Écotoxicologie

ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES MILIEUX CÔTIERS PAR LES SPONGIAIRES : ÉTAT DE L'ART

par

Thierry PÉREZ

L'emploi de plusieurs types d'organismes et la création de grille de qualité sont aujourd'hui reconnus comme indispensables pour faire une bonne évaluation de l'état de santé de l'environnement marin. Les spongiaires répondent à l'ensemble des critères de sélection de bons bio-indicateurs. Dans l'optique de participer à la création d'un système d'évaluation de la qualité des eaux littorales, plusieurs exemples démontrent le potentiel des spongiaires, grâce à leur mode de vie, leurs relations avec des micro-organismes symbiotiques et leurs réactions vis-à-vis de plusieurs types d'altérants. Leur simplicité d'organisation constitue aussi un avantage pour la recherche de réponses biologiques aux stress. À côté de la présentation d'études expérimentales déjà réalisées sur les protéines de stress thermique, des applications et de nouvelles recherches de biomarqueurs sont proposées.

Evaluation of coastal areas quality by sponges: state of the art

The term « bio-indicator » may denote those aquatic organisms which accumulate contaminants in their tissues to high concentration. Ideal bioindicators should meet further selection criteria. They should be sedentary, abundant at the sites of interest, easy to identify, and easy to sample. They should be strong accumulators and should not regulate the contaminants. Nowadays, the use of multiple species which represent different trophic levels or feeding guilds has been accepted as necessary for a more accurate evaluation of pollution impacts. In order to obtain a total picture of contaminant bio-availabilities in marine environments, it is necessary to use several bioindicators, including: (1) macroalgae or seagrasses, responding to dissolved sources of contaminant – (2) suspension feeders, taking particles of a peculiar size range and responding to sources in both dissolved and suspended phases - (3) detritivores, feeding on newly deposited superficial sediments. With the aim of taking part in the creation of a system for evaluating the littoral water quality, this paper shows that sponges fulfil all the conditions of good bioindicators. Sponges are one of the major phyla found in the marine hard substrate benthos. Sponges are sessile filter feeders and are able to ingest particles between 0.2 and 50 μm as well as dissolved organic material due to a large amount of symbiotic bacteria. Several examples show all

their potential by presenting their relationships with micro-organisms and different contaminants. For example, sponges are able to accumulate hydrocarbons, PCB, DDT and heavy metals. It has been demonstrated that the process was not a simple saturation kinetics. The simple organisation of sponge tissues constitutes also an advantage for researching biological answers to stresses. For example, the function of Heat Shock Proteins (HSP) in sponges has been determined. As in vertebrate cells, HSP protect sponge cells against environmental stresses. It was found that sponges react to temperature stress by induction of HSP70. Moreover, reactions of sponges according to different contaminants were also tested. Prospective studies showed that cadmium, zinc and PCB's act as inductors of HSP70. The examples presented in this paper show that sponges are good candidates in marine biomonitoring even if this potential is not exploited in official biomonitoring programmes. Currently, a field application, concerning the aquatic environment contamination by heavy metals and detergents, is beginning with analysis of their accumulation in sponges and research for biological responses.

Introduction

Écologiquement parlant, la contamination de l'environnement marin peut causer des changements de distribution d'espèces, d'abondance, d'habitats, de flux énergétiques et de cycles biogéochimiques (MCDOWELL, 1993). Le terme « bio-indicateur » peut s'appliquer aux organismes aquatiques qui accumulent des polluants dans leurs tissus. Leur utilisation pour la surveillance des pollutions aquatiques a son origine dans les études sur l'abondance des radionucléides dans les écosystèmes marins (FOLSOM *et al.*, 1963).

Les bioindicateurs idéaux doivent répondre à plusieurs critères de sélection (RAINBOW & PHILLIPS, 1993). Ce sont généralement des espèces opportunistes, tolérantes face aux variations des paramètres physico-chimiques, doivent être sédentaires et abondants sur les sites d'intérêt. De plus, ces organismes doivent être faciles à récolter et à identifier et doivent accumuler de grandes quantités de contaminants. Enfin, ils doivent répondre aux variations de concentration des polluants dans l'environnement. La capacité de bioconcentration peut être influencée par plusieurs paramètres physico-chimiques. Par exemple, il existe des différences saisonnières dans l'apport de nourriture, le régime alimentaire, le contenu lipidique et le métabolisme de l'organisme.

Les mollusques bivalves ont joué un rôle clé dans le développement des programmes de surveillance de l'environnement marin. Mais aujourd'hui, le « mussel watch », où une seule espèce est utilisée pour la surveillance de l'environnement, a été très largement critiqué. L'emploi de plusieurs espèces, représentant différents niveaux trophiques ou différentes stratégies de nutrition, a progressivement été considéré comme absolument nécessaire pour une bonne évaluation de l'impact des polluants sur l'environnement (SOULE, 1988). Les animaux marins peuvent capter les polluants présents dans l'eau de mer ou leur nourriture, qu'ils soient sous une forme particulaire ou dissoute. Une partie de ces polluants peut donc échapper à certains types d'organismes. Pour obtenir une image globale de l'accumulation des contaminants dans les organismes aquatiques, il faut s'intéresser à un groupe d'indicateurs comprenant au moins :

- une macro-algue ou phanérogame répondant essentiellement aux sources dissoutes de polluants ;

- un animal filtreur utilisant des particules de taille variable, mais aussi des substances dissoutes :
- un détritivore susceptible d'atteindre les sources de polluants qui ont abouti à la surface du sédiment.

C'est dans l'optique d'une participation à la création d'un système d'évaluation de la qualité des eaux littorales que les spongiaires sont aujourd'hui envisagés comme bioindicateurs en zones côtières.

Fondements d'un « Sponge Watch »

Les spongiaires représentent une part importante des peuplements benthiques et ont une vaste distribution géographique et bathymétrique. Ils sont bien représentés dans les eaux douces, ainsi qu'en milieu littoral dans les régions tempérées, subtropicales et tropicales, et peuvent devenir localement majoritaires dans des milieux tels que les plateaux continentaux des régions polaires, les grands fonds et les grottes sous-marines.

Les éponges n'ont ni organes ni vrais tissus. Cependant, ces animaux ont un système aquifère très perfectionné et sont capables de filtrer activement un volume d'eau égal à leur propre volume en 10 à 20 secondes. Ils sont équipés pour absorber des particules allant de 0,2 à 50 µm et utilisent pour se nourrir de la matière en suspension, des algues microscopiques et surtout des bactéries (REISWIG, 1971b). On a pu mesurer une efficacité moyenne de rétention des bactéries de 77 % avec un maximum de 97 % (REISWIG, 1975). Beaucoup d'éponges ont une grande quantité de bactéries symbiotiques dans leurs tissus, parfois même à l'intérieur de cellules spécialisées appelées bactériocytes. Ces bactéries interviennent dans les processus d'absorption de la matière organique dissoute. Grâce à cette symbiose, l'alimentation de certaines éponges doit sûrement présenter un fort pourcentage de substances dissoutes (REISWIG, 1971a).

Les relations des éponges avec le monde microbien

Les filtreurs, et spécifiquement l'épifaune, ont un rôle remarquable dans les processus d'auto-épuration de l'eau de mer vis-à-vis des pollutions telluriques. Parmi les filtreurs, les éponges doivent être le sujet d'une attention particulière à cause de la multiplicité des relations écologiques avec différents micro-organismes. Les bactéries utilisées par les éponges peuvent être symbiotiques, commensales ou étrangères :

- elles représentent la principale source de nourriture des spongiaires ;
- chez certaines éponges, appelées aussi parfois « bactériosponges », les bactéries symbiotiques peuvent représenter jusqu'à 40 % du volume des tissus vivants (DE VOS *et al.*, 1991). Comme cela a été dit précédemment, ces bactéries ont la propriété d'utiliser de la matière organique dissoute. Plusieurs études microscopiques ont montré une digestion intracellulaire des symbiontes apportant ainsi à l'éponge un complément nutritif non négligeable ;
- des *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et autres entérobactéries ont pu être isolées à partir d'éponges vivant dans des eaux qui en contenaient très peu (CLAUS *et al.*, 1967).
 Avec les entérobactéries, des bactériophages sont aussi introduits dans le milieu marin.
 Ces bactériophages, considérés comme des marqueurs d'une pollution urbaine, sont

isolés des sédiments marins mais aussi, et en plus grande quantité, des éponges (GRABOW, 1993). En fait, les éponges peuvent se nourrir de bactéries mais aussi de champignons tels que *Candida albicans* (CLAUS *et al.*, 1967) ou d'algues unicellulaires (IMSIECKE, 1993).

Les relations des éponges avec les micro-polluants

L'analyse de quelques milligrammes de tissus prélevés sur des bio-accumulateurs peut suffire à évaluer les niveaux de contamination d'un écosystème. Dans cette optique, les éponges apparaissent idéales, parce qu'elles sont présentes dans des conditions environnementales très diverses, et qu'elles filtrent de grands volumes d'eau en retenant une large gamme de particules et de matières dissoutes associées à des micropolluants.

Après l'échouage de l'Amoco Cadiz en Bretagne, des dosages d'hydrocarbures ont été effectués sur plusieurs grands groupes d'organismes. Tout comme les bivalves, les éponges et les ascidies ont considérablement concentré des hydrocarbures (FÉRAL et al., 1979). PATEL et al. (1985) ont observé chez des éponges des concentrations de plusieurs métaux et d'halogènes de 5 à 7 fois supérieures à celles d'autres organismes du benthos des régions sub-tropicales. Ces auteurs ont proposé alors un « Sponge watch programme » à une échelle globale pour surveiller la santé des écosystèmes face à une grande variété de polluants potentiellement toxiques (PATEL et al., 1985). Des expériences de culture d'éponges ont offert une bonne perspective d'utilisation des éponges comme bio-accumulateurs. Outre le fait que les éponges commerciales cultivées aient eu des taux de croissance acceptables à proximité du débouché d'un grand émissaire,

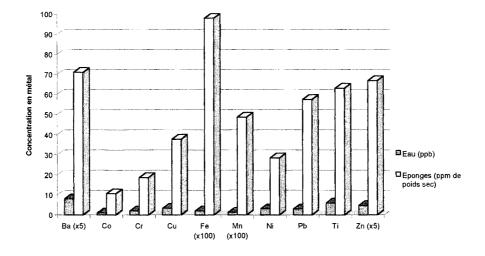


Figure 1

L'éponge d'eau douce, *Ephydatia fluviatilis*, s'est montrée capable de concentrer 1000 à 1 million de fois plus de métaux que les teneurs présentes dans le milieu naturel (RICHELLE-MAURER *et al.*, 1994).

une accumulation de métaux lourds a été démontrée de la même façon que chez les moules (VERDENAL & VACELET, 1990; VERDENAL et al., 1990). Pour la majorité des éléments dosés, les taux d'accumulation sont fonction de la concentration dans le milieu. L'éponge d'eau douce, Ephydatia fluviatilis, s'est aussi montrée capable de concentrer des métaux lourds de 10³ à 10⁶ fois plus que dans le milieu environnant (Fig. 1) (RICHELLE-MAURER et al., 1994). Ces observations ont été confortées par des expériences en aquarium, suggérant que les processus d'absorption ne sont pas seulement le résultat d'une cinétique d'adsorption (Fig. 2) (HANSEN et al., 1995). Les cultures d'éponges ont aussi montré une accu-

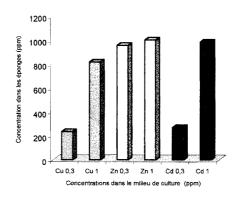


Figure 2

Des expériences en aquarium ont montré que l'éponge marine, *Halichondria panicea*, répndait aux variations de concentration métallique de son

milieu environnant (HANSEN et al., 1995).

mulation de produits organochlorés, que les auteurs suspectent être due à la présence d'une flore bactérienne symbiotique importante. Cette étude (VERDENAL *et al.*, 1990) a montré que *Spongia officinalis* contenait 100 fois plus de PCB et 1000 fois plus de DDT que les moules de la même station. Tout cela suppose l'existence de phénomènes de détoxication chez les éponges et/ou l'utilisation de certains éléments. Par exemple, ces derniers auteurs ont montré que le Vanadium, le Plomb, le Chrome et le Zinc sont accumulés dans le squelette de l'éponge commerciale *S. officinalis*, alors que le Manganèse, le Nickel, le Cadmium et le Mercure sont plus concentrés dans les tissus.

Biomarqueurs de stress

En raison de leur organisation très simple et en l'absence d'une différenciation tissulaire, les réponses d'une éponge à un stress (ou contrainte environnementale) se situent au niveau cellulaire, voire moléculaire. Les cellules eucaryotes réagissent à des stress environnementaux par une série de synthèses de protections moléculaires. Ces tissus globalement homogènes peuvent constituer un avantage pour la recherche de réponses biologiques dans les éponges, qui s'expriment différemment dans les tissus et organes des bio-indicateurs actuellement utilisés (*e.g.* hépato-pancréas des bivalves et foie de poissons). À ce jour, plusieurs équipes, regroupées autour d'un programme européen, travaillent sur des biomarqueurs exprimés par les éponges. Ces recherches s'articulent essentiellement autour des protéines de stress. Ces dernières regroupent les protéines de choc thermique (HSP), les protéines glucose-régulées (GRP), l'ubiquitine, les P-glycoprotéines du système de résistance multixénobiotique (MXR) et les métallothionéines. À ce jour les résultats les plus importants pour une éventuelle application en milieu naturel concernent les HSP.

Plusieurs études, essentiellement sur des vertébrés, ont démontré que les HSP intervenaient dans la protection des cellules contre les stress environnementaux (CRAIG, 1985; BECKER & CRAIG, 1985; LAGADIC et al., 1997). De la même manière, après un stress thermique, l'éponge d'eau douce Ephydatia fluviatilis induit une synthèse de HSP70 (MÜLLER et al., 1995). Ce premier résultat a été depuis confirmé par d'autres expériences sur des éponges marines en utilisant des techniques de mesures variées : utilisation d'anticorps anti-HSP (western blot) et dosage des ARNm (northern blot) (BACHINSKI et al., 1997; KOZIOL et al., 1997; KRASKO et al., 1997). Ces techniques ont aussi été employées pour mesurer les effets d'altérants tels que les PCB (WIENS et al., 1998), le cadmium et le zinc (MÜLLER et al., 1998). Des travaux sur d'autres biomarqueurs sont en cours. La mise en évidence d'un mécanisme de résistance multixénobiotique, similaire à celui des cellules cancéreuses humaines, pourrait expliquer la présence de nombreuses espèces d'éponges dans des environnements pollués (KURELEC 1992, 1997; MÜLLER et al., 1996). Enfin, une nouvelle technique actuellement développée mesure le taux de séparation du double brin d'ADN des éponges en utilisant un marqueur fluorescent spécifique. L'augmentation du taux de séparation des brins d'ADN (Strand Scission Factor) a été corrélée avec un gradient de pollution par le cadmium pour l'éponge Suberites domuncula (MÜLLER et al., 1998).

Conclusion

Généralement, la pollution entraîne une réduction de la diversité spécifique. Les études écologiques ont été délibérément écartées dans cet article, car de nombreuses espèces appartenant à différents groupes d'organismes aquatiques peuvent être considérées comme indicatrices par leur seule présence ou absence. C'est aussi le cas pour les éponges. Dans ce sens, elles ont été étudiées à plusieurs reprises en Méditerranée et en zone tropicale. Les espèces recensées en zone polluée sont généralement des espèces opportunistes, pionnières, capables de bonnes adaptations aux variations de conditions environnementales. Parmi elles, les cliones sont des éponges à stratégie de vie particulière, puisqu'elles perforent les substrats calcaires. Les populations de ces éponges peuvent être largement dominantes dans des conditions eutrophes (HOLMES, 1996 ; MURICY, 1991; CARBALLO, 1996). Ces proliférations se font le plus souvent au détriment d'autres organismes du benthos, et en particulier des coraux en milieu tropical (CUET et al., 1988; ROSE & RISK, 1985). Dans certains cas d'eutrophisation, des modifications de leur morphologie sont observées telles que le passage d'une forme perforante en zone normale à une prolifération de formes encroûtantes voire même massives (Fig. 3).

Il est aujourd'hui entendu qu'une espèce seule ne peut pas donner une bonne image des niveaux de contamination d'un écosystème. Les exemples d'utilisation des éponges présentés dans cet article montrent qu'il s'agit de candidats sérieux dont tout le potentiel n'a pas encore été exploité pour la mise en place de grilles de qualité. Leur grande capacité à absorber différentes tailles de particules et les polluants associés a été

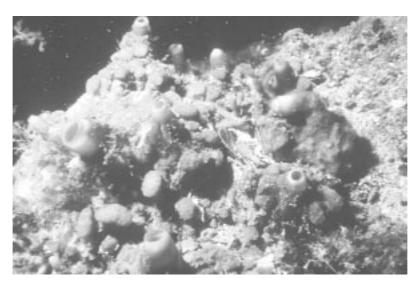


Figure 3

Cliona viridis est une espèce normalement perforante, mais que l'on peut trouver, en zone altérée, sous forme encroûtante ou massive.

plusieurs fois démontrée. De plus la multiplicité des relations qu'elles ont avec des micro-organismes, notamment symbiotiques, leur confère aussi la possibilité d'accumuler des sources dissoutes de polluants. Les différentes stratégies de nutrition des éponges offrent des compléments intéressants voire même indispensables aux indications données par d'autres types d'organismes s'adressant à des particules en suspension plus grosses ou aux dépôts de polluants à la surface des sédiments.

Les différentes études présentées ont utilisé un certain nombre d'espèces, toutes caractéristiques d'une région donnée (Méditerranée, Atlantique, Mer du Nord, régions tropicales...). Actuellement, les recherches continuent pour la création d'un outil d'évaluation de la qualité des zones côtières. Un suivi de la contamination par les métaux lourds et les détergents se met en place par la mesure de l'accumulation de ces polluants et l'expression de protéines de stress chez les spongiaires. Étant donné le potentiel décrit précédemment, il apparaît important d'entamer des recherches sur d'autres biomarqueurs déjà employés avec d'autres organismes aquatiques, comme par exemple l'induction de métalloprotéines ou de cytochromes P450.

Centre d'Océanologie de Marseille - UMR N° 6540 DIMAR Station Marine d'Endoume - rue de la Batterie des Lions - 13007 Marseille E-mail : perez@com.univ-mrs.fr

RÉFÉRENCES

- BACHINSKI, N., KOZIOL, C., BATEL, R., LABURA, Z., SCHRÖDER, H.C. & MÜLLER, W.E.G. (1997).- Immediate early response of the marine sponge *Suberites domuncula* to heat stress: Reduction of trehalose and glutathione concentrations and glutathione S-transferase activity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **210**, 129-141.
- BECKER, J. & CRAIG, E.A. (1994).- Heat-shock proteins as molecular chaperones. *Eur. J. Biochem.*, **219**, 11-23.
- CARBALLO, J.L., NARANJO, S.A. & GARCIA-GOMEZ, J.C. (1996).- Use of marine sponges as stress indicators in marine ecosystems at Algeciras Bay (southern Iberian Peninsula). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **135**, 109-122.
- CLAUS, G., MADRI, P. & KUNEN, S. (1967).- Removal of microbial pollutants from waste effluents by the redbeard sponge. *Nature*, **216**, 712-714.
- CRAIG, E.A. (1985).- The heat shock response. CRC critical review on biochemistry, 18, 239-280.
- CUET, P., NAIM, O., FAURE, G., CONAN, J.-Y. (1988).- Nutrient-rich groundwater impact on benthic communities of La Saline fringing reef (Reunion Island, Indian Ocean): preliminary results. *Proc. 6th Intern. Coral Reef Symp.*, **2**, 207-212.
- DE VOS, L., RÜTZLER, K., BOURY-ESNAULT, N., DONADEY, C. & VACELET, J. (1991).- Atlas de morphologie des Éponges Atlas of sponge morphology. Smithsonian Institution Press, Washington.
- FERAL, J.-P., FUSEY, P., GAILL, F., LOPEZ, E., MARTELLY, E., OUDOT, J. & VAN PRAËT, M. (1979).- Évolution des teneurs en hydrocarbures chez quelques organismes marins du Nord Finistère depuis l'échouage de l'Amocco Cadiz et comparaison des méthodes de dosage en infrarouge et spectrofluorimétrie. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **288**, 713-716.
- FOLSOM, T.R., YOUNG, D.R., JOHNSON, J.N. & PILLAI, K.C. (1963).- Manganese-54 and Zinc-65 in coastal organisms of California. *Nature*, **20**, 327-329.
- GRABOW, W.O.K. (1993).- Comparaison of methods for the recovery and quantitation of coliphage and indigenous bacteriophage from marine waters and sediments. *In*: *Health related water microbiology*, pp. 115-117, Morris RW & Dufour AP (eds), Pergamon Press, Oxford, UK.
- HANSEN, I.V., WEEKS, J.M. & DEPLEDGE, M.H. (1995).- Accumulation of Copper, Zinc, Cadmium and Chromium by the Marine Sponge *Halichondria panicea* Pallas and the Implications for Biomonitoring. *Mar. Pol. Bull.*, **31**, 133-138.
- HOLMES, K.E. (1996).- The effects of eutrophication on clionid sponge communities. *Proc. 8th Int. Coral Reef Symp. Abstracts*, **91.**
- KOZIOL, C., BATEL, .R., ARINC, E., SCHRÖDER, H.C. & MÜLLER, W.E.G. (1997).- Expression of the potential biomarker heat shock protein 70 and its regulator, the metazoan DnaJ homolog, by the temperature stress in the sponge *Geodia cydonium*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **154**, 261-268.
- KRASKO, A., SCHEFFER, U., KOZIOL, C., PANCER, Z., BATEL, R., BADRIA, F.A. & MÜLLER, W.E.G. (1997).- Diagnosis of sublethal stress in the marine sponge *Geodia cydonium*: application of the 70 kDa heat-shock protein and a novel biomarker, the Rab GDP dissociation inhibitor, as probes. *Aquatic Toxicology*, 37, 157-168.
- KURELEC, B. (1992).- The multixenobiotic resistance mechanism in aquatic organisms. *Crc Crit. Rev. Toxicol.*, **22**, 23-43.
- KURELEC, B. (1997).- A new type of hazardous chemical: The Chemosensitizers of Multixenobiotic Resistance. *Environmental Health Perspectives*, **105**, 855-860.
- IMSIECKE, G. (1993).- Ingestion, digestion, and egestion in Spongilla lacustris (Porifera, Spongillidae) after pulse feeding with Chlamydomonas reinhardtii (Volvocales). Zoomorphology, 113, 233-244.

- LAGADIC, L., CAQUET, T., AMIARD, J.-C. & RAMADE, F. (1997).- Biomarqueurs en écotoxicologie - Aspects fondamentaux. Masson, Paris.
- McDOWELL, J.E. (1993).- How Marine Animals Respond to Toxic Chemicals Coastal Ecosystems. *Oceanus*, **36**, 56-61.
- MÜLLER, W.E.G., KOZIOL, C., KURELEC, B., DAPPER, J., BATEL, R. & RINKEVICH, B. (1995).—Combinatory Effects of Temperature Stress and Nonionic Organic Pollutants on Stress Protein (Hsp70) Gene-Expression in the Fresh-Water Sponge *Ephydatia fluviatilis. Environ. Toxicol. Chem.*, **14**, 1203-1208.
- MÜLLER, W.E.G., STEFFEN, R., RINKEVICH, B., MATRANGA, V. & KURELEC, B. (1996).- The multixenobiotic resistance mechanism in the marine sponge (*Suberites domonculata*): its potential applicability for the evaluation of environnemental pollution by toxic compouds. *Mar. Biol.*, **125**, 165-170.
- MÜLLER, W.E.G., BATEL, R., LACORN, M., STEINHART, H., SIMAT, T., LAURENROTH, S., HASSANEIN, H. & SCHRÖDER, H.C. (1998).- Accumulation of cadmium and zinc in the marine sponge *Suberites domoncula* and its potential consequences on single-strand breaks and on expression of heat-shock-protein: a natural field study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **167**, 127-135.
- MURICY, G. (1991).- Structure des peuplements de spongiaires autour de l'égout de Cortiou (Marseille, France). *Vie et Milieu*, **41**, 205-221.
- PATEL, B., BALANI, M.C. & PATEL, S. (1985).- Sponge 'sentinel' of heavy metals. *Sci. Total Environ.*, 41, 143-152.
- RAINBOW, P.S. & PHILLIPS, D.J.H. (1993).- Cosmopolitan Biomonitors of Trace Metals. *Mar. Pollut. Bull.*, **26**, 593-601
- REISWIG, H.M. (1971a).- In situ pumping activities of tropical Demospongiae. Mar. Biol., 9, 38-50.
- REISWIG, H.M.(1971b).- Particle feeding in natural populations of three marine demosponges. *Biol. Bull.*, 141, 568-591
- REISWIG, H.M.(1975).- Bacteria as food for temperate water marine sponges. *Canad. J. Zool.*, **53**, 582-589
- RICHELLE-MAURER, E., DEGOUDENNE, Y., VAN DE VYVER, G. & DEJONGHE, L. (1994).—Some aspects of heavy metal tolerance in freshwater sponges. *In: Sponges in time and space; Biology, Chemistry, Paleontology,* pp. 351-354, van Soest RWM, van Kempen ThMG, Braekman JC (eds). A.A. Balkema, Rotterdam,.
- ROSE, C.S. & RISK, M.J. (1985).- Increase in *Cliona delitrix* infestation of Montastrea cavernosa heads on an organically polluted portion of the Grand Cayman fringing reef. PSZNI: *Mar. Ecol.*, 6, 345-362.
- SOULE, D.F. (1988).- Marine organisms as indicators: Reality or wishful thinking? *In: Marine organisms as indicators*, pp. 1-12, Soule DF & Kleppel GS (eds). Springer Verlag, New York.
- VERDENAL, B. & VACELET, J. (1990).- Sponge culture on vertical ropes in the northwestern Mediterranean Sea. *In*: *New Perspectives in Sponge Biology*, pp. 416-425, Rützler K (ed). Smithsonian Institution Press, Washington.
- VERDENAL, B., DIANA, C., ARNOUX, A. & VACELET, J. (1990).- Pollutant levels in Mediterranean commercial sponges. *In: New Perspectives in Sponge Biology*, pp. 516-524, Rützler K (ed). Smithsonian Institution Press, Washington.
- WIENS, M., KOZIOL, C., HASSANEIN, H.M.A., BATEL, R., SCHRÖDER, H.C. & MÜLLER, W.E.G. (1998).- Induction of gene expression of the chaperones 14-3-3 and HSP70 by PCB 118 (2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl) in the marine sponge *Geodia cydonium*: novel biomarkers for polychlorinated biphenyls. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 165, 247-257.