 50 % des organismes en suivant la ligne pointillée à partir du niveau de 50 % jusqu'à son intersection avec la ligne ajustée, puis en passant à l'axe horizontal pour une estimation de la CL50, soit 5,6 mg/kg.

En traçant une droite comme celle de la figure 2, on devrait attribuer relativement plus d'importance aux points qui sont proches de 50 % de mortalité. On peut se procurer du papier ("log-probit", comme à la figure 2) dans toutes les bonnes librairies à vocation technique, ou en commander par leur entremise.

---

[28] Avec la permission de Charles E. Stephan, Ph.D. (EPA, Duluth, MN).

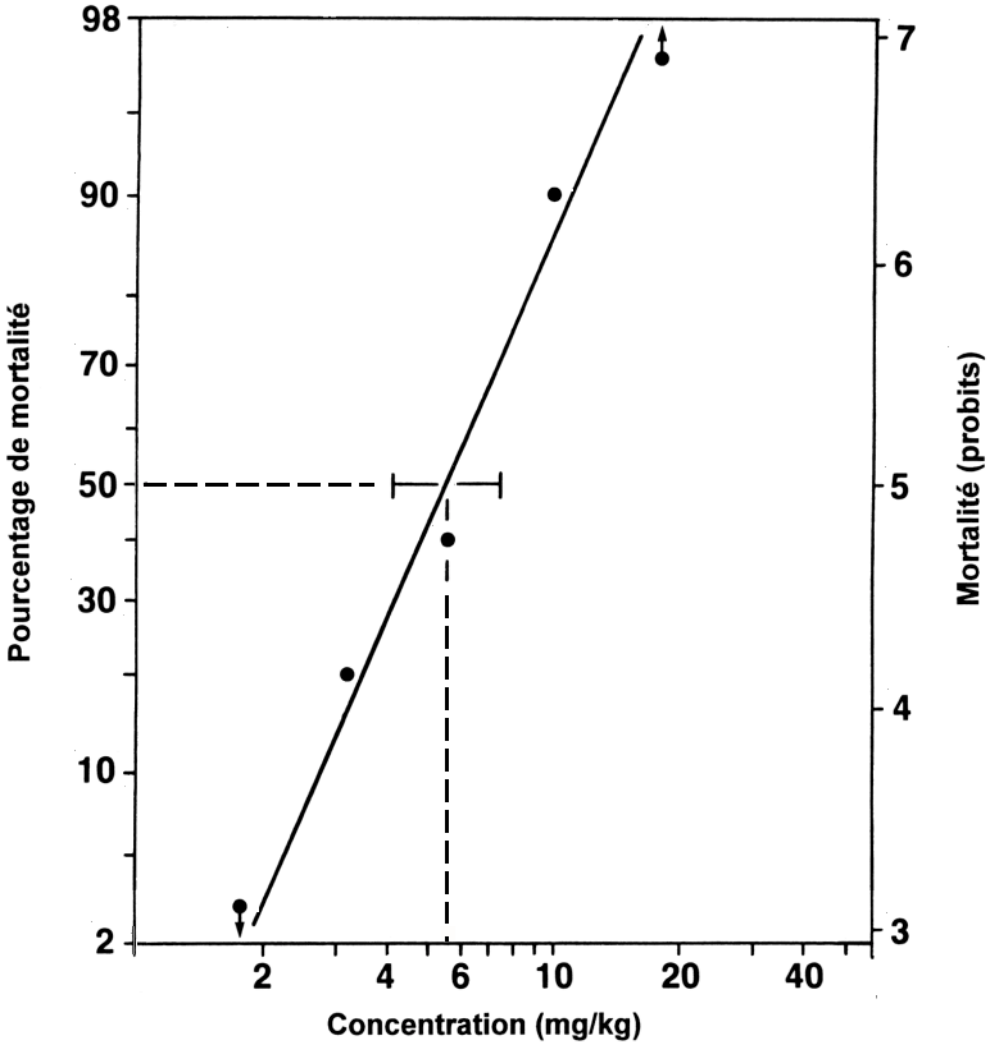


Figure 2 **Estimation de la concentration létale 50 par la représentation graphique de la mortalité sur papier de probabilité logarithmique**

Les programmes informatique ont donné des estimations très proches de celle fournie par le graphique de la figure 2, établi à partir de données régulières. Les CL50 (et les limites de confiance à 95 %) étaient les suivantes :

Analyse des probits de Hubert (1987) :		5,56 (4,28–7,21)
Stephan (1977) :	probits	5,58 (4,24–7,37)
	moyenne binomiale	5,58 (4,24–7,33)
	binomiale	6,22 (1,8–10)
Méthode de Spearman-Karber : (Hamilton *et al.*, 1977)	écrêtement de 0 %	5,64 (4,38–7,26)
	écrêtement de 10 %	5,73 (4,34–7,58)
	écrêtement de 20 %	5,95 (4,34–9,80)

La méthode binomiale n'a pas donné d'estimation des limites de confiance, mais elle a permis de choisir deux concentrations d'essai comme limites extrêmes d'un intervalle à l'intérieur duquel se trouveraient les vraies limites de confiance.

On peut analyser les données sur les effets sublétaux obtenues dans des essais à concentrations multiples afin de calculer des concentrations efficaces 50 (CE50) et leurs limites de confiance à 95 %. On devrait déterminer des CE50 distinctes pour chacune des réactions sublétales quantifiées (soit le pourcentage des amphipodes survivants qui ont émergé des sédiments au 10^{e} jour, et le pourcentage des survivants qui ne s'enfouissent pas dans les sédiment de contrôle à la fin de l'essai). Les procédés statistiques appliqués au calcul des ces résultats sont les mêmes que ceux décrits pour la CL50.

Si un essai de toxicité de sédiments de 10 jours comprend un contrôle constitué de sédiments non contaminés et un contrôle avec solvant, on devrait comparer statistiquement le pourcentage moyen (± écart type) de survie et les résultats des effets sublétaux (sous-section 4.4) déterminés pour chacun de ces contrôles. On peut dans ce cas appliquer le test *t* de Student (Steel et Torrie, 1960). Si un écart statistiquement significatif d'un résultat quel qu'il soit est constaté entre les deux contrôles, seul le contrôle avec solvant peut être utilisé pour répondre aux critères de validité de l'essai spécifiques à l'espèce (*cf.* 4.2). Si l'on ne constate pas d'écart statistiquement significatif, on peut réunir les données provenant des deux contrôles pour assurer la validité de l'essai (ASTM, 1991a).

Procès-verbal de l'essai

Le procès-verbal de l'essai devrait décrire les matériaux et les méthodes utilisés ainsi que les résultats de l'essai. À partir de ce document, le lecteur devrait être en mesure de savoir si, compte tenu des conditions et des méthodes utilisées, les résultats sont admissibles pour l'utilisation prévue.

On peut citer les méthodes et conditions qui sont communes à une série continue d'essais (p. ex., essais de toxicité courants à des fins de surveillance et de conformité) et qui sont conformes aux dispositions du présent document. On peut aussi présenter en annexe un rapport général définissant le mode opératoire normalisé. Pour les diverses exigences en matière de rapport, identifiées par des boulets dans les sous-sections 7.1 à 7.7 inclusivement, celles se rapportant aux renseignements particuliers à l'essai doivent être incluses dans le procès-verbal de l'essai. Les renseignements méthodologiques sur des procédures de laboratoire normalisées utilisées pour la réalisation de cette méthode d'essai biologique peuvent être consignées dans le rapport général.

Le procès-verbal de l'essai doit signaler tout écart qui a pu se produire relativement aux exigences indiquées par "doit", "doivent" ou encore "il faut" dans les sections 2 à 6 de cette méthode d'essai biologique. Si tel a été le cas, le non-respect des exigences doit être détaillé. Des programmes de surveillance particuliers ou des protocoles pertinents à l'essai pourraient exiger la mention de certains éléments d'information (p. ex., méthodes et(ou) conditions particulières indiquées dans le programme - ou le protocole) dans le procès-verbal de l'essai ou demander à ce que certaines informations pertinentes à l'essai soient consignées comme "données à verser au dossier". Les détails concernant la réalisation et les résultats de l'essai qui ne sont pas consignés dans le procès-verbal ou le rapport général devraient être versés aux dossiers du laboratoire de sorte qu'on puisse obtenir les renseignements voulus si une vérification de l'essai s'avère nécessaire.

7.1 Substance à expérimenter

- Type d'échantillon (p. ex., produit chimique, sédiment prélevé sur le terrain, boue ou autre déchet solide); source et description de l'échantillon; lieu, méthode et calendrier de prélèvement; détails sur la nature, l'aspect et les propriétés de l'échantillon, ainsi que son volume ou son poids.

- Renseignements sur l'étiquetage ou la codage de la substance à expérimenter.

- Détails sur les modalités de prélèvement, de transport et des stockage des échantillons (p. ex., échantillon prélevé par carottier ou par benne, description de contenant et température de l'échantillon à la réception et pendant le stockage).

- Identité des personnes ayant prélevé ou fourni l'échantillon.

- Date du prélèvement de l'échantillon, de sa réception à l'installation d'essai et du début de l'essai définitif.

7.2 Organismes soumis à l'essai

- Espèce, source et date de prélèvement.
- Description des méthodes de tri, d'identification et de manipulation des amphipodes.
- Description des conditions de détention et d'acclimatation : installations, éclairage; source et qualité de l'eau de mer; prétraitement de l'eau; taux de renouvellement de l'eau et densité des amphipodes dans les contenants détention; salinité; température et oxygène dissous au cours de la détention et de l'acclimatation; durée de l'acclimatation.
- Pourcentage quotidien d'amphipodes ayant émergé du sédiment de contrôle au cours de la période de détention et d'acclimatation.
- Longueur totale moyenne du corps des amphipodes utilisés pour l'essai (avec indication des longueurs extrêmes et de la taille de l'échantillon).

7.3 Installations et appareillage

- Nom et adresse du laboratoire d'essai.
- Nom des personnes ayant effectué l'essai.
- Description des systèmes d'éclairage et de réglage de la température dans l'installation d'essai.
- Description des récipients d'essai et des couvercles (taille, forme, matériau) ainsi que du système et des appareils d'aération.
- Description des méthodes de nettoyage ou de rinçage de l'appareillage.

7.4 Sédiment de contrôle et eau d'essai

- Type et source u sédiment de contrôle et de l'eau d'essai.
- Type et quantité de tout produit chimique ajouté à l'eau d'essai.
- Méthodes et conditions d'échantillonage et de stockage du sédiment de contrôle.
- Prétraitement du sédiment de contrôle (p. ex., tamisage, décantation des particules fines passées au tamis) et de l'eau d'essai (p. ex., ajustement de la température et de la salinité, dégazage, débit et durée d'aération).
- Mesures de la qualité du sédiment de contrôle (cf. 3.4) et de l'eau d'essai (cf. 3.5) avant l'essai de toxicité ou au début de cet essai.

7.5 Méthode d'essai

- Brève mention de la méthode utilisée, s'il s'agit d'une méthode normalisée (p. ex., conforme au présent document).
- Conception et description de méthodes, si elles sont spécialisées (p. ex., tamisage des sédiments d'essai recueillis sur le terrain, préparation des mélanges de sédiment et de produit chimique) ou si l'on apporte des modifications à une méthode normalisée.
- Méthodes utilisées pour mélanger ou manipuler de quelque autre façon les

sédiments d'essai avant leur utilisation; durée écoulée entre la préparation et l'essai.

- Méthode utilisée pour préparer les solutions mères ou les solutions d'essai de produits chimiques.

- Méthodes utilisées pour la préparation et l'essai d'un produit toxique de référence (p. ex., sédiment de contrôle dopé).

- Méthodes utilisées pour l'analyse chimique des substances à expérimenter, des mélanges de sédiments, de l'eau de porosité et de l'eau d'essai. Détails relatifs à l'échantillonnage ainsi qu'à la préparation et au stockage des échantillons avant l'analyse chimique.

- Utilisation d'un essai préalable ou de détermination de l'ordre de grandeur.

- Fréquence et nature des observations au cours de l'essai.

7.6 Conditions de l'essai

- Nombre de récipients d'essai pour chaque traitement; concentrations d'essai (le cas échéant).

- Profondeur, poids et volume du sédiment et de l'eau dans les récipients d'essai.

- Nombre d'organismes par récipient d'essai.

- Éclairement adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.

- Débit et mode d'aération des récipients d'essai, avant et pendant l'essai.

7.7 Résultats de l'essai

- Mesures physiques ou chimiques (p. ex., concentration de produit chimique, salinité, pH, rH, oxygène dissous, composition granulométrique, contenu organique, température) prises, avant et pendant l'essai, sur les sédiments de contrôle et de référence, les substances à expérimenter, l'eau de porosité et, le cas échéant, l'eau de contrôle/de dilution.

- Aspect des sédiments de contrôle et de référence, des substances soumises à l'essai et de l'eau de mer sus-jacente, et changements observés pendant l'essai.

- Résultats biologiques (p. ex., moyenne ± écart type pour le pourcentage d'amphipodes survivants après l'exposition de 10 jours, moyenne ± écart type pour le pourcentage de survivants ayant émergé des sédiments dans $\leq$10 jours, moyenne ± écart type pour le pourcentage de survivants non réenfouis dans les sédiments de contrôle à la fin de l'essai) calculés pour chacun des sédiments d'essai ou chacune des concentrations d'essai, ainsi que les résultats de toute comparaison statistique.

- Résultats biologiques calculés pour chaque sédiment d'essai; par exemple, moyenne (± σ) des pourcentages d'amphipodes morts au cours de l'exposition de 10 jours; moyenne (± σ) des pourcentages d'amphipodes survivants ayant émergé des sédiments dans les 10 jours; moyenne (± σ) des pourcentages d'amphipodes survivants

qui ne sont pas enfouis dans le sédiment de contrôle à la fin de l'essai. Résultats de toute comparaison statistique.

- CL50 ou CE50 (y compris les limites de confiance à 95 % qui s'y rapportent) déterminée pour le produit toxique de référence, et méthode statistique utilisée pour son calcul.

- Résultats de l'essai effectué avec un toxique de référence au cours de l'essai de toxicité et moyenne géométrique ($\pm 2\ \sigma$) des résultats obtenus avec le même produit toxique dans l'installation d'essai, au cours d'essais antérieurs.

- Indication à savoir si les résultats sont fondés sur des concentration nominales ou mesurées de la substance à expérimenter.

- Résultats de toutes les autres observations ou analyses portant sur les échantillons de sédiments de contrôle et de référence et sur les échantillons de substances à expérimenter (p. ex., traces d'animaux, présence d'animaux ou de détritus, analyses géochimiques).

- Relevé de tout ce qui a paru inhabituel concernant l'essai, des difficultés rencontrées et des mesures correctives prises.

Références

APHA, AWWA et WPCF [American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation], "Toxicity Test Methods for Aquatic Organisms", Part 8000, p. 8-1 to 8-143, in: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th ed., Washington, D.C. (1989).

Armstrong, F.A.J. et D.P. Scott, "Photochemical Dechlorination of Water Supply for Fish Tanks with Commercial Water Sterilizers", *J. Fish Res. Board Can., 31*:1881–1885 (1974).

ASTM [American Society for Testing and Materials], "Standard Guide for Conducting 10-day Static Sediment Toxicity Tests with Marine and Estuarine Amphipods", E1367-90, p. 1052–1075, in: *1991 Annual Book of ASTM Standards, Pesticides, Resource Recovery, Hazardous Substances and Oil Spill Responses, Waste Disposal, Biological Effects*, Vol. 11.04. Philadelphia, PA (1991a).

ASTM, "Standard Guide for Collection, Storage, Characterization, and Manipulation of Sediments for Toxicological Testing", E1391-90, p. 1105–1119, in: *1991 Annual Book of ASTM Standards, Pesticides, Resource Recovery, Hazardous Substances and Oil Spill Responses, Waste Disposal, Biological Effects*, Vol. 11.04. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1991b).

ASTM, "Standard Guide for Conducting Sediment Toxicity Tests with Freshwater Invertebrates", E1383-90, p. 1085–1104, in: *1991 Annual Book of ASTM Standards, Pesticides, Resource Recovery, Hazardous Substances and Oil Spill Responses, Waste Disposal, Biological Effects*, Vol. 11.04. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1991c).

Barnard, J.L., "The Amphipod Family Phoxocephalidae in the Eastern Pacific Ocean, with Analyses of Other Species and Notes for a Revision of the Family", *Allan Hancock Pacific Exped., 18*:175–368 (1960).

Barnard, J.L., "A New Species of Sand-burrowing Marine Amphipoda from California", *Bull. South. Calif. Acad. Sci., 61(4)*:249–252 (1962).

Barnard, J.L. et C.M. Barnard, "The Genus *Rhepoxynius* (Crustacea: Amphipoda: Phoxocephalidae) in American Seas", *Smithsonian Contributions to Zoology, 356*:1–49 (1982).

Becker, D.S., G.R. Bilyard, et T.C. Ginn, "Comparisons Between Sediment Bioassays and Alterations of Benthic Macroinvertebrate Assemblages at a Marine Superfund Site: Commencement Bay, Washington", *Environ. Toxicol. Chem., 9*:669–685 (1990).

Billington, J.W., G.-L. Huang, F. Szeto, W. Y. Shiu, et D. MacKay, "Preparation of Aqueous Solutions of Sparingly Soluble Organic Substances: I. Single Component Systems", *Environ. Toxicol. Chem., 7*:117–124 (1988).

Bosworth, W.S., Jr., "Three New Species of *Eohaustorius* (Amphipoda: Haustoriidae)

from the Oregon Coast", *Crustaceana, 25*:253–260 (1973).

Bosworth, W.S., Jr., "Biology of the Genus *Eohaustorius* (Amphipoda: Haustoriidae) on the Oregon Coast", Ph.D. Thesis, Oregon State of University, Corvallis, OR (1976).

Bousfield, E.L., "Littoral Marine Arthropods and Molluscs Collected in Western Nova Scotia, 1956," *Proc. N.S. Inst. Sci., 24*:303–318 (1958).

Bousfield, E.L., *Shallow-water Gammaridean Amphipoda of New England*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 312 p. (1973).

Bousfield, E.L., Communication personelle : notes de terrain, côte du Pacifique, canada et États-Unis, Ottawa (Ont.), Musées nationaux du Canada, (1990a).

Bousfield, E.L., "Report on Species of Marine Amphipod Crustaceans Suitable for Toxicity Testing at Marine Laboratories on the Atlantic and Pacific Coasts of Canada", Rapport inédit préparé pour McLeay Associates Ltd., West Vancouver (C.-B.) (1990b).

Bousfield, E.L. et A.H. Leim, "The Fauna of Minas Basin and Minas Channel", *Bulletin du Musée National du Canada, 166*:1–30 (1960).

Bousfield, E.L. et D.R. Laubitz, "Station Lists and New Distributional Records of Littoral Marine Invertebrates of the Canadian Atlantic and New England Regions", Publications en océanographie biologique, no 5. Ottawa (Ont.), Musée Canadien des sciences naturelles (1972).

Bower, C.E. et J.P. Bidwell, "Ionization of Ammonia in Sea Water: Effects of Temperature, pH and Salinity', *J. Fish Res. Board Can., 33(7)*:1012–1016 (1978).

Breteler, R. J., K.J. Scott, and S.P. Shepherd, "Application of a New Sediment Toxicity Test Using the Marine Amphipod *Ampelisca abdita* to San Francisco Bay Sediments", p. 304–314, in: *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment*, U.M. Cowgill et L.R. Williams (éd). 12th Volume, ASTM STP 1027, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1989).

Brouwer, H., T. Murphy, and L. McArdle, "A Sediment-contact Bioassay with *Photobacterium phosphoreum", Environ. Toxicol. Chem., 9*:1353–1358 (1990).

Burton, G.A., Communication personnelle, Director, Environmental Health Sciences Program, Wright State University, Dayton, OH (1991).

Cairns, M.A., A.V. Nebeker, J.H. Gakstatter, et W.L. Griffis, "Toxicity of Copper-spiked Sediments to Freshwater Invertebrates", *Environ. Toxicol. Chem., 3*:435–445 (1984).

Carr, R.S. et D.C. Chapman, "Comparison of Solid Phase and Pore Water Approaches for Assessing the Quality of Estuarine Sediments", communication présentée à la 11e réunion annuelle de la Society of Environmental Toxicology and Chemistry, November 11–15, 1990, Arlington, VA (1990).

Chapman, P.M., "Sediment Bioassay Tests Provide Toxicity Data Necessary for Assessment and Regulation," p. 178–197, Compte rendu des communications du onzième Atelier annuel sur la toxicité

aquatique : 13-15 novembre 1984, Vancouver (C.-B.). Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques no. 1480. Ottawa (Ont.), Pêches et Océans Canada, 1986, p. 178-197. Ontario (1986).

Chapman, P.M., "Marine Sediment Toxicity Tests", p. 391–402, in: *Chemical and Biological Characterization of Sludges, Sediments, Dredge Spoils, and Drilling Muds*, J.J. Lechtenberg, F.A. Winter, C.I. Weber, et L. Fradkin, (éd). ASTM STP 976, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1988).

Chapman, P.M., Communication personnelle, EVS Consultants Ltd., North Vancouver, B.C. (1991).

Chapman, P.M. et S. Becker, "Recommended Protocols for Conducting Laboratory Bioassays on Puget Sound Sediments", Puget Sound Estuary Program, U.S. Environmental Protection Agency, Seattle, Washington (1986).

Chapman, P. M. et R. Fink, "Additional Marine Sediment Toxicity Tests in Connection with Toxicant Pretreatment Planning Studies, Metro Seattle", Rapport inédit préparé par EVS Consultants for the Municipality of Metropolitan Seattle, WA (1983).

Chapman, P.M., G.A. Vigers, M.A. Farrell, R.N. Dexter, E.A. Quilan, R.M. Kocan, et M.L. Landolt, "Survey of Biological Effects of Toxicants Upon Puget Sound Biota. I. Broad-scale Toxicity Survey", NOAA Tech. Memo. OMPA-25, National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, WA (1982).

Chapman, P.M., R.N. Dexter, S.F. Cross, et D.G. Mitchell, "A Field Trial of the Sediment Quality Triad in San Francisco Bay", NOAA Tech. Mem. NOS OMA 25, National Oceanic and Atmospheric Administration, Rockville, MD (1986).

Chapman, P.M., R.N. Dexter, et E.R. Long, "Synoptic Measures of Sediment Contamination, Toxicity and Infaunal Community Composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay;" *Marine Ecol., 37:*75–96 (1987).

Chapman, P.M.., E.A. Power, R.N. Dexter, et H.B. Andersen, "Evaluation of Effects Associated with an Oil Platform, Using the Sediment Quality Triad", *Environ. Toxicol. Chem., 10:*407–424 (1991).

Cross, S.F., J.M. Boyd, P.M. Chapman, et R.O. Brinkhurst, "A Multivariate Approach for Defining Spatial Impacts Using the Sediment Quality Triad", p. 886, Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk, et W. Knapp, (éd), Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol. 2 Ottawa (Ont.) Pêches et Océans Canada (1991).

DeWitt, T.H., G.R. Ditsworth, et R.C. Swartz, "Effects of Natural Sediment Features on Survival of the Phoxocephalid Amphipod, *Rhepoxynius abronius," Marine Envir. Res., 25*:99–124 (1988).

DeWitt, T.H., R.C. Swartz, et J.O. Lamberson, "Measuring the Acute Toxicity of Estuarine Sediments", *Environ. Toxicol. Chem., 8*:1035–1048 (1989).

Dexter, R.N., “Sediment Quality Triad Approach”, p. 1017, Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk, et W. Knapp (éd), Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol 2, Ottawa (Ont.) Pêches et Océans Canada, (1991).

Ditsworth, G.R., D.W. Schults, and J.K.P. Jones, “Preparation of Benthic Substrates for Sediment Toxicity Testing”, *Environ. Toxicol. Chem., 9:*1523–1529 (1990).

Doe, K. et S. Wade, “Unpublished Data”, Atlantic Regional Laboratory, Environment Canada, Dartmouth, Nova Scotia (1991).

Eisenhart, C., M.W. Hastay, and W.A. Wallace, “Techniques of Statistical Analysis”, Chapter 15, McGraw-Hill Book Co., New York, NY (1947)

Environnement Canada, “Document d’orientation sur le contrôle de la précision des essais de toxicité au moyen de produits toxiques de référence”, Rapport SPE 1/RM/12, Ottawa (Ont.), Environnement Canada, 1990 91 p. (1990a).

Environnement Canada, “Interim Contaminant Testing Guidelines for Ocean Disposal-Pacific & Yukon Region”, Rapport préliminaire, North Vancouver, (C.-B.), Environnement Canada, novembre 1990 (1990b).

Environment Canada, “Interim Contaminant Testing Guidelines for Ocean Disposal-Atlantic Region”, Rapport préliminaire, Dartmouth (N.-É.), mai 1990 (1990c).

Environnement Canada, “Document d’orientation sur le prélevèment et la préparation de sédiments en vue de leur caractérisation physico-chimique et d’essais biologiques,” Service de la protection de l’environnement, Ottawa (Ont.). Rapport SPE 1/RM/29, 141 p. (1994).

Environnement Canada, “Document d’orientaiton sir la mesure de la précision des essais de toxicité sur sédiments de contrôle enrichis avec un produit toxique de référence,” Service de la protection de l’environnement, Ottawa (Ont.), Rapport SPE 1/RM/30, 58 p. (1995).

Environnement Canada. “Méthode recommandée d’ajustement de la salinité d’échantillons d’effluents pour des essais de toxicité sublétale conduits en vertu du Programme de suivi des effets sur l’environnement (Programme SEE).” Rapport non publié, juillet 1997, 5 p., Section de l’élaboration et d’application des méthodes, Centre de technologie environnementale, Ottawa (Ont.). (1997).

Environnement Canada. ”Méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d’un sédiment pour des amphipodes marins ou estuariens”. Service de protection de l’environnement, Ottawa (Ont.). Rapport SPE 1/RM/35. (1998a).

Environnement Canada. “Document d’orientation sur les méthodes statistiques pour déterminer les résultats des essais de toxicité”. Service de protection de l’environnement, Ottawa (Ont.). Rapport SPE x/xx/XX, en préparation (1998b).

Environnement Canada. “Document d’orientation sur l’interprétation et l’application des données en toxicologie

environnementale ". Service de protection de l'environnement, Ottawa (Ont.). Rapport SPE x/XX/XX, en préparation (1998c).

EPA (U.S. Environmental Protection Agency), Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms," W.H. Peltier et C.I. Weber (éd.), EPA/600/4-85/013, Cincinnati, OH, EPA (1985).

EPA, "Amphipod Sediment Bioassay", Recommended Protocols for Conducting Laboratory Bioassays on Puget Sound Sediments, Draft Report, Seattle, WA, EPA, Puget Sound Estuary Program, p. 21-32 (1990).

EPA, "Methods for Assessing the Toxicity of Sediment-associated Contaminants with Estuarine and Marine Amphipods". Rapport EPA/600/R-94/025, Juin 1994, Washington, DC (1994a).

EPA. "Short-term Methods for Estimating Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms", Second Edition. Rapport EPA/600/4-91/003, Juillet 1994, Cincinnati, OH. (1994b).

EPA. "Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms". Rapport EPA/600/R-95/136, Août 1995, Washington, DC. (1995).

Fennell, M. "Données non publiées", Aquatic Toxicology Section, Pacific Environmental Science Centre, Environment Canada, North Vancouver (C.-B.). (1998).

Fish, J.D. et A. Mills, "The Reproductive Biology of *Corophium volutator* (Pallas) and *C. arenarium* (Crustacea: Amphipoda)", *J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 59*:355–368 (1979).

Hamilton, M.A., R.C. Russo, et R.V. Thurston, "Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays", *Environ. Sci. Technol., 11:* 714–719 (1977).

Hart, T J., "Preliminary Notes on the Bionomics of the Amphipod *Corophium volutator* Pallas", *J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 16*:761–790 (1930).

Hawkins, C.M., "Population Carbon Budgets and the Importance of the Amphipod *Corophium volutator* in the Carbon Transfer on a Cumberland Basin Mudflat, Upper Bay of Fundy, Canada", *Netherlands J. Sea Res., 19*:165–176 (1985).

Hubert, J.J., "PROBIT2: A Microcomputer Program for Probit Analysis, Dept. Mathematics and Statistics, Univ. Guelph, Guelph, Ontario (1987).

Jarrett, N.E. et E.L. Bousfield, "The Amphipod Family Phoxocephalidae on the Pacific Coast of North America, Parts I and II", Manuscript in Preparation (1992).

Kemp, P.F. et R.C. Swartz, "Acute Toxicity of Interstitial and Particle-bound Cadmium to a Marine Infaunal Amphipod", *Marine Environ. Res., 26*:135–153 (1988).

Kemp, P.F., F.A. Cole, et R.C. Swartz, "Life History and Production of the Phoxocephalid Amphipod *Rhepoxynius abronius* (Barnard)", *J. Crustacean Biology, 5*:449–464 (1985).

Kemp, P.F., R.C. Swartz, et J.O. Lamberson, "Response of the Phoxocephalid Amphipod, *Rhepoxynius abronius*, to a Small Oil Spill in Yaquina Bay, Oregon", *Estuaries, 9(4B)*:340–347 (1986).

Konasewich, D.E., E.R. McGreer, et H. Sneddon, "Feasibility Assessment of Sediment Toxicity Tests Suitable for ODCA Application Review", Rapport préparé par Envirochem Services and Coastline Environmental Services Ltd. pour le Comité consultatif regional sur l'immersion de décehtes en mer. Environnement Canada, West Vancouver (C.-B.) (1986).

Long, E.R., "A Multidisciplinary Approach to Assessing Pollution in Coastal Waters", p. 163–178, in: *Proceedings of the Third Symposium on Coastal and Ocean Mangement*. ASCE, June 1–4, 1983, San Diego, CA (1983).

Long, E.R. et P.M. Chapman, "A Sediment Quality Triad: Measures of Sediment Contamination, Toxicity and Infaunal Community Composition in Puget Sound", *Mar. Poll. Bull., 16*:405–415 (1985).

Long, E.R. et M.F. Buchman, "An Evaluation of the Performance of Five Types of Sediment Toxicity Tests", p. 603–607, in: *Proceedings of Oceans '89*, September 18–21, 1989, Seattle, Washington. IEEE Publ. No. 89CH2780-5, Oceanic Engineering Society of the Institute of Electrical and Electronics Engineers, Seattle, WA (1989).

Long, E.R. , M.F. Buchman, S.M. Bay, R.J. Breteler, R.S. Carr, P.M. Chapman, J.E. Hose, A.L. Lissner, J. Scott, et D.A. Wolfe, "Comparative Evaluation of Five Toxicity Tests with Sediments from San Francisco Bay and Tomales Bay, California," *Environ. Toxicol. Chem., 9*:1193–1214 (1990).

McLeay, D.J. et J. B. Sprague, "Ten-day test for Sediment Lethality Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods: Review of Literature for Subject-specific Information of Value in Developing Environment Canada's Biological Test Method", Bibliographie annotée préparée pour le Sous-comité technique du GITA. McLeay Associates Ltd., West Vancouver (C.-B.) (1991).

McLeay, D.J., S. Yee, K. Doe, et S. Wade, "Initial Evaluation by EP Laboratories of a 10-day Test for Sediment Lethality Using the Marine Infaunal Amphipod, *Rhepoxynius abronius*", Rapport préparé pour Environnement Canada et GITA McLeay Associates Ltd., West Vancouver, B.C. (1989).

McLeay, D., S. Yee, K. Doe, et S. Wade, "Phase-II and Phase III Studies by Environment Canada Laboratories of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods", Report prepared for Environment Canada (EP, C&P) and IGATG by McLeay Associates Ltd., West Vancouver, B.C. (1991).

McLusky, D.S., "Some Effects of Salinity on the Survival, Moulting, and Growth of *Corophium volutator* (Amphipoda)", *J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 47*:607–617 (1967).

McLusky, D.S., "Some Effects of Salinity on the Distribution and Abundance of *Corophium volutator* in the Ythan Estuary", *J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 48*:443–454 (1968).

McLusky, D.S., "The Oxygen Consumption of *Corophium volutator* in Relation to Salinity",

Comp. Biochem. Physiol., 29:743–753 (1969).

McLusky, D.S., "Salinity Preference in *Corophium volutator," J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 50*:747–752 (1970).

Meador, J.P., U. Varanasi, and C.A. Krone, "Comparative Toxicity of Tributyltin to Two Species of Infaunal Amphipods", p. 894–895, Comptes rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk et W. Knapp (éd), Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques, Ottawa (Ont.), Pêches et Océans Canada, No. 1774, Vol. 2 (1991).

Meadows, P.S., "Experiments on Substrate Selection by *Corophium* Species: Films and Bacteria on Sand Particles", *J. Exp. Biol., 41*:499–511 (1964).

Mearns, A.J., R.C. Swartz, J. M. Cummins, P.A. Dinnel, P. Plesha, et P.M. Chapman, "Inter-laboratory Comparison of a Sediment Toxicity Test Using the Marine Amphipod, *Rhepoxynius abronius", Marine Environ. Res., 19*:13–37 (1986).

Mills, E. L., "*Ampelisca abdita*, a New Amphipod Crustacean from Eastern North America, *Canad. J. Zool., 42*: 559–575 (1964).

Mudroch, A. et S.D. MacKnight, "*CRC Handbook of Techniques for Aquatic Sediments Sampling*", CRC Press, Inc., Boca Raton, FL (1991).

Nichol, M.L. et K.G. Doe, "The Use of *Corophium volutator* and *Pontoporeia femorata* as Test Species for the Ten-day Marine Sediment Toxicity Test Using Infaunal Amphipods", Environment Canada Report, Dartmouth (N.-É.) (1990).

Nipper, M.G., D.J. Greenstein, et S.M. Bay, "Short- and Long-term Sediment Toxicity Test Methods with the Amphipod *Grandidierella japonica", Environ. Toxicol. Chem., 8*:1191–1200 (1989).

Ott, F.S., P.D. Plesha, R.D. Bates, C. Smith, et B.B. McCain, "An Evaluation of an Amphipod Sediment Bioassay using Sediment from Puget Sound", Unpublished Manuscript, National Oceanic and Atmospheric Administration, Northwest and Alaska Fisheries Center, Seattle, WA (1982).

Outhoudt, R.A., J.P. Giesy, K.R. Grzyb, D. A. Verbrugge, R.A. Hoke, J.B. Drake, et D. Anderson, "Evaluation of the Effects of Storage Time on the Toxicity of Sediments", *Chemosphere, 12*:801–807 (1991).

Paine, M.D. et C.A. McPherson, "Phase IV Studies of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods", Rapport finale préparé pour Environnement Canada (Division de l'environnement marin, Protection de l'environnement), EVS Consultants Ltd. North Vancouver, B.C. (1991a).

Paine, M.D. et C.A. McPherson, "Phase-V Studies by EC Laboratories of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods", Draft Report, Prepared for Environment Canada (EP, C&P) by EVS Consultants Ltd. and McLeay Associates Ltd., North Vancouver, B.C. (1991b).

Pastorork, R.A. et D.S. Becker, "Comparative Sensitivity of Bioassays for Assessing

Sediment Toxicity in Puget Sound", p. 431–436 ,in: *Proceedings of Oceans '89* September 18–21, 1989, Seattle, Washington. IEEE Publ. No. 89CH2780-5, Oceanic Engineering Society of the Institute of Electrical and Electronics Engineers, Seattle, WA (1989).

Peer, D.L., L.E. Linkletter, et P.W. Hicklin, "Life History and Reproductive Biology of *Corophium volutator* (Crustacea: Amphipoda) and the Influence of Shorebird Predation on Population Structure in Chignecto Bay, Bay of Fundy, Canada", *Netherland J. Sea Res., 20*:359–373 (1986).

Plesha, P.D., J.E. Stein, M.H. Schiewe, B.B. McCain, et U. Varanasi, "Toxicity of Marine Sediments Supplemented with Mixtures of Selected Chlorinated and Aromatic Hydrocarbons to the Infaunal Amphipod *Rhepoxynius abronius"*, *Marine Environ. Res., 25*:85–97 (1988).

Robinson, A.M., J.O. Lamberson, F.A. Cole, et R.C. Swartz, "Effects of Culture Conditions on the Sensitivity of a Phoxocephalid Amphipod, *Rhepoxynius abronius*, to Cadmium in Sediment", *Environ. Toxicol. Chem., 7*:953–959 (1988).

Rocchini, R.J., M.J.R. Clark, A.J. Jordan, S. Horvath, D.J. McLeay, J.A. Servizi, A. Sholund, H.J. Singleton, R.G. Watts, et R.H. Young, *"Provincial Guidelines and Laboratory Procedures for Measuring Acute Lethal Toxicity of Liquid Effluents to Fish*", Victoria (C.-B.), ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique, 18 p. (1982).

Roddie, B.D. et T. Kedwards, "Acute Sediment Toxicity Assessment: A New Test for the United Kingdom", p. 905, Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk et W. Knapp (éd), Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol. 2, Ottawa (Ont.) Pêches et Océans Canada 1991 (1991).

Scott, K.J., "Sediment Toxicity Tests: Do They Tell the Truth?", p. 1044–1045, in: Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk et W. Knapp, (éd).Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques. No. 1774, Vol. 2 (1991).

Scott, J., W. Berry, D. Cobb, D. Keith, G. Tracey, et N. Rubinstein, "The Application of the Amphipod Ten-day Sediment Toxicity Test for Dredged Material Evaluations", Report ERL-Narragansett Contribution No. 1181. Prepared for U.S. Environmental Protection Agency, New York, NY (1990a).

Scott, J., W. Berry, D. Cobb, D. Keith, et N. Rubinstein, "Comparative Sediment Toxicity: *Ampelisca abdita* and *Rhepoxynius hudsoni*", Paper presented at the 11th Annual Meeting, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, November 11–15, 1990, Arlington, VA (1990b).

Sergy, G., *"Recommendations on Aquatic Biological Tests and Procedures for Environmental Protection, C & P, DOE"*, Environment Canada Report, Environmental Protection, Conservation and Protection, Edmonton, Alberta (1987).

Shimek, R.L., T. Thompson, et D.Weitkamp, "Slag, Benthos, and Bioassays: Poor

Correlation of Bioassay Predictions and the Benthos", p. 1046, Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E.Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk, and W. Knapp (eds.) Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol. 2 (1991).

Shiu, W.Y., A. Maijanen, A.L.Y. Ng, et D. MacKay, "Preparation of Aqueous Solutions of Sparingly Soluble Organic Substances: II. Multicomponent Systems-Hydrocarbon Mixtures and Petroleum Products", *Environ. Toxicol. Chem.*, *7*:125–137(1988).

Sokal, R.R. et F.J. Rohlf, *"Biometry"*, W. H. Freement, and Co., San Francisco, CA (1969).

Steel, R.G.D. et J. H. Torrie, "*Principles and Procedures of Statistics*", McGraw-Hill Book Co., New York, NY (1960).

Stephan, C.E., "Methods for Calculating an LC50", p. 65–84, in: *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*. F. L. Mayer et J.L. Hamelink (éd), ASTM STP 634, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1977).

Swartz, R.C., "Toxicological Methods for Determining the Effects of Contaminated Sediment on Marine Organisms", p. 183–198, in: *Fate and Effects of Sediment-Bound Chemicals in Aquatic Systems*. K.L. Dickson, A.W. Maki, and W.A. Brungs (eds.), Pergamon Press, New York, NY (1987).

Swartz, R.C., Communication personnelle, U.S. Environmental Protection Agency, Newport, OR (1991).

Swartz, R.C., W.A. DeBen, K.A. Sercu, et J.O. Lamberson, "Sediment Toxicity and the Distribution of Amphipods in Commencement Bay, Washington, USA", *Mar. Poll. Bull.*, *13*:359–364 (1982).

Swartz, R.C., D.W. Schults, G. R. Ditsworth, et W.A. DeBen, "Toxicity of Sewage Sludge to *Rhepoxynius abronius*, a Marine Benthic Amphipod", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, *13*:207–216 (1984).

Swartz, R.C., W.A. DeBen, J.K.P. Jones, J.O. Lamberson, et F.A.Cole, "Phoxocephalid Amphipod Bioassay for Marine Sediment Toxicity, p. 284–307, in: *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium*, R.D. Cardwell, R. Purdy, and R.C. Bahner, (eds). ASTM STP 854, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1985a).

Swartz, R.C., D.W. Schults, G.R. Ditsworth, W.A. DeBen, et F.A. Cole, "Sediment Toxicity, Contamination, and Macrobenthic Communities Near A Large Sewage Outfall", p. 152–175, in: *Validation and Predictability of Laboratory Methods for Assessing the Fate and Effects of Contaminants in Aquatic Ecosystems*. T.P. Boyle (ed.), ASTM STP 865, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1985b).

Swartz, R.C., G.R. Ditsworth, D.W. Schults, et J.O. Lamberson, "Sediment Toxicity to a Marine Infaunal Amphipod: Cadmium and its Interaction with Sewage Sludge", *Mar. Environ. Res.*, *18*:133–153 (1985c).

Swartz, R.C., F.A. Cole, D.W. Schults, et W.A. DeBen, "Ecological Changes in the Southern California Bight Near a Large Sewage Outfall: Benthic Conditions in 1980 and

1983," *Marine and Ecology, 31*:1–13 (1986).

Swartz, R.C., P.F. Kemp, D.W. Schults, et J.O. Lamberson, "Effects of Mixtures of Sediment Contaminants on the Marine Infaunal Amphipod, *Rhepoxynius abronius", Environ. Toxicol. Chem., 7*:1013–1020 (1988).

Swartz, R.C., D.W. Schults, T.H. DeWitt, G.R. Ditsworth, et J.O. Lamberson, "Toxicity of Fluoranthene in Sediment to Marine Amphipods: A Test of the Equilibrium Partitioning Approach to Sediment Quality Criteria, *Environ. Toxicol. Chem., 9*:1071–1080 (1990).

Tay, K.-L., K.G. Doe, S. J. Wade, D.A. Vaughan, R.E. Berrigan, and M.J. Moore, "Biological Effects of Contaminants in Halifax Harbour Sediment", p. 383–426, Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F. Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk, et W. Knapp, (éd). Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol. 1 (1991).

Thorsteinson, E.D., "New or Noteworthy Amphipods from the North Pacific Coast", *Univ. Wash. Publ. Oceanogr., 4(2)*:50–96 (1941).

Wade, S. et K. Doe, "Unpublished Data", Atlantic Regional Laboratory, Environment Canada, Dartmouth (N.-É.) (1992).

Williams, D.A, "A Test for Differences Between Treatment Means when Several Dose Levels are Compared with a Zero Dose Control", *Biometrics, 27*:103–118 (1971).

Williams, D.A. "The Comparison of Several Dose Levels with a Zero Dose Control", *Biometrics, 28*:519–532 (1972).

Williams, L.G., P.M. Chapman, et T.C. Ginn, "A Comparative Evaluation of Marine Sediment Toxicity Using Bacterial Luminescence, Oyster Embryo and Amphipod Sediment Bioassays", *Marine Environ. Res., 19*:225–249 (1986).

Word, J.Q. et J.A. Ward, "Spiked Sediment Bioassays as an Approach to the Development of Sediment Quality Guidelines", p. 1015, in: Compte rendus du dix-septième Colloque annuel sur la toxicité aquatique, 5-7 novembre 1990, Vancouver (C.-B.), P. Chapman, F.Bishay, E. Power, K. Hall, L. Harding, D. McLeay, M. Nassichuk, and W. Knapp, (eds). Rapport technique canadien des sciences halieutiques et aquatiques No. 1774, Vol. 2 (1991).

Yee, S., M. Van Rikxoort, et D. McLeay, "The Effect of Holding Time on *Eohaustorius washingtonianus* During Ten-day Sediment Bioassays and Reference Toxicant Tests", Rapport préparé par le Laboratoire du Pacifique et du Yukon pour Environnement Canada et la GITA, North Vancouver (C.-B.) (1992).

Yeo, R.K. "Animal-sediment Relationships and the Ecology of the Intertidal Mudflat Environment, Minas Basin, Bay of Fundy, Nova Scotia", M.Sc. Thesis, McMaster University, Hamilton, ON (1977).

Annexe A

Membres du Groupe intergouvernemental de la toxicité environnementale*

Gouvernement fédéral (Environnement Canada)

P.G. Wells
Protection de l'environnement
Dartmouth (N.-É.)

P. Jackman
St. John's (T.-N.)

K.G. Doe
Dartmouth (N.-É.)

W.R. Parker
Dartmouth (N.-É.)

S.J. Wade
Dartmouth (N.-É.)

J.D. Vaughan
Dartmouth (N.-É.)

N. Bermingham
Longueuil (QC)

C. Blaise
Longueuil (QC)

D. St. Laurent
Longueuil (QC)

G. Elliott
Edmonton (Alb.)

R.G. Watts
North Vancouver, B.C.

S.G. Yee
North Vancouver (C.-B.)

D. J. Moul
North Vancouver (C.-B.)

K.E. Day
Institut national de recherche sur les eaux
Burlington (Ont.)

A.K. Kwan
Institut national de recherche sur les eaux
Burlington (Ont.)

C. Boutin
Service canadien de la faune
Hull, Que.

J. Osborne
Bureau de la gestion des déchets
Ottawa (Ont.)

M. Bonnell
Direction de la santé des écosystèmes
Ottawa (Ont.)

D. MacGregor
Direction des affaires réglementaires et de l'intégration des programmes
Ottawa (Ont.)

R. P. Scroggins
Direction des programmes industriels
Ottawa (Ont.)

G.A. Sergy
direction du développementtechnologique
Edmonton (Alb.)

(Pêches et Océans Canada)

R. Stevens
Direction de l'océanographie et des contaminants
Ottawa (Ont.)

* Au mois de novembre 1992.

Gouvernements provinciaux

C. Bastien
Ministère de l'Environnement du Québec
Sainte Foy (QC)

S.G. Abernethy
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Rexdale (Ont.)

C.M. Neville
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Rexdale (Ont.)

D.G. Poirier
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Rexdale (Ont.)

I.R. Smith
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Toronto (Ont.)

G.F. Westlake (président)
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Rexdale (Ont.)

B. Bayer
Ministère de l'Environnement de Manitoba,
Winnipeg (Manitoba)

J. Somers
Alberta Environmental Centre
Vegreville (Alb.)

K. Smiley
Alberta EnvironmentalCentre
Vegreville (Alb.)

S. H. Hovarth
Ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique
Vancouver (C.-B.)

G. van Aggelen
Ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique
North Vancouver (C.-B.)

Appendix B

Administration centrale et bureaux régionaux d'Environnement Canada

Administration centrale
351 boulevard Saint-Joseph
Place Vincent Massey
Hull (Québec)
K1A 0H3

Région de l'Ontario
4905 rue Dufferin, 2e étage
Downsview (Ont.)
M3H 5T4

Région d'Atlantique
15e étage, Queen Square
45 promenade Alderney
Dartmouth (Nouvelle-Écosse)
B2Y 2N6

Région de l'Ouest et du Nord
Twin Atria No. 2, pièce 210
4999-98e Avenue
Edmonton, Alberta
T6B 2X3

Région du Québec
105 rue McGill, 8e étage
Montreal (Québec)
H2Y 2E7

Région du Pacifique et du Yukon[a]
224 rue Esplanade
North Vancouver (Colombie-Britannique)
V7M 3H7

[a] Un programme informatique en BASIC pour le calcul de la CL50 existe et peut être reproduit sur une disquette formatée fournie par l'utilisateur. Pour l'obtenir, vous adresser à Aquatic Toxicology Section, Pacific Environmental Science Centre, 2645 Dollarton Highway, North Vancouver,C.-B., V7H 1V2

Annexe C

Écarts de méthodologie pour l'exécution d'essais de toxicité de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens*

1. Espèce et stade du cycle biologique

Document	Espèce soumise à l'essai	Stade du cycle biologique
Swartz *et al.*, 1985a	*R. abronius*	Mature, 3–5-mm de longueur
Chapman et Becker, 1986	*R. abronius*	Mature, 3–5-mm de longueur
DeWitt *et al.*, 1989	*E. estuarius*	Longueur totale : 3–5 mm
Environnement Canada, 1990b	*R. abronius*	NI[a]
Environnement Canada, 1990c	*R. abronius*	NI
Environnement Canada, 1990c	*A. abdita*	NI
EPA ,1990	*R. abronius*	Mature, 3–5-mm de longueur [b]
EPA, 1990	*E. estuarius*	Mature, 3–5-mm de longueur [b]
ASTM, 1991a	*R. abronius*	Longueur totale : 3–5 mm [c]
ASTM, 1991a	*E. estuarius*	Longueur totale : 3–5 mm [c]
ASTM, 1991a	*A. abdita*	Juvénile ou femelle adulte
ASTM, 1991a	*G. japonica*	Immature, 3–6 mm de longueur [b]

[a] NI = non indiqué.
[b] Les femelles portant des embryons ne devraient pas être utilisées.
[c] Les individus matures très grands ne devraient pas être utilisés parce qu'ils pourraient être sénescents .

2. Exigences relatives à l'identification taxinomique de l'espèce

Document	Identification de l'espèce
Swartz *et al.*, 1985a	NI
Chapman et Becker, 1986	Confirmée par un taxinomiste qualifié; de spécimens représentatifs sont mis en archives.
Environnement Canada, 1990b	NI
Environnement Canada 1990c	NI
EPA, 1990	Confirmée par un taxinomiste qualifié; de spécimens représentatifs sont mis en archives.
ASTM, 1991a	Confirmée par un taxinomiste qualifié.

* D'après les documents de méthodologie canadiens et américains dont disposaient le auteurs au mois de juillet 1991.

3. Conditions de détention avant l'essai

Document	Échantillons de sédiments	Amphipodes[a]
Swartz *et al*., 1985a	4 °C, obscurité, ≤5 d	En laboratoire, 3–4 d
Chapman et Becker, 1986	4 °C, obscurité, ≤14 d	En laboratoire, 4–10 d
Environnement Canada, 1990b	4 °C, obscurité, ≤42 d	NI
Environnement Canada, 1990c	4 °C, obscurité, ≤42 d	NI
EPA, 1990	4 °C, obscurité, ≤14 d	En laboratoire 4–14 d
ASTM ,1991a	4 ± 3 °C, obscurité, ≤14 d	En laboratoire, 2–14 d

[a] Détenus dans des sédiments de contrôle tamisés (tamis à mailles de 0,5 mm), qui sont recouverts d'eau de mer aérée dont la température, la salinité et le pH ont été ajusté aux conditions de l'essai.

4. Utilisation d'une sédiment de référence

Document	Sédiment de référence recommandé ou exigé
Swartz *et al.*, 1985a	Oui, si le sédiment d'essai contient plus de 50% d'argile ou plus de 35% de gravier
Chapman et Becker,1986	Oui, si le sédiment d'essai contient plus de 50% d'argile ou plus de 35% de gravier
Environnement Canada, 1990b	NI
Environnement Canada, 1990c	NI
EPA, 1990	Oui, si le sédiment d'essai contient plus de 50% d'argile ou plus de 35% de gravier
ASTM, 1991a	Oui, si la granulométrie ou le contenu organique du sédiment d'essai dépasse la limite de tolérance de l'espèce

5. Salinité de l'eau de porosité du sédiment d'essai

Document	Mesurée	Ajustée
Swartz *et al.*, 1985a	NI	Non
Chapman et Becker, 1986	Oui, début et fin	Oui, si nécessaire
Environnement Canada, 1990b	NI	NI
Environnement Canada, 1990c	NI	NI
EPA, 1990	Oui, début et fin	Normalement, non [a]
ASTM, 1991a	Oui	Non

[a] Pour les essais avec *R. abronius* sur des déblais de dragage estuariens devant être éliminés dans un environnement marin, on pourrait avoir à augmenter la salinité de l'eau de porosité si elle est inférieure à 25 g/kg.

6. Type et traitement de l'eau de mer utilisée dans les essais

Document	Type et traitement recommandés
Swartz *et al.*, 1985a	Eau filtrée à 0.45 µm; sa salinité est ajustée au besoin avec de l'eau désionisée, de l'eau de mer non contaminée ou des sels de mer; elle est couverte et entreposée à la température de l'essai, et on doit l'utiliser dans les deux jours.
Chapman et Becker, 1986	Coomme dans Swartz *et al.*, 1985a
Environnement Canada, 1990b	NI
Environnement Canada, 1990c	NI
EPA 1990	Comme dans Swartz *et al.*, 1985a; s'il s'agit d'eau reconstituée, ou doit l'utiliser dans les deux jours.
ASTM 1991a	Eau naturelle ou reconstituée. L'eau naturelle doit être filtrée à ≤5 µm et stérilisée aux ultraviolets ou filtrée à 0,45 µm si des pathogènes sont présents; elle doit être couverte, entreposée à 4 ± 3 °C et utilisée dans les deux jours. L'eau reconstituée, aérée, avant utilisation, peut être conservée une ou deux semaines.

7. Récipients d'essai et quantités de substances à expérimenter

Document	Récipient d'essai	Quantité de sédiments	Quantité d'eau de mer (mL)
Swartz *et al.*, 1985a	Becher de verre de 1 L[a], diamètre intérieur de 10 cm	Couche de 2 cm (~175 mL)	~775
Chapman et Becker, 1986	Becher de verre de 1 L[a], diamètre intérieur de 10 cm	Couche de 2 cm (~175 mL)	~775
Environnement Canada, 1990b	Bocal de verre de 1 L	200 mL	800
Environnement Canada, 1990c	NI	NI	NI
EPA, 1990	Becher de verre de 1 L[a], diamètre intérieur de 10 cm	Couche de 2 cm (~175 mL)	~775
ASTM, 1991a	Becher de verre de 1 L[a], diamètre intérieur de 10 cm [b]	Couche de 2 cm (~175 mL)	~775

[a] Couvert avec un verre de montre de 11,4 cm de diamètre.

[b] Dans les essais avec *A. abdita.*, on emploie souvent des bocaux de verre à embouchure étroite servant aux conserves, d'une capacité de 1 L.

8. Type d'essai, nombre d'amphipodes par récipient et traitements répétés

Document	Type d'essai	Nombre d'amphipodes par récipient	Nombre de traitements répétés
Swartz *et al.*, 1985a	Statique	20	1–5 [a]
Chapman et Becker, 1986	Statique	20	1–5 [b]
Environnement Canada, 1990b	Statique	20	5
Environnement Canada, 1990c	NI	NI	NI
EPA, 1990	Statique	20	1–5 [b]
ASTM, 1991a	Statique [c]	20 [d]	1–5 [b]

[a] Cinq traitements de contrôle répétés sont inclus, qu'il y ait ou non des répétitions pour les sédiments d'essai..
[b] Cinq traitements répétés des sédiments de contrôle et de référence sont inclus, qu'il y ait ou non des répétitions pour les sédiments d'essai.
[c] Des essais à renouvellement continu sont parfois effectués avec *A. abdita*.
[d] Les essais avec *A. abdita* sont normalement effectués avec de 20 à 30 individus par récipient.

9. Température, salinité et aération durant l'essai

Document	Température (˚C)	Salinité (g/kg)	Aération
Swartz *et al.*, 1985a	15	25	Minimale, avec une pipette à ≥2 cm des sédiments.
Chapman et Becker, 1986	15 ± 1	28 ± 1	Comme ci-desssus.
Environnement Canada, 1990b	15 ± 1	NI	NI
Environnement Canada, 1990c	NI	NI	NI
EPA, 1990	15 ± 1	28 ± 1[a]	Minimale, avec une pipette à ≥2 cm des sédiments.
ASTM, 1991a	15 ± 3[b]	2–38[c]	Minimale, afin de maintenir l'oxygène dissous à ≥90% sans perturber les sédiments.

[a] Maintenir la salinité à 28 ± 1 g/kg pour les essais avec *R. abronius.* Pour les essais avec *E. estuarius,* la maintenir à la salinité de l'eau interstitielle au site de prélèvement.
[b] *Rhepoxynius abronius* et *E. estuarius* sont normalement soumises à l'essai à une température de 15 °C, et *G. japonica* à une température de 15 ào 19 °C. *Ampelisca abdita* est normalement soumis à l'essai à une température de 20 °C, bien que cette espèce ait été soumise par le passé à des températures de 8 to 25 °C.
[C] La salinité normalisée durant l'essai est de 28 g/kg pour *R. abronius,* 2 à 28 g/kg pour *E. estuarius,* 20 à 35 g/kg pour *A. abdita,* et 30 à 35 g/kg pour *G. japonica.*

10. Conditions d'éclairage et durée de l'essai

Document	Éclairage	Durée de l'essai (d)
Swartz *et al.*, 1985a	Constant et vertical	10
Chapman et Becker 1986	Constant, par éclairage régulier de la pièce	10
Environnement Canada, 1990b	Continu	10
EPA 1990	Constant et vertical	10
ASTM 1991a	Continu, ≥100 lux à la surface des sédiments	10

11. Délai accordé pour l'enfouissement au début de l'essai

Document	Délai d'enfouissement
Swartz *et al.*, 1985a	1 h[a]
Chapman et Becker, 1986	1 h
Environnement Canada, 1990b, c	NI
EPA, 1990	1 h
ASTM, 1991a	5–10 min[b]

[a] Au bout de ce délai, on enlève et on remplace les amphipodes qui ne se sont pas enfouis.

[b] Les amphipodes qui, à plusieurs reprises, s'enfouissent puis émergent (c.-à-d., qui présentent une réaction d'évitement à l'égard des sédiments) ne sont pas remplacés. Pour les essais effectués avec *A. abdita*,on devrait laisser 1 h aux amphipodes avec de les remplacer, afin de leur permettre de s'enfouir dans les sédiments (à moins qu'ils ne présentent de façon évidente une réaction d'évitement).

12. Surveillance de la qualité des sédiments et de l'eau de mer sus-jacente durant l'essai

Document	Variables surveillés et fréquence des observations
Swartz *et al.*, 1985a	Température, pH et teneur en oxygène dissous de l'eau, tous les jours; on peut surveiller le rH des sédiments.
Chapman et Becker, 1986	Température, pH et teneur en oxygène dissous de l'eau, tous les jours; on peut surveiller le rH des sédiments.
Environnement Canada, 1990b	La qualité de l'eau est mesurée tous les jours.
EPA, 1990	Température, tous les jours; on peut surveiller l'oxygène dissous, le pH, la salinité et le rH; on doit mesurer la salinité de l'eau de porosité au début et à la fin de l'essai, et on mesure l'humidité, la granulométrie et le carbone organique total des sédiments.
ASTM, 1991a	Teneur en oxygène dissous, si le débit d'air est interrompu; température, chaque heure (ou maximum et minimum enregistrés chaque jour); pH de l'eau d'essai (optionnel) et salinité de l'eau d'essai et de l'eau de porosité, au moins au début de l'essai; rH et pH des sédiments, au début et à la fin de l'essai.

13. Résultats biologiques

Document	Survie/mortalité	Émergence	Enfouissement [a]
Swartz *et al.*, 1985a	Au 10^{e} jour	Tous les jours	Au 10^{e} jour
Chapman et Becker, 1986	Au 10^{e} jour	Tous les jours	Pas fait
Environnement Canada, 1990b	Au 10^{e} jour	Tous les jours	Au 10^{e} jour
EPA, 1990	Au 10^{e} jour [b]	Tous les jours	Au 10^{e} jour
ASTM, 1991a	Au 10^{e} jour	Au moins une fois par jour	Au 10^{e} jour [c]

[a] Capacité des amphipodes ayant survécu à l'exposition de 10 jours de s'enfouir dans le sédiment de contrôle dans une délai de 1 h.
[b] La mortalité est le résultat biologique principal; l'émergence et l'enfouissement pourraient aussi être mesurés.
[c] Les données de toxicité peuvent être analysées en fonction de la "mortalité effective", c'està-dire de la somme des sujets morts et des sujets survivants incapables de s'enfouir.

14. Produit toxique de référence

Document	Produit chimique	Exigé	Type d'essai
Swartz *et al.*, 1985a	NI	Non	NI
Chapman et Becker, 1986	$CdCl_2$ ou NaPCP	Oui	CL50–96 h[a]
ASTM, 1990a	Fluoranthène	Oui[b]	CL50–96 h[a]
Environnement Canada, 1990b	NI	Oui	NI
EPA, 1990	$CdCl_2$, $AgCl_2$	Oui?[c]	CL50–96 h[a]
ASTM, 1991a	$CdCl_2$	Oui	CL50–96 h[a]

[a] Les amphipodes sont exposés dans l'eau de mer filtrée et non contaminée, sans sédiments.
[b] Indiqué seulement pour les essais avec *A. abdita.*
[c] On recommande une témoin positif.

15. Exigences de validité de l'essai

Document	Mortalité dan le contrôle	Autres exigences
Swartz *et al.,* 1985a	≤10%	NI
Chapman et Becker, 1986	≤10%	NI
Environnement Canada, 1990b	≤10%	Pas d'écart par rapport aux conditions d'essai spécifiées.
EPA, 1990	≤10%	≤20% de mortalité dans chaque récipient de contrôle.
ASTM, 1991	≤10%	≤10% des amphipodes dans les récipients de contrôle présentent des signes de maladie ou de stress; ≤20% de mortalité dans chaque récipients de contrôle[a]

[a] Un essai devrait généralement être invalidé si une ou plusieurs des situations suivantes se sont présentées : tous les récipients d'essai n'étaient pas identiques: les traitements n'ont pas été assignés de façon aléatoire; les organismes n'ont pas été distribués de façon aléatoire; on n'a pas inclus de contrôle avec solvant ou de témoin positif; tous les animaux soumis à l'essai ne provenaient pas de la même population, n'appartenaient pas à la même espèce ou n'étaient pas de qualité acceptables; les amphipodes ont été détenus pendant plus de deux semaines; les organismes n'ont pas été acclimatés à la température et à la salinité de l'essai pendant au moins 48 h; la teneur en oxygène dissous était inférieure à 60 % dans un ou plusieurs récipients d'essai; la température ou la teneur en oxygène dissous n'ont pas été mesurées; les observateurs étaient au courant du traitement appliqué aux sédiments dans les récipients d'essai.

Illustration des principales parties anatomiques des amphipodes gammaridiens

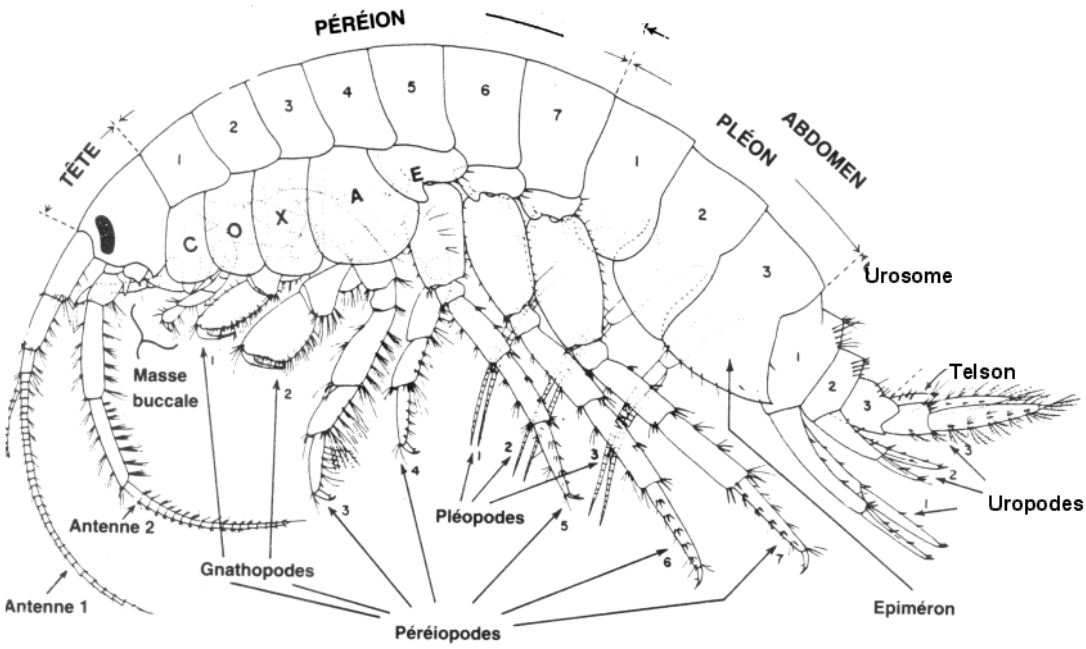
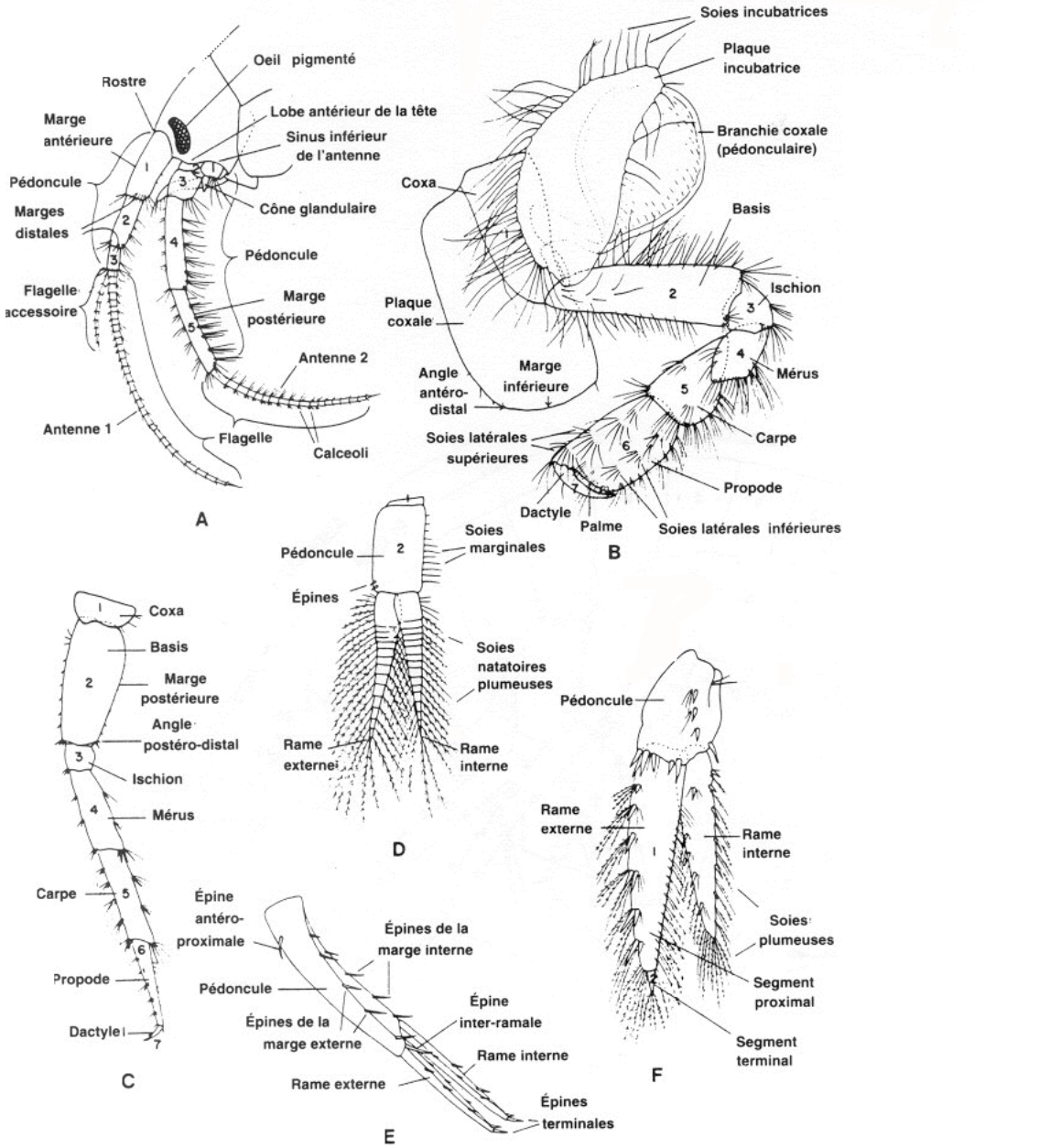


Figure D.1 Amphipode gammaridien - Illustration schématique (vue latérale) [a]

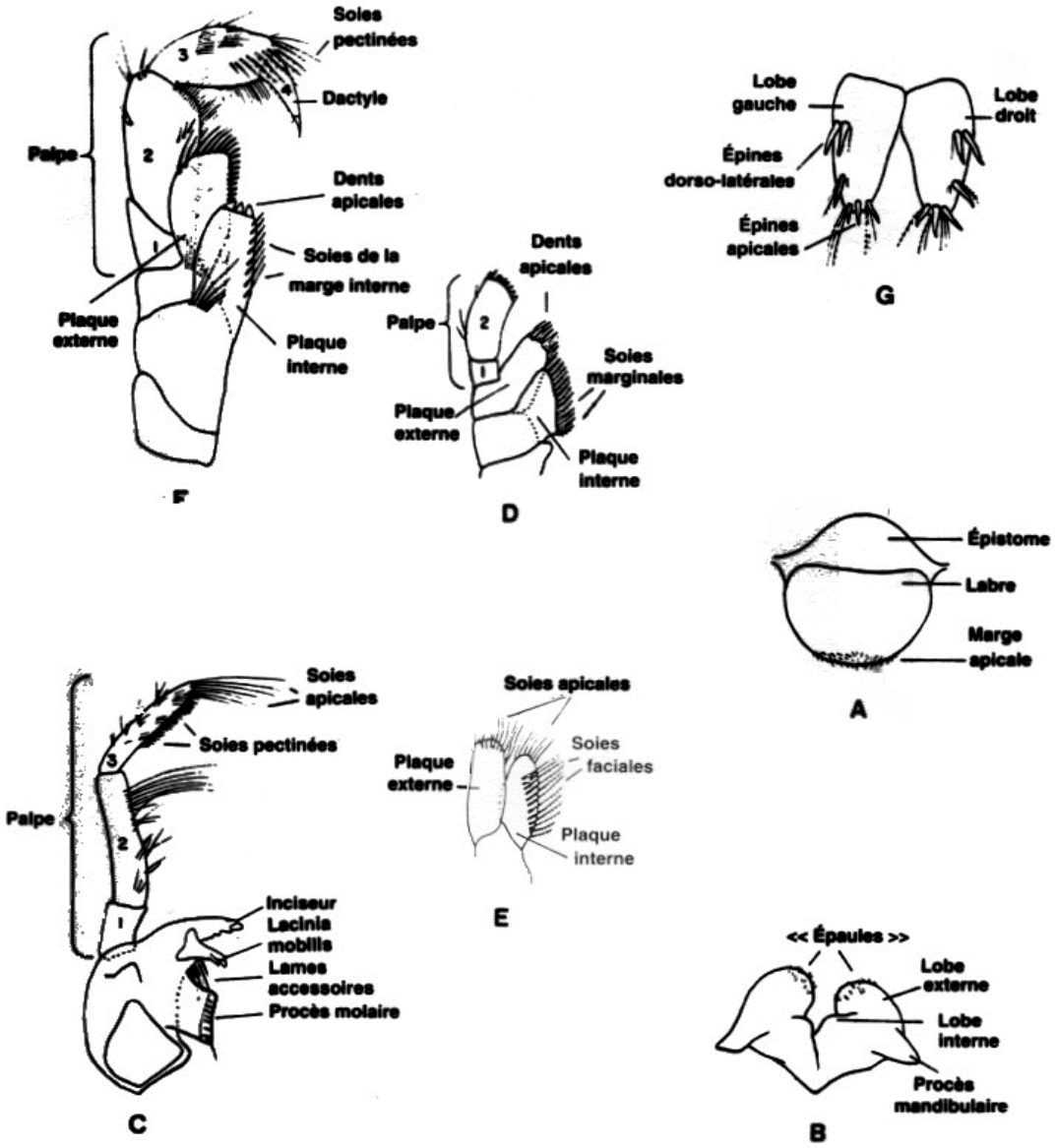
[a] D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée).



A Région de la tête **B** Gnathopode 2 **C** Péréiopode 7 **D** Pléopode
E Uropode 1 **F** Uropode 3

Figure D.2 Appendices des amphipodes gammaridiens - Illustration schématique [a]

[a] Les proportions ne sont pas respectées. D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée).



A Lèvre supérieure **B** Lèvre inférieure **C** Mandibule
D Maxille 1 **E** Maxille 2 **F** Maxillipède
G Telson

Figure D.3 Pièces buccales et telson des amphipodes gammaridiens - Illustration schématique [a]

---

a Les proportions ne sont pas respectées. D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée).

Amphiporeia virginiana (Shoemaker)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

Amphiporeia virginiana fait partie de la famille gammaridienne des Pontoporeiidae. Les membres de cette famille n'ont pas de rostre, mais un "pseudorostre" formé des segments basilaires élargis et rapprochés d'antennes légèrement biramées. La famille se distingue également par des appendices à caractère fortement fouisseur, des gnathopodes subchéliformes (qui diffèrent souvent chez les deux sexes), des pièces buccales peu élaborées et des sexes très fortement différenciés (mâles plus petits et possédant des antennes avec cavités calcéiformes) (Bousfield, 1990b).

Cette espèce (*cf.* figure E.1) se distingue des autres membres du genre *Amphiporeia* par sa petite taille, sa coxa 1 étroite, les bases relativement petites des péréiopodes 6 et 7, et l'étroit segment 5 du péréiopode 5. D'autres caractéristiques distinctives sont la rame externe de l'uropode 3, qui est allongée, et la palpe du maxillipède du segment 3, qui se trouve grandement élargi (Bousfield, 1990b) (*cf.* annexe D).

Distribution de l'espèce

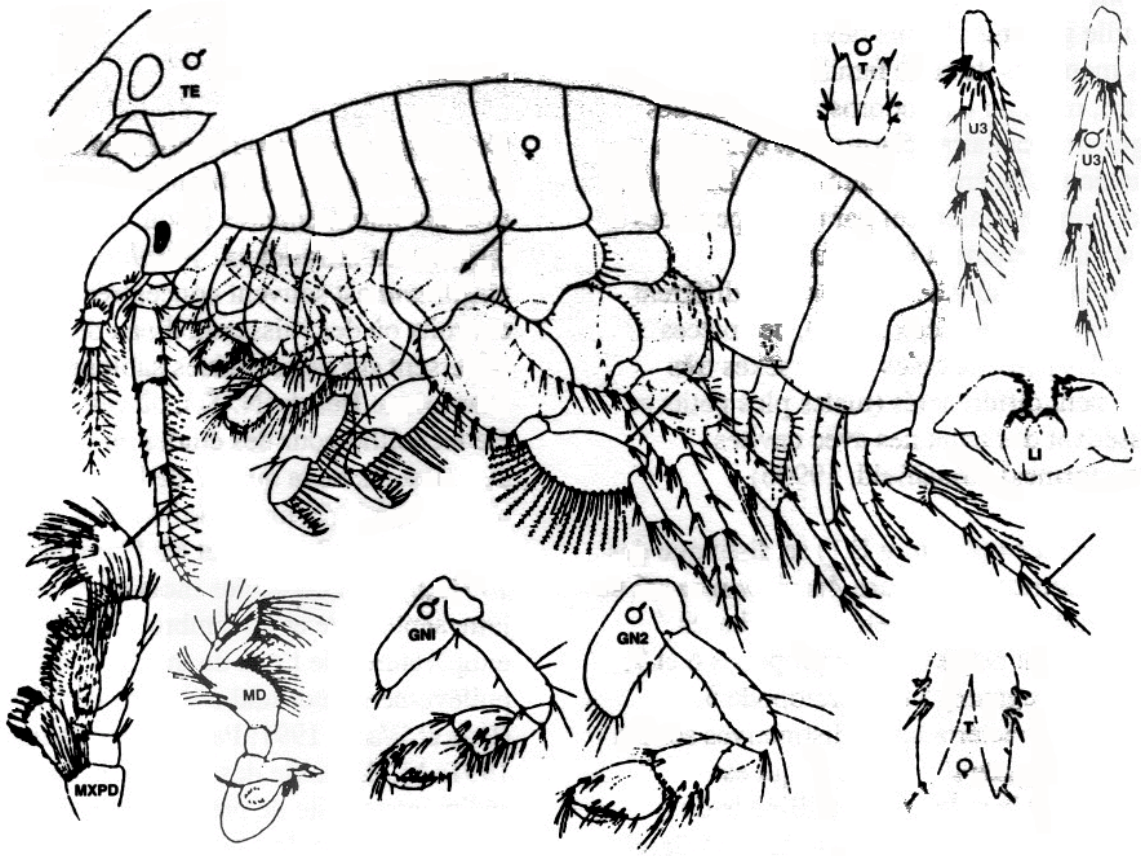
On retrouve *Amphiporeia virginiana* de l'est de la Nouvelle-Écosse (comté de Guysborough), en passant par le golfe du Maine, jusqu'aux États du milieux de la côte atlantique des États-Unis et à la Caroline du Nord. On a observé sa présence sur les côtes des îles de Nantucket et de Martha's Vineyard qui font face à l'océan. Parmi les sites d'échantillonage situés à proximité de Halifax (N.-É.), on peut citer Martinique Beach, Marie-Joseph Beach, Clam Harbour Beach et Cole Harbour Beach (Bousfield, 1990b).

Conditions écologiques

Cette espèce se retrouve principalement sur les barres de plages sablonneuses, à partir de niveaux intermédiaires jusqu'à des niveaux légèrement infratidaux. *Amphiporeia virginiana* est souvent concentrée aux endroits où des ruisseaux d'eau douce se déversent sur des étendues sablonneuses. À Martinique Beach (N.-É.), où cette espèce a été recueillie pour des études en laboratoire, des mesures de la qualité de l'eau du fond marin ont révélé une salinité de 31 g/kg et un pH de 7,8 à 8,0 (Paine et McPherson, 1991a, b). Au cours des mois de mars, avril, juin, septembre et novembre, les températures de l'eau de mer à ce site de prélèvement intertidal on varié de 2 à 17° C (Doe et Wade, 1991; Paine et McPherson, 1991a, b). La taille des particules de sédiments au site de prélèvement allait de 0,063 à 1,0 mm, la majorité des particules (de 80 à 87 %) mesurant de 0,13 à 0,25 mm (Paine et McPherson, 1991a, b).

Cycle biologique et groupe d'âge aux fine des essais

Le cycle biologique de *A. virginiana* n'a pas été étudié; des prélèvements sur le terrain indiquent cependant que cette espèce a un cycle biologique annuel (une couvée par année). On peut observer des femelles ovigères d'avril à juillet (Bousfield, 1990b). Aux fins de l'essai de toxicité, on devrait utiliser des juvéniles ou des adultes d'une



ABD abdomen; **DR** droit(e); **ÉPIST** épistome; **G** gauche; **GNA** gnathopode; **JUV** juvénile; **LI** lèvre inférieure; **LS** lèvre supérieure; **MD** mandibule; **MX** maxille; **MXPD** maxillipède; **P** péréiopode; **PL** pléopode; **R** rame interne; **RE** rame externe; **ROST** rostre; **T** telson; **TE** tête; **U** uropode; mâle; femelle

Figure E.1 Illustration taxinomique d'*Amphiporeia virginiana* [a]

[a] D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée).

longueur totale de 2 à 5 mm. On ne devrait pas utiliser d'individus matures très grands (c.-à-d., de plus de 5 mm), car ils pourraient être sénescents.

Essais en laboratoire et tolérance

On retrouve *A. virginiana* autant à des endroits où s'écoule l'eau douce de ruisseaux que sur des plages dont la salinité atteint 31 g/kg (Bousfield, 1990b; Paine et McPherson, 1991a, b); on pense donc que cette espèce tolère une large gamme de degrés de salinité. Cependant, des études récentes en laboratoire ont révélé une réduction du taux de survie chez des sujets maintenus pendant une période de 10 jours dans de l'eau de mer d'une salinité d'au plus 20 g/kg; par contre, un taux de survie de 100 % a été observé lorsque la salinité était de 25 ou de 30 g/kg (Wade et Doe, 1992). Ces données indiquent que *A. virginiana* convient bien à l'évaluation de la toxicité aiguë d'échantillons de sédiments dont la salinité de l'eau de porosité est de 25 g/kg ou plus.

On dispose de données limitées concernant l'effet de la composition granulométrique ou de l'augmentation du contenu organique des sédiments sur la survie de cette espèce dans le cadre d'essai de toxicité aiguë (10 jours). Des essais comparatifs effectués par trois laboratoires avec des sédiments de référence grossiers (97 % des particules de 0,13 à 0,5 mm) et fins (30 % des particules de moins de 0,06 mm et 63 % de 0,06 à 0,13 mm) ont révélé des taux de survie similaires à ceux enregistrés pour les sédiments de contrôle (Paine et McPherson, 1991a). Ces résultats préliminaires semblent indiquer que la survie de *A. virginiana* dans les essais de toxicité aiguë en laboratoire n'est pas modifiée de façon marquée par la composition granulométrique des sédiments.

On a étudié la survie de *A. virginiana* dans des essais de toxicité aiguë d'une durée de 10 jours effectués avec des sédiments de contrôle, et dans des essais d'une durée de quatre jours effectués en eau de mer seulement avec du chlorure de cadmium, et ce à des températures d'acclimatation et d'essai de 5, 10 et 15° C (Doe et Wade, 1991; Paine et McPherson, 1991a, b). Pour les températures de 5 et 10° C, le taux de survie après 10 jours variait entre 93 et 98 % dans les sédiments de contrôle; par contre, ce taux baissait jusqu'à 66 % chez des sujets prélevés en même temps mais acclimatés et soumis à l'essai à une température de 15° C (Doe et Wade, 1991). Les résultats à ce jour indiquent qu'avec cette espèce, on peut s'attendes à des taux de survie acceptables ($\geq$90 %) dans les traitements de contrôle si les organismes sont acclimatés graduellement à 10° C (ou 5° C) et sont soumis à l'essai à cette température; il pourrait ne pas en être ainsi à une température de 15° C, surtout lorsque les températures ambiantes saisonnières sont basses (Doe et Wade, 1991).

Des essai comparatifs avec *A. virginiana* et *R. abronius* indiquent que, dans l'ensemble, ces deux espèces ont une sensibilité semblable aux sédiments contaminés ou au cadmium (produit toxique de référence) Doe et Wade, 1991). Cependant, des études additionnelles sont requises afin de confirmer la sensibilité de *A. virginiana* aux sédiments contaminés ou à un ou plusieurs produits chimiques de référence, par rapport à celle de *R. abronius* ou d'autres espèces d'amphipodes marins ou estuariens.

Amphiporeia virginiana s'enfouit généralement rapidement lorsqu'on la transfère de sédiments de contrôle à d'autres sédiments non contaminés, ou lorsqu'on la replace dans les sédiments de contrôle;

certains individus actifs pourraient cependant continuer à nager durant 1 h ou plus après avoir été transférés. Lorsqu'on le dérange, cet animal a tendance à s'élancer hors des sédiments et à se mettre à nager rapidement. Lors des tamisages, il se met souvent en boule et flotte à la surface de l'eau, bien qu'il arrive souvent qu'il nage rapidement vers le fond. On a décrit *Amphiporeia virginiana* de façons diverses : un amphipode blanc, en forme de croissant, ou un animal transparent, de couleur grisâtre, doté de petits yeux rouges (Paine et McPherson, 1991a, b).

L'Annexe G du document d'Environnement Canada (1998a) devrait être consultée pour des renseignements supplémentaires et plus récents sur les limites de tolérance de *A. virginiana* à la taille des particules. Cette annexe fournit également des renseignements sur la tolérance de cette espèce à l'ammoniaque dans les essais conduits avec de "l'eau seulement" et "des sédiments dopés", ses limites de tolérance connue à la salinité de l'eau de porosité, sa performance historique de contrôle et les CL50 antérieures pour les essais avec du cadmium comme produit toxique de référence dans "l'eau seulement".

Corophium volutator (Pallas)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

En tant que membre de la famille gammaridienne des Corophiidae, *C. volutator* présente les caractéristiques suivantes : corps allongé, déprimé, semblable à celui d'un isopode, et plaques coxales de petite taille; antenne 2 munie d'une griffe à son extrémité, et présentant un dimorphisme marqué entre les deux sexes (grande et lourde chez les mâles); péréiopodes 3 et 4 à glandes cémentaires formant des conduits dans les dactyles; péréiopodes 5 et 6 courts et invertis, et péréiopode 7 allongé et placé normalement; pédoncles des pléopodes très larges; uropode 3 très court et présentant une seule branche; telson constitué d'une petite plaque (Bousfield, 1990b).

Cette espèces se distingue des autres membres de la famille de Corophiidae qui se retrouvent dans la région nord-américaine de l'Atlantique par la combinaison des caractéristiques suivantes (Bousfield, 1973, 1990b) (*cf.* figure F.1) : grande taille (mâles mesurant jusqu'à 15 mm avec les antennes); segments de l'urosome non fusionnés; segment 5 des péréiopodes 3 et 4 de taille normale (et non très petite); et, sur le gnathopode 2, marge postérieure du dactyle (griffe) lisse, non dentée (Bousfield, 1973, 1990b).

Distribution de l'espèce

Corophium volutator se retrouve dans la boue et le sable boueux des deux côtés de l'Atlantique Nord (Peer *et al.*, 1986). Cette espèce d'amphipode est très répandue dans les eaux côtières européennes (McLusky, 1968; Peer *et al.*, 1986; Roddie et Kedwards, 1991). En Amérique du Nord, on ne la rencontre que dans le golfe du Maine; elle est très répandue partout dans la baie de Fundy jusqu'aux environs de Yarmouth (N.-É.) et, au sud, jusqu'à la baie de Casco (Maine). L'espèce es particulièrement présente le long de la rive sud et dans la partie supérieure du Minas Basin dans la baie de Fundy, aux endroits suivants : Kingsport, Evangeline Beach, Walton Beach, Bruntcoat Head et Maitland (Bousfield, 1990b).

Conditions écologiques

Corophium volutator vit en zone intertidale, dans la boue de slikkes, dans les flaques de schorres et dans des fossés d'eau saumâtre. L'espèce se tient à des profondeurs allant de la laisse de basse mer jusqu'à près du niveau moyen de la laisse de haute mer (Bousfield, 1973) et atteint une densité maximale dépassant 60 000 indivius au mètre carré (Yeo, 1977). Les animaux forment généralement des tubes en U qui s'enfoncent jusqu'à 10 cm au-dessous de la surface des sédiments (Hart, 1930; Meadows, 1964), mais il arrive qu'on les trouve sous forme de plancton (Bousfield, 1973). *Corophium volutator* est particulièrement abondante à la fin du mois de juillet et durant le mois d'août dans les slikkes, où elle constitue une source de nourriture importante pour les oiseaux de rivage en migration (Peer *et al.*, 1986; Bousfield, 1990b).

Corophium volutator vit dans des sédiments composés principalement de limon ou d'argile (37 % de limon ou d'argile, McLusky, 1967 $\leq$0,04 mm, Hawkins, 1985).

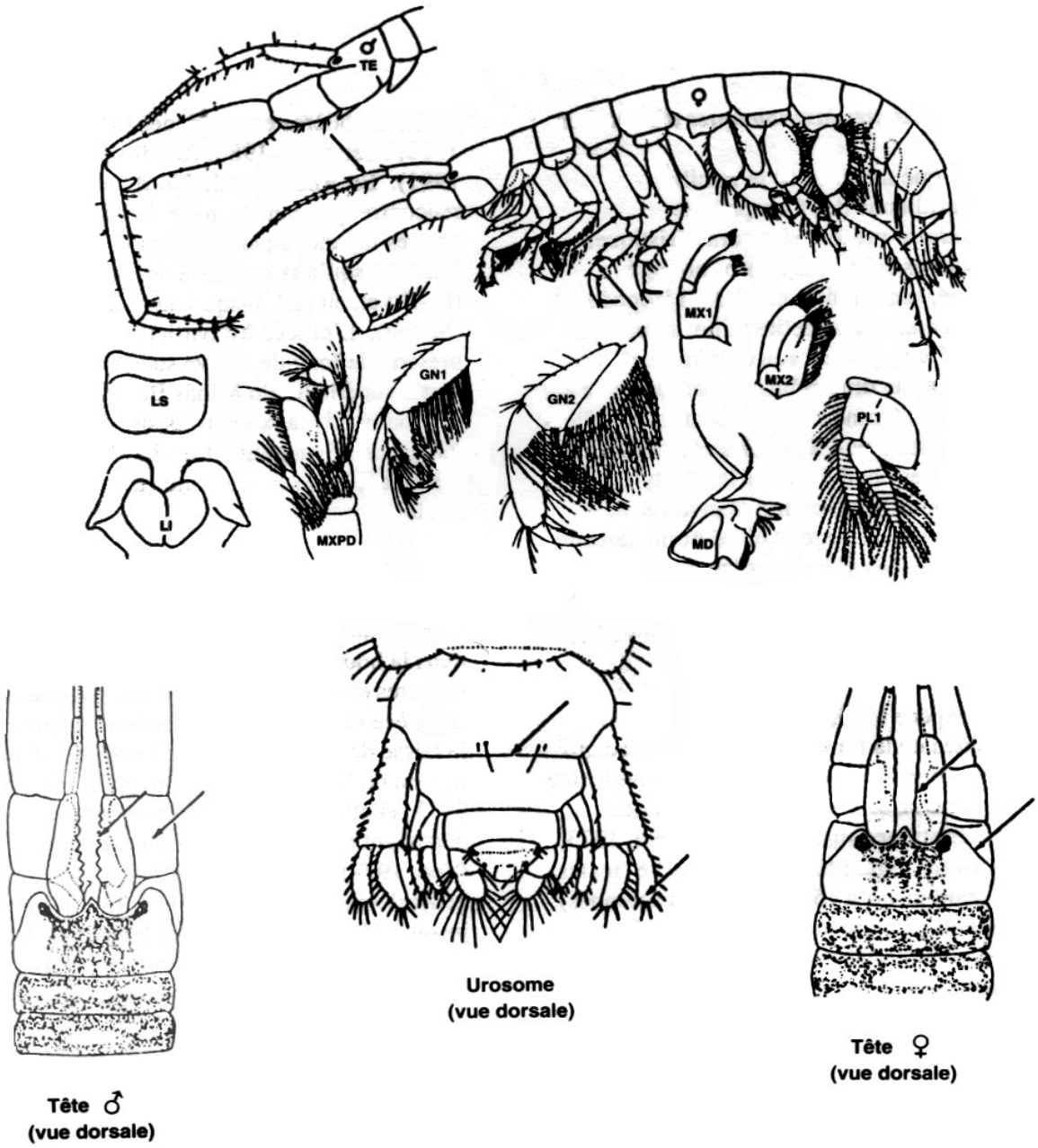


Figure F.1 Illustration taxinomique de *Corophium volutator* [a]

[a] D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

Elle est particulièrement abondante dans les zones protégées; on ne trouve pas de spécimens dans les sédiments très contaminés, ni dans la boue sulfureuse noircie par un excès de détritus organiques ou dans le sable ne contenant pas une réserve abondante de détritus (McLusky., 1967). Les spécimens sont généralement plus nombreux dans les bâches que dans les parties bien drainées des slikkes (Peer *et al.*, 1986). On pense que ces animaux sont des dépositivores sélectifs, qui se nourrissent principalement de diatomées, d'algues microscopiques et de bactéries associées aux particules de sédiments de moins de 0,06 mm (Peer *et al.*, 1986).

Cette espèce vit dans des conditions des salinité très variables, bien que sa présence soir le plus souvent constatée dans les eaux d'estuaires ou de mers d'une salintié réduite comme la mer Baltique (McLusky, 1967). *Corophium volutator* se retrouve en moindre quantité dans les zones où la salinité est fréquemment de 2 à 5 g/kg; une salinité de 2 g/kg semble être le seuil critique qui détermine sa distribution (McLusky, 1968). Cette espèce vit dans les sédiments intertidaux où la température ambiante est de 2 à 20° C (McLusky, 1968).

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

On a étudié la vie et le processus de reproduction de *C. volutator* (Peer *et al.*, 1986). L'espèce a un cycle biologique annuel. Dans la baie de Fundy, les densités sont faibles de janvier à mai, probablement en raison de l'affouillement glaciel. Les jeunes sont généralement libérés à la fin de mai, et la population devient bimodale en juin. À la fin de juillet ou au début d'août, la population qui a hiverné disparaît. Les densités augmentent considérablement de juin à septembre (Fish et Mills, 1979; Peer *et al.*, 1986).

Le corps de *Corophium volutator* atteint une taille maximale de 12 à 15 mm, y compris les antennes (Peer *et al.*, 1986; Paine et McPherson, 1991b). On trouve tout au long de l'année des juvéniles et des adultes mesurant de 4 à 10 mm de longueur, sauf pendant les mois d'hiver où se produit l'affouillement glaciel (Nicol et Doe, 1990; McLeay *et al.*, 1991; Paine et McPherson, 1991a, b); pour les essais de toxicité, on devrait utiliser des populations de cette taille. On ne devrait pas utiliser d'individus plus grands, car ils pourraient être sénescents.

Essais en laboratoire et tolérance

Des études en laboratoire ont montré que *C. volutator* tolère une vaste gamme de degrés de salinité. Si on lui fournit des sédiments non contaminés d'une teneur élevée en boue, l'espèce peut survivre à des salinités allant de 2 à 50 g/kg (McLusky, 1967). La croissance est maximale à une salinité de 15 g/kg, et légèrement moindre à 4 et à 31 g/kg; elle diminue toutefois progressivement au-dessous de 4 g/kg (McLusky, 1967). Les taux de consommation d'oxygène ne sont pas modifiés par de grandes variations de la salinité (McLusky, 1969). Des expériences ont montré que des salinités allant de 10 à 30 g/kg étaient préférables à des salinités plus élevées ou plus faibles (McLusky, 1970).

Des études de mortalité après 10 jours effectuées avec divers sédiments montrent que la composition granulométrique ou le contenu organique des sédiments n'ont que peut d'effet sur le taux de survie de cette espèce. Des essais comparatifs effectués sur *C. volutator* par trois laboratoires, avec des sédiments de référence grossiers (97 % des particules de 0,13 à 0,5 mm) et fins (30 % des

particules de moins de 0,06 mm et 63 % de 0,06 à 0,13 mm) ont révélé des taux de survie également élevés (>90 %) pour les deux types de sédiments (Paine et McPherson, 1991a). Pour des sédiments d'essai contenant jusqu'à 72 % de boue (limon et argile ≤0,06 mm), on a enregistré des taux de survie atteignant 98 % (Paine et McPherson, 1991b). On a également constaté des taux de survie élevés (≥90 %) dans des échantillons de sédiments dont la teneur en résidus volatils totaux pouvait atteindre 102 g/kg (Paine et McPherson, 1991b).

Quand *C. volutator* est acclimatée et soumise à l'essai à une température de 15 ± 2° C, son taux de survie après 10 jours est généralement d'au moins 95 % (Nicol et Doe, 1990; Paine et McPherson, 1991a, b; Tay *et al.*, 1991). Des essais comparatifs montrent que cette espèce est généralement moins sensible aux sédiments contaminés que *R. abronius* ou certaines autres espèces d'amphipodes marins ou estuariens non tubicoles (Nicol et Doe, 1990; Paine et McPherson, 1991a, b; Tay *et al.*, 1991). Toutefois, son taux de survie après 10 jours peut être considérablement réduit par des sédiments contaminés (Paine et McPherson, 1991a, b; Tay *et al.*, 1991), et elle peut être utile pour déterminer la distribution spatiale des gradients de contaminants (Roddie et Kedwards, 1991). Des essais de quatre jours sur *C. volutator* et *R. abronius* effectués en eau de mer seulement ont montré que la sensibilité relative de ces deux espèces à chacun de cinq produits chimiques variait selon le produit en cause (Nicol et Doe, 1990).

Cette espèce, de couleur brunâtre, est dotée d'antennes distinctes et de bandes foncées sur la partie dorsale du corps. *Corophium volutator* ne flotte pas quant elle est passée au tamis, mais elle est facile à prélever en raison de sa taille. Quant il nage, l'animal se met en boule puis s'allonge. Contrairement aux autre espèces d'amphipodes marins ou estuariens ayant été étudiés, *Corophium volutator* ne s'enfouit généralement pas rapidement quand on la transfère dans des sédiments de contrôle ou d'autres sédiments non contaminés; il en résulte que cette espèce ne convient pas à l'essai de 1 h visant à déterminer le succès de l'enfouissement à la fin d'une étude de 10 jours (Paine et McPherson, 1991a). Cependant, après s'être enfouie dans des sédiments non contaminés, cette espèce demeure normalement enfouie pendant les périodes d'acclimatation et d'essai (Paine et McPherson, 1991a). Il est fréquent que les animaux émergent de sédiments contaminés (McLeay *et al.*, 1991; Paine et McPherson, 1991a); ce comportement peut rendre turbide l'eau de mer sus-jacente et empêcher l'observation du nombre d'individus ayant émergé.

Bien que moins sensible aux sédiments contaminés que *R. abronius* et que certaines autres espèces d'amphipodes fouisseurs estuariens ou marins, *C. volutator* peut servir à l'évaluation de la toxicité aiguë de sédiments dont la salinité de l'eau de porosité varie de 2 à plus de 28 g/kg.

Eohaustorius estuarius (Bosworth)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

Cette espèce d'amphipode estuarien appartient à la famille gammaridienne des Haustoriidae. *Eohaustorius estuarius* ainsi que les autres membres de cette famille présentent les caractéristiques suivantes (Bosworth, 1973) (*cf.* figure G.1) : corps court et très large; urosome dévié sous le pléosome; segments basilaires des antennes et des péréiopodes très élargis et portant des épines, adaptés à l'enfouissement dans le sable; pièces buccales adaptées à une alimentation par filtrage; gnathopodes minces, dissemblables, simples ou faiblement chéliformes; péréiopodes 3 à 7 dépourvus de dactyles; pléopodes modifiés, plus puissants; uropode aux rames linéaires (et non falciformes); branchies coxales manquantes sur le P7; et plaques incubatrices moyennement larges.

L'espèce se distingue des autres membres de la famille des Haustoriidae par la combinaison des caractéristiques suivantes (Bosworth, 1973; *cf.* figure G.1) : péréiopodes 3 et 4 très dissemblables quant à leur forme et à leur taille; péréipode 7 à base lisse en arrière, sans cuspide proximal; face externe des segments 4 et 5 et marges du péréiopode 5 presque entièrement dépourvues de touffes d'épines; segment 6 du péréipode 7 à marge postérieure portant seulement une ou deux touffes d'épines.

Distribution de l'espèce

Eohaustorius estaurius se retrouve le long de la côte ouest de l'Amérique du Nord, depuis le centre de la Colombie-Britannique au moins jusqu'au centre de la Californie (ASTM, 1991a). On l'a rencontrée sur des plages des îles de la Reine-Charlotte, mais pas encore dans le sud-est de l'Alaska (Bosworth, 1973; Bousfield, 1990a, b). Des sites de prélèvement appropriés existent sur la côte ouest de l'île de Vancouver (p. ex., à McKenzie Beach ou à Long Beach, dans la baie de Wickaninnish).

Conditions écologiques

On trouve cette espèce d'amphipode fouisseur sur les plages protégées et semi-protégées, à partir de niveaux intermédiaires jusqu'à des niveaux infratidaux peu profonds, dans les premiers 10 cm de sédiments (ASTM, 1991a; Bousfield, 1990b). Sur les côtes ouvertes, *E. estaurius* vit dans le lit des ruisseaux d'eau douce qui se déversent sur les plages et dans les bancs de sable des estuaires, au-dessus du niveau où l'on trouve les autres membres du genre dans la région (*E. sawyeri* et *E. washingtonianus*) (Bousfield, 1990b). Les densités les plus élevées sont atteintes près de l'embouchure des ruisseaux et des rivières, où la salinité de l'eau de porosité varie de 15 à 25 g/kg, mais l'espèce vit aussi dans des ruisseaux estuariens où la salinité de l'eau de porosité tombe régulièrement au-dessous de 10 g/kg (DeWitt *et al.*, 1989).

Eohaustorius estuarius vit dans des sables non contaminés, à grains moyens et fins, présentant uns certaine teneur organique. Aux sites de prélèvement, la taille des particules de sédiments variait de 0,06 à 2,0 mm, la majorité des particules mesurant de 0,13 à 0,25 mm (Paine et McPherson, 1991a, b); les salinités et les températures allaient respectivement de 1 à 8 g/kg et de 8 à 13° C.

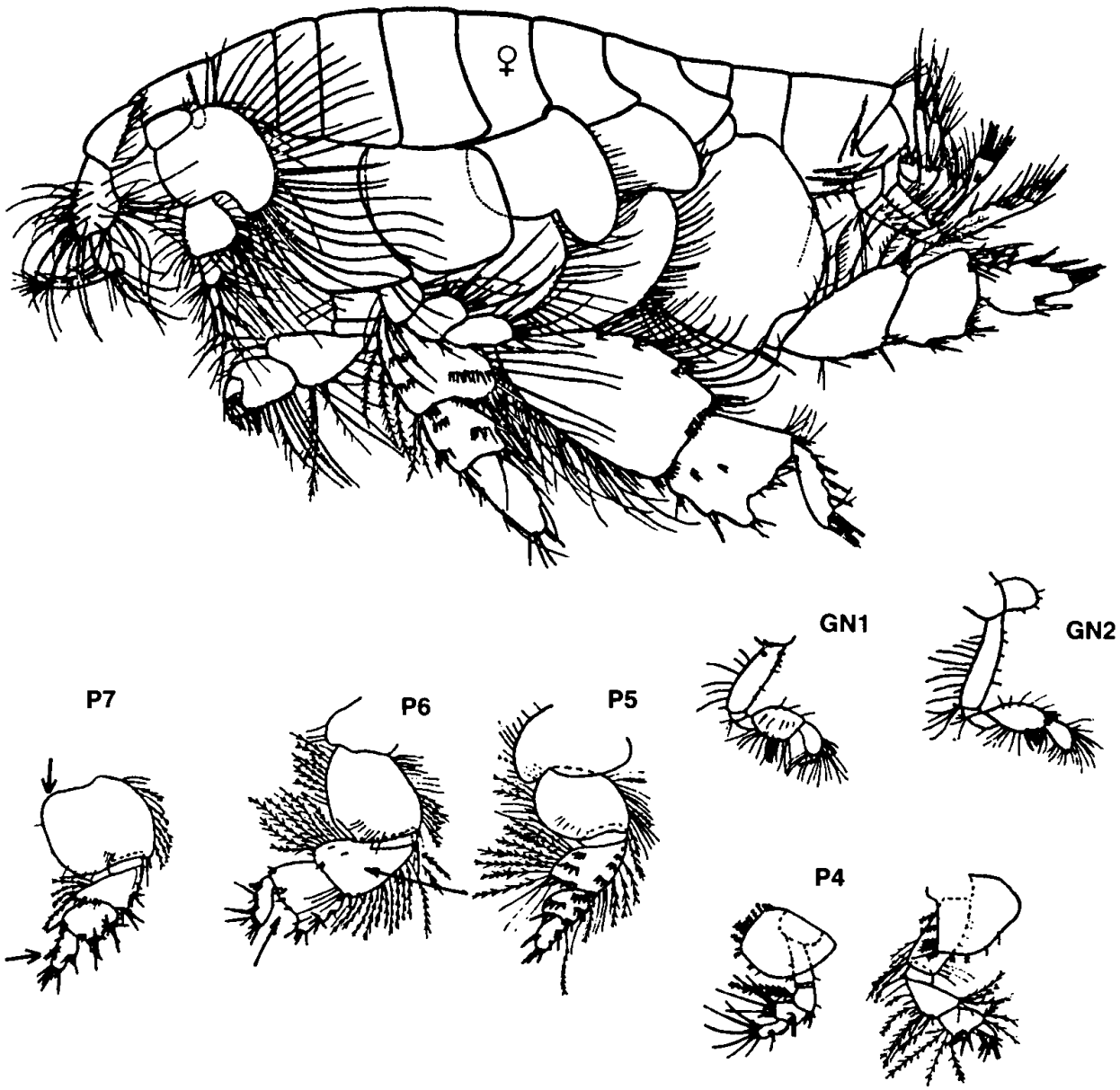


Figure G.1 Illustration taxinomique de *Eohaustorius estuarius* [a]

[a] Corps illustré d'après Barnard, 1962 et appendices d'après Bosworth, 1973. Illustration adaptée de Bousfield, 1990b (reproduction autorisée). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

Eohaustorius estuarius semble avoir un cycle biologique annuel; les femelles gravides sont particulièrement nombreuses dans les sédiments intertidaux de février jusqu'à juillet (DeWitt *et al.*, 1989; ASTM, 1991a). Cependant, étant donné que l'on trouve des juvéniles presque en toute saison, il est possible que la reproduction ait lieu tout au long de l'année (DeWitt *et al,* 1989). Pour les essais de toxicité, on devrait utiliser de grands animaux juvéniles ou adultes, d'une longueur totale de 3 à 5 mm, car on peut les trouver touts au long de l'année et ils sont faciles à manipuler (ASTM, 1991a). On ne devrait pas utiliser d'individus très grands (c.-à-d., de plus de 5 mm), car ils pourraient être sénescents.

Essais en laboratoire et tolérance

L'espèce tolère une large gamme de degrés de salinité : sans acclimatation, elle a accusé de bons taux de survie (95 %) à des salinités allant de 2 à 28 g/kg (DeWitt *et al.*, 1989). L'espèce tolère également des compositions granulométriques très variés dans les sédiments; en général, le fait que les sédiments non contaminés qu'on emploie sont grossiers ou très fins (principalement de limon et d'argile) n'a pratiquement aucune influence sur sa survie (DeWitt *et al.*, 1989; Paine et McPherson, 1991a). Toutefois, étant donné que cette espèce vit normalement dans des sédiments sableux et qu'une certaine corrélation pourrait exister entre la taille des grains et son taux de survie (DeWitt *et al.*, 1989; Paine et McPherson, 1991b), on devrait utiliser, dans les essais toxicité, des sédiments de référence non contaminé dont la composition granulométrique correspond à celle des sédiments d'essai.

Le taux de survie après 10 jours de *E. estuarius* dans les sédiments de contrôle est généralement d'au moins 95 % pour des essais à 15 ± 2° C, à des taux de salinité allant de 2 à 29 g/kg (DeWitt, 1989) ou à un taux de 28 g/kg (Paine et McPherson, 1991a, b). En général, *E. estuarius* est un peu moins sensible aux contaminants que *R. abronius* (ASTM, 1991a; Paine et McPherson, 1991a); cependant, dans certains cas, elle a démontré une sensibilité plus élevée à des sédiments contaminés (DeWitt *et al.*, 1989; Paine et McPherson, 1991b).

Eohaustorius estuarius est de couleur brun grisâtre ou brun jaunâtre, avec une tache ovale plus foncée sur la partie dorsale; elle est cupuliforme et d'apparence "spectrale". Les animaux nagent lentement, la partie dorsale vers le bas, souvent selon un mouvement en spirale; ils ne flottent pas bien mais sont faciles à prendre avec une pipette lors du tamisage des sédiments de contrôle. Quand on les replace dans les sédiments, ils s'enfouissement rapidement (dans un délai de 10 min). Étant donné qu'ils ne flottent pas et se confondent facilement avec les sédiments de couleur brune, les individus de l'espèce *E. estuarius* sont plus difficiles à retirer des sédiments d'essai que ceux de l'espèce *R. abronius* et d'autres espèces d'amphipodes endofauniques; le fait de changer l'eau utilisée pour le tamisage aides toutefois à les récupérer à la fin de l'essai. *Eohaustorius estuarius* convient très bien aux essais effectués avec des sédiments dont la salinité de l'eau de porosité se situe entre 2 et 28 g/kg.

L'Annexe F du document d'Environnement Canada (1998a) devrait être consultée pour des renseignements supplémentaires et plus récents sur les limites de tolérance de *E. estuarius* à la taille des particules. Cette annexe fournit également des renseignements

sur la tolérance de cette espèce à l'ammoniaque dans les essais conduits avec de "l'eau seulement" et "des sédiments dopés", ses limites de tolérance connue à la salinité de l'eau de porosité, sa performance historique de contrôle et les CL50 antérieures pour les essais avec du cadmium comme produit toxique de référence dans "l'eau seulement".

Eohaustorius washingtonianus (Barnard)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

Eohaustorius washingtonianus fait partie de la famille gammaridienne des Haustoriidae. Cette espèce, tout comme les autres membres de la famille, présente les caractéristiques suivantes (Bosworth, 1973) (*cf.* figure H.1) : corps court et très large; urosome dévié sous le pléosome; segments basilaires des antennes et des péréiopodes très élargis et portant des épines, adaptés à l'enfouissement dans le sable; pièces buccales adaptées à une alimentation par filtrage, avec de grands lobes munis de soies sur les maxilles et les maxillipèdes; gnathopodes minces, dissemblables, simples ou faiblement chéliformes; péréiopodes 3 à 7 dépourvus de dactyles; pléopodes modifiés, plus puissants, aux pédoncules courts et larges; uropode aux rames linéaires (et non falciformes); branchies coxales manquantes sur le P7; et plaques incubatrices moyennement larges.

Eohaustorius washingtonianus se distinque des autres membres de la famille des Haustoriidae par la combinaison des caractéristiques suivantes (Bosworth, 1973; *cf.* figure H.1) : péréiopodes 3 et 4 très dissemblables quant à leur forme et à leur taille; lobes du telson largement espacés, attachés à la partie dorsale postérieure; face externe des segments 4 et 5 et marges du péréiopode 5 présentant des touffes d' épines bien fournies; péréiopode 7 à base munie de soies clairsemées sur la partie arrière, avec cuspide proximal épais; segment 6 du péréiopode 7 à marge postérieure présentant trois touffes d'épines.

Distribution de l'espèce

Eohaustorius washingtonianus se retrouve le long de la côte ouest de l'Amérique du Nord depuis le sud-est de l'Alaska jusqu'à l'Orgeon (Bousfield, 1990a, b). Il existe des sites de prélèvement appropriés à l'ouest de Victoria (C.-B.) (Witty's Lagoon, ou côté exposé de Esquimalt Lagoon); à West Beach, Whidbey Island (État de Washington); et sur la grande plage de Point Roberts (État de Washington) (Bousfield, 1990a, b; Paine et McPherson, 1991a, b; Yee *et al.,* 1992).

Conditions écologiques

Cette espèce d'amphipode fouisseur se retrouve sur les plages de sable exposées aux vagues ou semi-protégées, à partir de niveaux intermédiaires jusqu'à des niveaux infratidaux peu profonds (Bosworth, 1976; Bousfield, 1990a, b). Selon les rapports de prélèvement, il semble que la distribution verticale de cette espèce atteigne des niveaux de plus en plus profonds au fur et à mesure qu'on s'éloigne vers le sud, bien que l'ampleur de la distribution infratidale demeure inconnue (Bosworth, 1976; Bousfield, 1990a). *Eohaustorius washingtonianus* est la plus commune des espèces de la familles des Haustoriidae sur les plage de la Colombie-Britannique (Bousfield, 1990a, b).

Cette espèce tolère une large gamme de taux de salinité (habituellement de 12 à 33 g/kg) et de températures estivales de surface (de 10 à 22° C) (Bousfield, 1990b). Dans un site de prélèvement infratidal situé en Colombie-Britannique non loin de Esquimalt Lagoon,

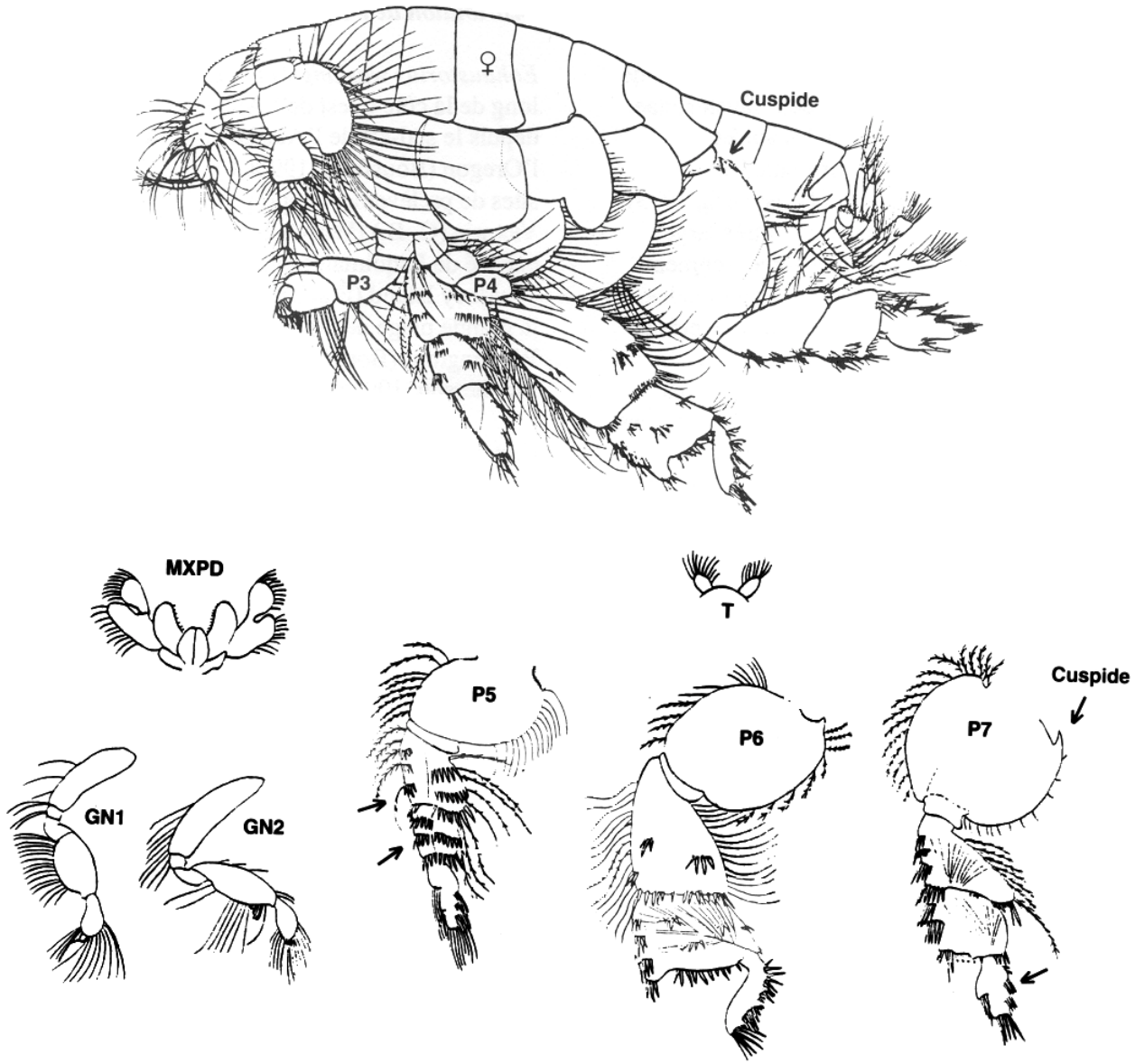


Figure H.1 Illustration taxinomique de *Eohaustorius washingtonianus* [a]

[a] Illustration d'après Thorsteinson (1941), adaptée de Bousfield (1990b). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

on a enregistré à la surface des sédiments des taux de salinité de 36 g/kg, 35 g/kg et 35 g/kg et des températures de 8° C, 11° C et 7° C respectivement en janvier, en juin et en octobre (McPherson et Paine, 1991a, b; Yee *et al.*, 1992).

Eohaustorius washingtonianus vit normalement dans la couche superficielle d'un sable non contaminé à grains moyens et fins et à teneur organique peu élevée (Bousfield, 1990b). Les sédiments prélevés dans un site de Colombie-Britannique étaient composés de particules mesurant de 0,13 à 2,0 mm, la majorité d'entre elle (de 62 à 80 %) étant de 0,25 à 0,5 mm (McPherson et Paine, 1991a, b; Yee *et al.*, 1992).

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

E. washingtonianus semble avoir un cycle biologique annuel; on trouve des femelles ovigères tout au long de l'année (Bosworth, 1976; Bousfield, 1`990b). Dans l'Oregon, c'est en février que le pourcentage de femelles gravides est le plus élevé (de 60 à 70 %); ce pourcentage varie de 10 à 20 % durant le reste de l'année (Bosworth, 1976). On ne peut déterminer de tendances saisonnières constantes quant à l'abondance relative des mâles et des femelles, bien qu'on semble observer une prépondérance des femelles (Bosworth, 1976).

Le pourcentage des individus de petite taille (<3 mm) atteint son maximum en juin (Bosworth, 1976). Des animaux juvéniles et adultes d'une longueur totale de 2,5 à 5 mm peuvent être recueillis tout au long de l'année (Bosworth, 1976) et devraient être utilisés pour les essais de toxicité. On ne devrait pas utiliser d'animaux de très grande taille (c.-à-d., de plus de 5 mm), car ils pourraient être sénescents.

Essais en laboratoire et tolérance

Cette espèce semble quelque peu moins euryhaline que *E. estuarius* (Bosworth, 1976). Des études en laboratoire effectuées avec *E. washingtonianus* ont démontré des taux de survie élevés (de 95 à 100 %) au terme d'expositions de deux jours à des taux de salinité allant de 14 à 28 g/kg, à des températures de 5° C, 11° C ou 15° C [b]. Cependant, à des taux de salinité d'au plus 6 g/kg, les taux de survie étaient manifestement faibles ($\leq$25 %) à ces mêmes températures (Bosworth, 1976). Dans les mêmes études, le taux de survie de *E. washingtonianus* baissait quand les essais de toxicité aiguë étaient effectués à 21° C.

On ne dispose pas actuellement d'assez de données pour déterminer si cette espèce est sensibles à l'incidence de la composition granulométrique. Un étude menée en laboratoire par les chercheurs d'Environnement Canada a montré que *E. washingtonianus* avait un taux global moyen de survie de 87 % au terme d'une exposition de 10 jours à des sédiments de référence fins (31 % des particules de moins de 0,06 mm, et 95 % de moins de 0,13 mm), et taux de survie de 91 % au terme d'une exposition de 10 jours à des sédiments de référence grossiers (97 % de 0,13 à 0,5 mm) (Paine et McPherson, 1991a). Dans une étude effectuée ultérieurement, le taux de survie des animaux de cette espèce détenus pendant 10 jours dans des sédiments de référence fins avait baissé par rapport à celui des animaux

---

[b] Quand *E. estuarius* a été soumise à des essais effectués aux mêmes températures et aux mêmes taux de salinité, son taux de survie après 48 h était élevé (de 95 à 100 %) à des taux de salinité d'au moins 6 g/kg et à des températures allant de 5 à 21° C (Bosworth, 1976).

détenus dans des sédiments de contrôle plus grossiers (ce qui était aussi les cas pour *E. estaurius*); cependant, les auteurs doutaient que cette différence soit due à l'incidence de la composition granulométrique (Paine et McPherson, 1991b).

Des études interlaboratoires effectuées avec *E. washingtonianus* ont monté que le taux de survie après 10 jours de cette espèce dans des sédiments de contrôle était inférieur à 90 % et ne respectait donc pas le critère de validité des essais; les valeurs moyennes variaient de 79 à 89 %, selon le laboratoire et la nature de l'essai (Paine et McPherson, 1991a, b). On a ensuite effectué des études en prenant plus grand soin de réduire le stress dû à la manipulation et de minimiser les variations de température au cours du transport et de la période initiale d'acclimatation en laboratoire; on a alors obtenu des taux de survie après 10 jours suffisamment élevés dans les sédiments de contrôle (de 95 à 98 %) (Yee *et al.*, 1992). Des études interlaboratoires effectuées sur diverses espèces d'amphipodes communes dans les eaux côtières du Canada indiquent que *E. washingtonianus* compte parmi les espèces étudiées (y compris *R. abronius*) les plus sensibles aux échantillons de sédiments contaminés (Paine et McPherson, 1991 a, b); elle est donc recommandée pour l'essai. Toutefois, l'expérience montre qu'il faut apporter beaucoup de soin aux opérations de prélèvement, de transport et d'acclimatation pour obtenir, avec cette espèce, des taux de survie acceptables (moyenne d'au moins 90 %) dans les sédiments de contrôle.

Ce n'est que par l'observation au microscope qu'on peut distinguer *E. washingtonianus* de *E. estuarius*. *E. washingtonianus* est de couleur brun grisâtre ou brun jaunâtre, avec une tache ovale foncée sur la partie dorsale. Les animaux sont cupuliformes et d'apparence "spectrale". Ils nagent lentement, la partie dorsale vers le bas, souvent selon un mouvement en spirale; ils ne flottent pas bien mais sont faciles à prendre avec un pipette lors du tamisage des sédiments, ils s'enfouissement rapidement (dans un délai de 10 min). Étant donné qu'ils ne flottent pas et se confondent facilement avec les sédiments de couleurs brune, les individus de l'espèce *E. washingtonianus* sont plus difficiles à retirer des sédiments d'essai que ceux de l'espèce *R. abronius* et d'autres espèces d'amphipodes endofauniques; le fait de changer l'eau utilisée pour le tamisage aides toutefois à les récupérer à la fin de l'essai.

L'Annexe E du document d'Environnement Canada (1998a) devrait être consultée pour des renseignements supplémentaires et plus récents sur les limites de tolérance de *E. washingtonianus* à la taille des particules. Cette annexe fournit également des renseignements sur la tolérance de cette espèce à l'ammoniaque dans les essais conduits avec de "l'eau seulement" et "des sédiments dopés", ses limites de tolérance connue à la salinité de l'eau de porosité, sa performance historique de contrôle ,et les CL50 antérieures pour les essais avec du cadmium comme produit toxique de référence dans "l'eau seulement".

Foxiphalus xiximeus (Barnard)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

Tout comme *R. abronius*, cette espèce d'amphipode marin est membre de la famille gammaridiennes des Phoxocephalidae. *Foxiphalus xiximeus* se distingue des autres membres de la famille par les caractéristiques suivantes (Jarrett et Bousfield, 1992) (*cf.* Figure I.1) : rostre plein, ne présentant pas d'incisions latérales; gros yeux chez les deux sexes; dactyles de P3 et P4 distincts, non minuscules; segments 4 et 5 fortement élargis dans le cas du P5, et légèrement élargis dans le cas du P7; plaque abdominale latérale 3 se distinguant par sa marge arrière munie de soies dans le coin seulement; mandibule droite entièrement dépourvue de lacinia mobilis.

Distribution de l'espèce

Foxiphalus xiximeus se retrouve le long de la côte ouest de l'Amérique du Nord, depuis les îles Aléoutiennes jusqu'au sud de la Californie (Jarrett et Bousfield, 1992). En Colombie-Britannique, cette espèce est très répandue autour de l'île de Vancouver (p. ex., James Island, près de Sidney; Witty's Lagoon et Esquimalt Lagoon, à l'ouest de Victoria) et dans la partie centrale de la côte, mais elle est rare dans la région des îles de la Reine-Charlotte. Elle a été identifiée dans les eaux côtières du sud-est de l'Alaska et du Prince William Sound, ainsi qu'à l'île Unimak dans les îles Aléoutiennes (Jarrett et Bousfield, 1992).

Conditions écologiques

Foxiphalus xiximeus vit dans du sable non contaminé de texture moyenne à fine. La taille des particules de sédiments aux sites de prélèvement variait de 0,13 à 1 mm, la majorité des particules mesurant de 0,25 à 0,5 mm (Paine et McPherson, 1991a, b). Lors des prélèvements sur le terrain, les mesures de la qualité de l'eau du fond marin ont révélé les caractéristiques suivantes: salinité de 35 g/kg; pH de 7,8; température variant de 8 à 11° C. On peut retrouver cette espèce dans la zone intertidale à la laisse de basse mer, ou dans la zone infratidale jusqu'à des profondeurs d'au moins 25 m.

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

Le cycle biologique de *F. xiximeus* n'a pas été étudié; des prélèvements sur le terrain indiquent cependant que cette espèce a un cycle biologique annuel (une couvée par année). Aux fins de l'essai de toxicité, on devrait utiliser de grands individus juvéniles ou adultes d'une longueur totale de 3 à 6 mm. Des animaux de cette taille sont disponibles toute l'année dans les sites de prélèvement infratidaux et peuvent être facilement manipulés pour les essais de toxicité. On ne devrait pas utiliser d'individus matures très grands (c.-à-d., de plus de 6 mm), car ils pourraient être sénescents.

Essais en laboratoire et tolérance

La tolérance de *F. xiximeus* à des salinités et à des températures extrêmes n'a pas été étudiée. Les valeurs de salinité enregistrées aux sites de prélèvement indiquent que l'espèce convient aux essais effectués avec des échantillons de sédiments présentant une salinité de l'eau de porosité d'au moins 25 g/kg.

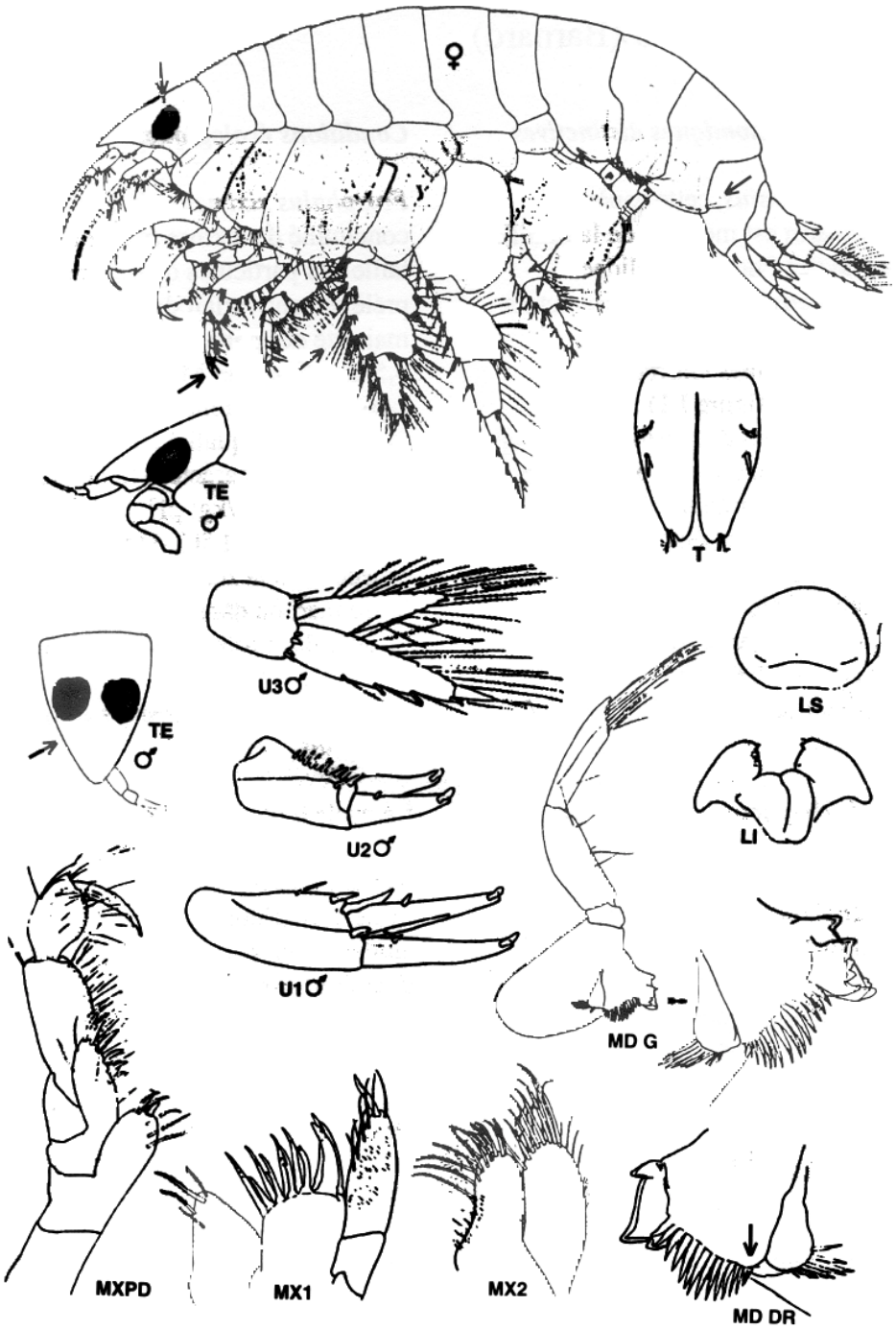


Figure I.1 Illustration taxinomique de *Foxiphalus xiximeus* [a]

a D'après Jarrett et Bousfield, 1992 (reproduction autorisée). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

On dispose de peu de renseignements sur l'effet au'ont la composition granulométrique ou l'augmentation du contenu organique des sédiments sur la survie de cette espèce dans le cadre d'essais de toxicité aiguë (10 jours). Des essais comparatifs effectués par trois laboratoires avec des sédiments de référence grossiers (97 % des particules de 0,13 à 0,5 mm) et fins (30 % des particules de moins de 0,06 mm, et 63 % à 0,13 mm) ont révélé des taux de survie élevés dans tous les cas (Paine et McPherson, 1991a). Pour des sédiments d'essai contenant jusqu'à 72 % de boue (limon et argile $\leq$0,06 mm), des taux de survie atteignant 95 % ont été enregistrés (Paine et McPherson, 1991b). Des taux de survie élevés ($\geq$90 %) ont également été obtenus avec des échantillons de sédiments contenant jusqu'à 124 g/kg de résidus volatils totaux (Paine et McPherson, 1991b). Ces données indiquent une influence minime de la composition granulométrique ou du contenu organique des sédiments sur la survie en laboratoire de *F. xiximeus*.

Le taux de survie moyen après 10 jours enregistré dans les sédiments de contrôle était de 98 % dans les essais effectués jusqu'à présent à des températures de 15 ± 2° C. Des essais comparatifs réalisés avec des sédiments contaminés indiquent que *F. xiximeus*, *R. abronius* et *E. estuarius* ont des sensibilités similaires (Paine et McPherson, 1991a, b).

Foxiphalus xiximeus s'enfouit rapidement (dans un délai de 10 min) lorsqu'on la transfère des sédiments de contrôle à d'autres sédiments non contaminés. Les individus peuvent nager rapidement. Lors des tamisages, ils flottent à la surface de l'eau de mer, se déplaçant sur le côté, ce qui facilite leur prélèvement. Ces animaux sont translucides, de couleur brune à grise, et ont souvent une rayure noire ou brune sur la face dorsale. L'extrémité antérieure de l'animal est en forme de point, et son extrémité postérieure présente souvent une tache blanche distinctive. *Foxiphalus xiximeus* a une forme similaire à celle de *R. abronius*, mais plus comprimée latéralement. Étant donné que les populations de *F. xiximeus* se retrouvent souvent dans les mêmes sites que des populations de *R. abronius* et d'autres espèces d'amphipodes, on doit se montrer vigilant lorsqu'on trie cette espèce. Hormis cette réserve, *F. xiximeus* est semblable à *R. abronius* en ce qui a trait à sa facilité de manipulation en laboratoire et sur le terrain ainsi qu'à son utilisation dans les essais de toxicité.

Leptocheirus pinguis (Stimpson)

Caractéristiques taxinomiques distinctives

Leptocheirus pinguis appartient à la famille d'amphipodes gammaridiennes des Aoridae, comprise dans la superfamille des Corophiidae (amphipodes vivant dans des tubes ouverts à une extrémité). Cette espèce se distingue des autres membres de la famille par la combinaison des caractéristiques suivantes (*cf.* figure J.1) : corps robuste, lourd; plaques coxales grandes et profondes, pourvues de nombreuses soies sur leur face inférieure; gnathopode 1 modérément (et non énormément) plus grand chez le mâle que chez le femelle; gnathopode 2 mince, simple; péréiopodes 5 à 7 ayant des bases larges; segments 1 et 2 de l'urosome ayant des touffes dorsales de soies ou de cuspides; uropode 3 subégalement biramé (Bousfield, 1973, 1990b).

Leptocheirus pinguis se distingue de *L. plumulosus* par sa coxa 1 rétrécie dans la partie distale et formant un angle, par le lobe antérieur de sa coxa 5, qui se trouve rétréci dans la partie distale, et par son telson garni de cuspides et d'épines (Bousfield, 1990b).

Distribution de l'espèce

Leptocheirus pinguis se retrouve le long de la côte atlantique de l'Amérique du Nord, du sud du Labrador à la Virginie. Cette espèce est très répandue dans les estuaires océaniques froids de l'est du Canada. Sur la côte de la Nouvelle-Écosse faisant face à l'océan, elle a été échantillonnée dans les estuaires froids de Guysborough Harbour, de Bourgeois Inlet et de Lennox Passage à Grandique Point. Dans le sud-ouest de la Nouvelle-Écosse, on a trouvé cette espèce à Split Point, à Clarke's Harbour et à Middle West Pubnico, à des niveaux extrêmes de la laisse de basse mer. Dans la baie de Fundy (Minas Basin et Minas Channel), *L. pinguis* a été échantillonnée à Kingsport, Diligent River et Spencer's Island, chaque fois au niveau de la laisse de basse mer (Bousfield, 1958; Bousfield et Leim, 1960; Bousfield et Laubitz, 1972).

Conditions écologiques

On trouve *Leptocheirus pinguis* depuis de faibles profondeurs dans la zone intertidale jusqu'à des profondeurs de plus de 250 m dans la zone infratidale, dans des sédiments fins (sable limoneux ou boue), particulièrement dans les lits des estuaires océaniques où le courant est appréciable. Espèce boréale, *L. pinguis* tolère des températures hivernales proches du point de congélation ainsi qu'une gamme restreinte de températures estivales (généralement de 10 à 15° C, rarement plus de 20° C). On la retrouve normalement dans des zones où la salinité est d'au moins 25 g/kg (Bousfield, 1990b).

Cet animal construit des tubes minces et parcheminés à partir de sédiments et de débris. Bien qu'elle soit une espèce tubicole, *L. pinguis* est presque certainement dépositivore et on peut donc s'attendre à ce qu'elle soit raisonnablement sensible aux sédiments contaminés (Bousfield, 1990b).

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

Le cycle biologique et le processus de reproduction de *L. pinguis* n'ont pas été

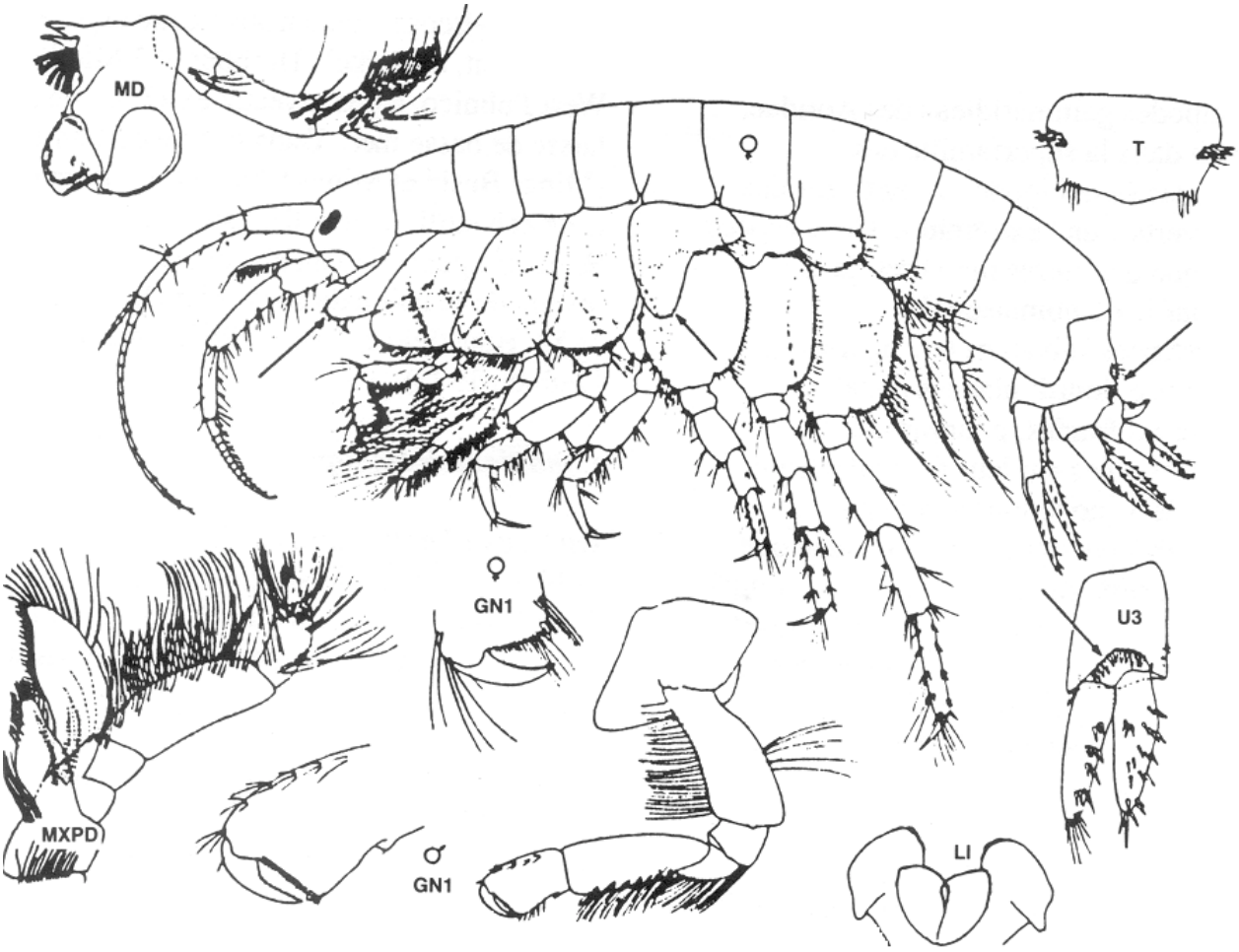


Figure J.1 Illustration taxinomique de *Leptocheirus pinguis* [a]

[a] D'après Bousfield, 1973 (reproduction autorisée). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

étudiés. L'espèce a probablement un cycle biologique de deux ans, et les femelles sont ovigères d'avril à juin (Bousfield, 1973). Des prélèvements effectués en juin ont permis d'identifier de grands indivius (de 16 à 18 mm, probablement des animaux dans leur deuxième année), des animaux de taille moyenne (de 5 à 8 mm) et d'autres très petits (moins de 1 mm) (Paine et McPherson, 1991b). On trouve des animaux juvéniles ou adultes d'une longueur totale de 4 à 10 mm tout au long de l'année, excepté durant l'hiver (de janvier à mars, peut-être jusqu'à avril), où il peut arriver que la glace recouvre les sites de prélèvement. Aux fins de l'essai de toxicité, on devrait utiliser des populations respectant cette échelle de grandeur. On ne devrait pas utiliser d'individus plus grands, car ils pourraient être sénescents ou être trop entassés au cours de l'essai.

Essais en laboratoire et tolérance

La tolérance de L. pinguis à la salinité et à la température n'a pas été étudiée dans des conditions de laboratoire; l'effet qu'ont la composition granulométrique et le contenu organique des sédiments sur sa survie en laboratoire n'a pas non plus été étudiée à fond. À une température d'essai de 15 ± 2° C, le taux de survie moyen après 10 jours dans des sédiments de contrôle ou de référence 0tait de 96 % (Paine et McPherson, 1991b). Ces sédiments contenaient jusqu'à 70 % et 64 % de boue (sédiments de contrôle et sédiments de référence, respectivement) et avaient une teneur en résidus volatils totaux allant jusqu'à 72 g/kg (Paine et McPherson, 1991b).

Les renseignements actuellement disponibles sont insuffisants pour permettre de juger de la sensibilité de *L. pinguis* à des sédiments contaminés, par rapport à d'autres espèces d'amphipodes marins ou estuariens. Des données préliminaires obtenues avec trois échantillons de sédiments indiquent que *R. abronius* pourrait être quelque peu plus sensible, bien que cela n'ait pas été le cas pour tous les sédiments étudiés (Paine et McPehrson, 1991b).

Leptocheirus pinguis est de couleur gris brunâtre et se distingue par la présence de nombreuses bandes ou rayures foncées en travers du dos. Les animaux de cette espèce nagent de la même façon que ceux de l'espèce *R. abronius* et s'enfouissement rapidement (dans un délai de 10 min) lorsqu'on les transfère dans des sédiments non contaminés. *Leptocheirus pinguis* flotte souvent à la surface de l'eau après qu'on l'a tamisée hors des sédiments. Les individus se mettent en boule lorsqu'ils se retrouvent sur le tamis, mais pas lorsqu'ils flottent (Paine et McPherson, 1991b).

Rhepoxynius abronius (Barnard)

Cette espèce d'amphipode marin fait partie de la famille gammaridienne des Phoxophalidae. Elle se distingue des autres membres de la famille par les caractéristiques suivantes (Barnard, 1960; Jarrett et Bousfield, 1992) (*cf.* Figure K.1) : rostre mince, avec une incision profonde devant les yeux (vue dorsale); épistome avançant de façon marquée vers l'avant; gnathopodes légèrement subchéliformes, à carpe allongé; marge arrière de la base du P7 dotée de 8 à 10 cuspides peu profondes; péréiopodes 5 à 7 ayant des dactyles longs et minces; pédoncles des uropodes 1 et 2 munis de nombreuses épines à l'arrière.

Distribution de l'espèce

Le genre *Rhepoxynius* est largement répandu sur les côtes est et ouest de l'Amérique du Nord (Barnard et Barnard, 1982; Jarrett et Bousfield, 1992). Des populations abondants de *R. abronius* se retrouvent la long de la côte ouest, du centre de la Colombie-Brtiannique au sud de la Californie; cette espèce ne vit pas sur la côte est de l'Amérique du Nord. En Colombie-Britannique, on retrouve communément *R. abronius* de l'île de Vancouver (p. ex., à McKenzie Beach, près de Tofino; à Pachena Bay, près de Bamfield) jusqu'au nord des îles de la Reine-Charlotte.

Conditions écologiques

Rhepoxynius écologiques vit dans des sables non contaminés sur le plateau continental et, le long des estuaires, dans les zones où la salinité ne baisse pas à moins de 20 g/kg. On trouve cette espèce principalement sur les plages océaniques qui présentent une salinité élevée, de l'ordre de la salinité de l'océan. Cet amphipode endofaunique peut s'enfouir jusqu'à une profondeur de 6 cm mais vit normalement dans uns couche de 2 cm à la surface des sédiments (Swartz *et al.,* 1985a). On le retrouve communément dans des sédiments non contaminés de la zone intertidale peu profonde ou de la zone infratidale proche de la côte, bien qu'il s'agisse d'habitude d'une espèce infratidale vivant à des profondeurs allant jusqu'à 274 m (Barnard et Barnard, 1982).

Dans la nature, cet organisme survit bien dans des sédiments pouvant présenter des compositions granulométriques très variés (p. ex., pourcentage de limon ou d'argile variant de 1 à 79 %), bien qu'il semble avoir une préférence pour un milieu allant du sable fin bien trié au limon sableux (ASTM, 1991a). Cette espèce est plus sensible aux sédiments contaminés que diverses autre espèces benthiques marines dont certains bivalves, copépodes, cumacés, oligochètes et polychètes (Swartz *et al.,* 1985a; Chapman, 1986). Les observations sur le terrain indiquent que *R. abronius* et les amphipodes de la famille des Phoxocephalidae en général ne se retrouvent pas dans les régions contaminés (Swartz *et al.,* 1982; Swartz *et al.,* 1986). *Rhepoxynius abronius* est un prédateur méiofaunique qui se nourrit également d'algues et de détritus (ASTM, 1991a).

L'Annexe D du document d'Environnement Canada (1998a) devrait être consultée pour des renseignements supplémentaires et plus récents sur les limites de tolérance de *R. abronius* à la taille des particules. Cette annexe fournit également des renseignements

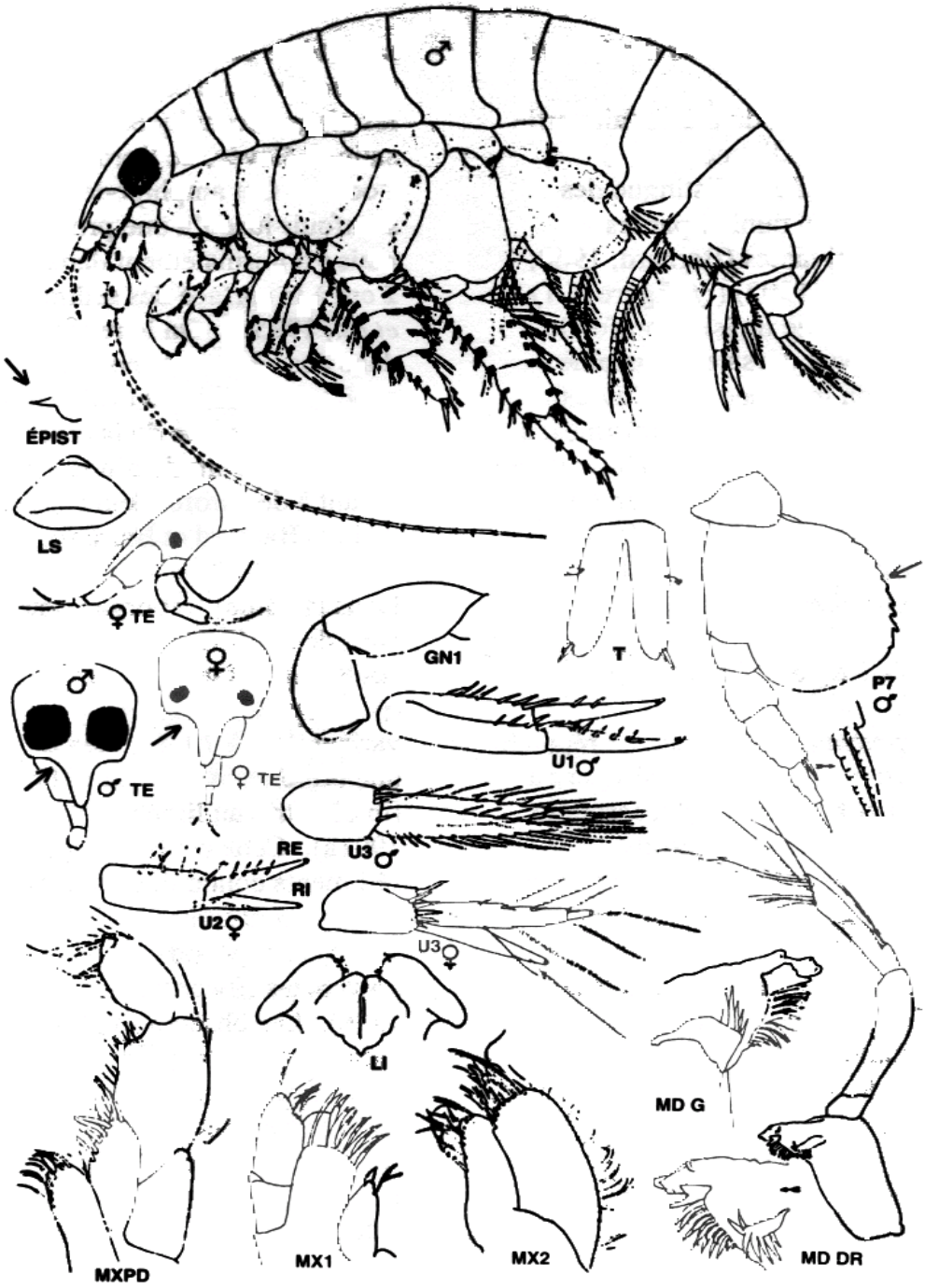


Figure K.1 Illustration taxinomique de *Rhepoxynius abronius* [a]

[a] D'après Jarrett et Bousfield, 1982 (reproduction autorisée). *Cf.* annexe E pour la liste des abréviations.

sur la tolérance de cette espèce à l'ammoniaque dans les essais conduits avec de "l'eau seulement" et "des sédiments dopés", ses limites de tolérance connue à la salinité de l'eau de porosité, sa performance historique de contrôle, et les CL50 antérieures pour les essais avec du cadmium comme produit toxique de référence dans "l'eau seulement".

Cycle biologique et groupe d'âge aux fins des essais

Rhepoxynius abronius a un cycle biologique annuel (une couvée par année); le recrutement a lieu à partir de la fin de l'hiver et au cours du printemps (Kemp *et al.,* 1985; ASTM, 1991a). Aux fins de l'essai de toxicité, on devrait utiliser de grands individus juvéniles ou adultes, d'une longueur total de 3 à 5 mm. Des animaux de cette taille sont disponibles tout au long de l'année et sont faciles à manipuler pour les essais de toxicité. Des mâles et des femelles matures ont monté une sensibilité égale à des substances à expérimenter (ASTM, 1991a); il est donc possible d'utiliser pour l'essai une population composée des deux sexes. On ne devrait pas utiliser d'individus matures très grands (c.-à-d., de plus de 5 mm) car ils pourraient être sénescents. Il est nécessaire de changer de classe annuelle au cour de l'été, lorsque les adultes âgés meurent et sont remplacés par les juvéniles arrivant à maturité.

Essais en laboratoire et tolérance

Rhepoxynius abronius convient très bien à des essais de toxicité aiguë effectués avec des échantillons de sédiments dont la salinité de l'eau de porosité est de 25 g/kg ou plus. On a observé en laboratoire uns baisse du taux de survie de cette espèce à des salinités inférieures (Swartz *et al.,* 1985a; ASTM, 1991a). *Rhepoxynius abronius* tolère une augmentation substantielle du contenu organique des sédiments et peut survivre à des périodes d'exposition de 10 jours à des sédiments dont le potentiel d'oxyréduction (rH) est très bas (Swartz *et al.,* 1985a).

En laboratoire, *R. abronius* s'enfouit rapidement (dans un délai de 10 min) lorsqu'on la transfère des sédiments de contrôle à d'autres sédiments non contaminés. Les individus peuvent nager rapidement, bien que beaucoup se mettent en boule et flottent à la surface de l'eau lors du tamisage, ce qui facilite leur prélèvement. On a décrit la couleur de cette espèce comme allant du rose saumon à un brun jaunâtre ou grisâtre, ou comme étant blanche avec des nuances d'un brun rosé. Les yeux et le tube digestif sont apparents; les animaux ont un corps épais. Sur les animaux de grande taille, on remarque une zone de couleur blanchâtre sur le côté. Il est très facile de travailler avec cette espèce à toutes les phase de l'essai.

Cette espèce tolère de grandes variations dans la composition granulométrique des sédiments, bien qu'un certain nombre d'études aient montré une baisse du taux de survie lorsque l'espèce est détenue pendant 10 jours dans des sédiments non contaminés très fins (composés surtout de limon et d'argile) (DeWitt *et al.,* 1988; Long *et al.,* 1990; McLeau *et al.,* 1991). Ces résultats tiennent à ce qu'on inclut toujours dans l'essai un ou plusieurs échantillons de sédiments de référence dont la composition des sédiments à expérimenter (*cf.* 5.1).

Lorsque *R. abronius* est acclimatée et soumise à l'essai à des températures de 15 ± 2° C, son taux de survie après 10 jours dans les sédiments de contrôle est généralement de 95 % ou plus (ASTM, 1991a; McLeay *et al.,* 1991; Paine et McPherson, 1991a, b). Dans des essais comparatifs effectués avec d'autres espèces d'amphipodes marins ou estuariens,

R. abronius s'est révélée être parmi les espèces les plus sensibles aux échantillons de sédiments contaminés (Paine et McPherson, 1991a). Il est établi que l'essai de toxicité de 10 jours effectué avec *R. abronius* est très utile pour la détection de la toxicité dans les sédiments. Cet essai peut être appliqué à diverses fins de réglementation, de surveillance et de recherche.

Série logarithmique de concentrations convenant aux essais de toxicité [a]

Colonne	(Nombre de concentrations entre 10,0 et 1,00 ou entre 1,00 et 0,10) [b]					
1	2	3	4	5	6	7
10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
3,2	4,6	5,6	6,3	6,8	7,2	7,5
1,00	2,2	3,2	4,0	4,6	5,2	5,6
0,32	1,00	1,8	2,5	3,2	3,7	4,2
0,10	0, 46	1,00	1,6	2,2	2,7	3,2
	0,22	0,56	1,00	1,5	1,9	2,4
	0,10	0,32	0,63	1,00	1,4	1,8
		0,18	0,40	0,68	1,00	1,3
		0,10	0,25	0,46	0,72	1,00
			0,16	0,32	0,52	0,75
			0,10	0,22	0,37	0,56
				0,15	0,27	0,42
				0,10	0,19	0,32
					0,14	0,24
					0,10	0,18
						0,13
						0,10

[a] Adapté de Rocchini *et al.*, 1982.

[b] On devrait choisir une série de cinq concentrations (ou plus) dans une même colonne. Les points médians entre les concentrations de la colonne *x* se retrouvent dans la colonne ($2x + 1$). Les valeurs énumérées peuvent représenter des concentrations exprimées en pourcentage de la masse (p. ex., mg/kg) ou en masse par volume (p. ex., mg/L). Au besoin, les valeurs peuvent être multipliées ou divisées par n'importe quelle puissance de 10. On pourrait utiliser la colonne 1 lorsqu'on est très incertain quant au degré de toxicité. On ne devrait pas avoir recours à des concentrations plus espacées (séparées par un facteur supérieur à 0,3).