

Résidus d'organochlorés dans le rouget blanc (*Mullus barbatus*) du Golfe de Tunis

Mohamed BDIRI*, Mohamed HADJ ALI SALEM*
et Habib LATROUS**

تلخيص

تشتمل هذه الدراسة على تحليل وتقييم الكميات المتخلفة في لحم سمك التريلية *Mullus barbatus* المتأتي من خليج تونس، من المبيدات المعروفة بـ DDT مركبات DDD و DDE و PCB والليندان (Lindane) وافضت هذه التحاليل الى النتائج التالية : 0,02 وحدة في المليون (ppm) من DDT و 0,01 وحدة في المليون من DDD و 0,039 وحدة في المليون من DDE و 0,12 وحدة في المليون من CPB و 0,015 وحدة في المليون من الليندان .

كما تحتوي هذه الدراسة على العلاقة الممكنة بين معدل الطول وكميات المبيدات المتواجدة في العينات والعلاقة بين المبيدات نفسها .

RESUME

Les résidus du DDT et des composés du DDT (le p,p'-DDD et le p,p'-DDE), des PCB et du lindane ont été déterminés dans des échantillons composites de filets de rouget (*Mullus barbatus*) du golfe de Tunis. Pour ce fait un pré-traitement simple a été optimisé. Les valeurs moyennes trouvées (poids sec) sont de 0,02 ppm pour le p,p'-DDT, 0,010 ppm pour le p,p'-DDD, 0,039 ppm pour le p,p'-DDE, 0,12 ppm pour les PCB et 0,015 pour le lindane.

Une corrélation significative entre la longueur totale moyenne des spécimens et le taux d'hydrocarbures chlorés a été obtenue. Il en a été de même de la corrélation entre les concentrations en organochlorés.

(*) Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, 2025 Salammbô, Tunisie.

(**) Faculté des sciences, Tunis, Tunisie.

ABSTRACT

Residus of p,p' -DDT and its metabolites p,p' -DDD p,p' -DDE, PCB's and lindane were determined in fillet composite samples of mullet *Mullus barbatus* from gulf of Tunis. A simple pre-treatment procedure was optimised for this aim. Mean values (dry weight) were 0.02 ppm p,p' -DDT, 0.010 ppm p,p' -DDD, 0.039 ppm p,p' -DDE, 0.12 ppm PCB's and 0.015 ppm lindane. Significant correlation were found between size and chlorinated hydrocarbon content. The correlation between organochlorine concentrations were also significant.

INTRODUCTION

Les pollutions chimiques de la mer sont de plus en plus importantes. Les industries en nombre et en importance croissants rejettent dans la mer des eaux résiduaires souvent hautement toxiques du fait de l'usage par l'homme de produits divers tels que les détergents et les pesticides. Eu égard au risque de contamination des produits de la mer par ces substances et à l'importance qu'occupent ces derniers dans l'alimentation, il est nécessaire de surveiller leur qualité et leur éventuel degré de contamination.

Si dans d'autres régions de la Méditerranée, différentes études ont été effectuées à cet effet, en revanche, les poissons des eaux tunisiennes n'ont fait l'objet d'aucun contrôle de ce type et leur degré de contamination n'a jamais été évalué. C'est pour cela que nous avons abordé cet aspect en nous intéressant à une espèce de poisson importante dans les captures de la pêche tunisienne et omniprésente aussi bien dans le temps qu'au niveau de la répartition géographique : le rouget blanc (*Mullus barbatus*) et particulièrement le rouget du golfe de Tunis. Nous avons étudié sa contamination éventuelle par les hydrocarbures chlorés, étant précisé que cette étude s'insère dans le cadre des activités de contrôle et de surveillance de la pollution en Méditerranée, particulièrement celle qui découlerait des métaux lourds et des hydrocarbures chlorés. Ces derniers composés se caractérisent par leur haute stabilité chimique, physique et biologique après utilisation, ce qui leur permet de persister dans l'environnement, particulièrement hydrique, sous forme de résidus capables de s'accumuler et de se recycler dans le milieu marin (Macek et Korn, 1970; Darrow et Harding, 1975; Hamelink et Waybrant, 1976; Harding et coll. 1981). En plus de cet aspect de concentration qui se manifeste particulièrement vis-à-vis des organismes vivants du milieu marin, les hydrocarbures chlorés présentent des toxicités très élevées et il ressort des expériences effectuées dans ce domaine que les doses létales sont très faibles (Nebeker et Puglisi, 1974; Jarvinen et coll., 1977; Ramachandran et coll., 1980).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Collecte et préparation des échantillons

L'étude présente porte sur la recherche du DDT et de ses composés (p,p' -DDT, p,p' -DDD et p,p' -DDE), du lindane et des Biphényles polychlorés (PCB), Aroclor 1254 et Aroclor 1260, étant précisé que ces substances ont été obtenues à l'état pur du Laboratoire International de Radioactivité de l'A.I.E.A à Monaco.

Etant donné les caractéristiques chimiques spéciales de ces composés, nous avons essayé d'en particulariser les procédés d'analyse, par chromatographie en phase gazeuse, des résidus multiples décrits dans la littérature (Sherma, 1979; Bernhard, 1976; Sherma et Beroza, 1980). Le procédé simple que nous avons adopté présente

TABLEAU 1

Données relatives aux rougets Mullus barbatus pêchés dans le golfe de Tunis et soumis au dosage des organochlorés

N° Echan- tillon	CAPTURE			L.T.M. (2)	R (3)	P lip. (4)
	Date	Zone (1)	Nombre de spécimens			
1	22.02.79	III	6	14,7	0,8972	0,979
2	01.01.79	I	6	12,3	0,8509	0,310
3	15.03.79	III	6	13,9	0,8924	0,515
4	26.03.80	I	7	13,0	0,9037	0,344
5	10.04.80	I	14	12,5	0,8093	1,303
6	24.08.80	V	8(F)	17,4	0,9510	0,930
7	25.08.80	VI	12(F)	17,0	0,9453	0,993
8	26.09.80	I	7 (F+M)	16,0	0,8694	0,614
9	25.11.80	I	28	11,80	0,8044	0,776
10	25.11.80	II	21	13,80	0,8964	0,669
11	04.12.80	I	26	13,33	0,9602	0,575
12	12.12.80	IV	32	16,30	0,9440	0,820

(1) Voir fig 1

(2) Longueur totale moyenne (en cm)

(3) Rapport du poids sec (Ps) au poids lyophilisé (Plyo)

(4) Poids des lipides (en g) provenant de 5 g de chair lyophilisée.

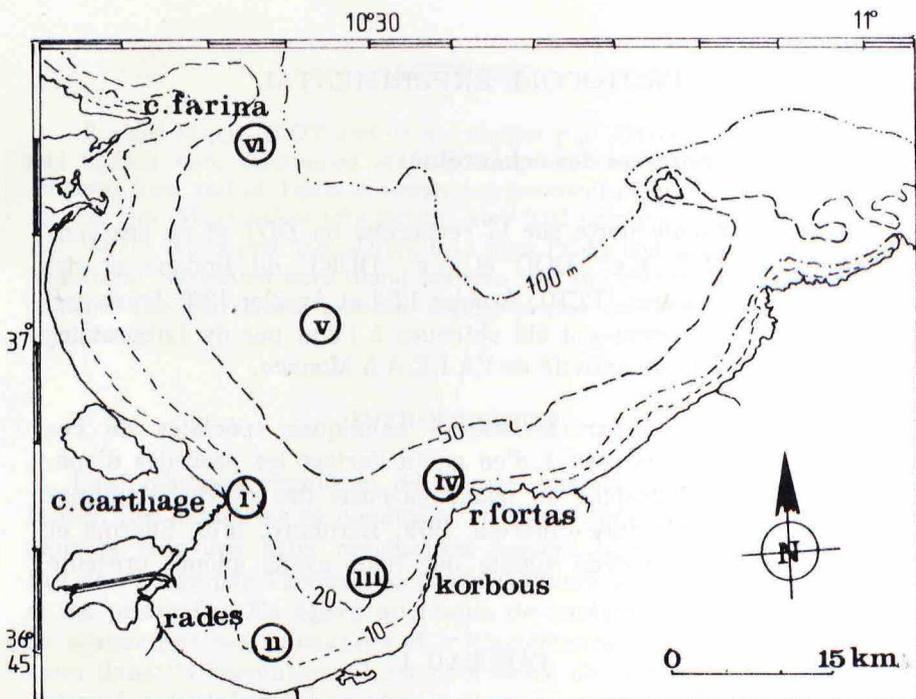


Fig. 1 : Golfe de Tunis : zones d'échantillonnage de *Mullus barbatus* (I, II, III, IV, V et VI).

l'avantage d'utiliser un nombre réduit de réactifs, ce qui diminue les risques de contamination et permet un contrôle plus aisé des résultats.

Les analyses ont été effectuées sur des rougets blancs *Mullus barbatus* pêchés dans le golfe de Tunis aux stations indiquées sur la fig. 1. Les données relatives aux spécimens pêchés et soumis ultérieurement aux opérations de dosage sont consignés dans le tableau 1.

Prétraitement des échantillons

Les échantillons subissent un prétraitement en quatre étapes :

- 1) dissection et lyophilisation;
- 2) extraction des lipides;
- 3) purification;
- 4) séparation préalable des résidus du DDT et des PCB.

Dissection et lyophilisation

Des échantillons composites lyophilisés (lyophilisateur sec-froid type Lyolab A 3001) sont préparés à partir des filets sans peau des spécimens de *M. barbatus* de même sexe et d'à peu près la même taille.

Extraction des lipides

Cinq grammes d'échantillon lyophilisé sont traités pendant deux jours par le n-hexane (pestanal R, Riedel) dans un extracteur Soxhlet, les cartouches d'extraction étant préalablement décontaminées à 150° C pendant deux heures. Cette méthode d'extraction solide-liquide semble être plus avantageuse que l'extraction liquide-liquide (Alzieu 1976). Une fois l'extraction terminée, le ballon de l'extracteur est transféré sur un évaporateur rotatif Buchi. A mi-évaporation, le contenu du ballon est transféré dans un Erlenmeyer taré et l'évaporation est continuée jusqu'à élimination complète du solvant. La quantité de lipides est alors déterminée par pesée.

Purification des extraits

Etant donné la résistance aux acides des composés recherchés l'attaque acide des lipides permet de les séparer (Murphey, 1972). Ainsi les lipides obtenus sont redissous dans 10 ml de n-hexane et attaqués par 2 ml d'acide sulfurique ($d = 1,84$; p. a; Merck) ce qui permet de libérer les organochlorés recherchés. La phase organique est alors purifiée sur florasil (60 — 100 mesh ASTM, pour chromatographie sur colonnes, Merck) séché à 150° C.

Afin d'éprouver l'efficacité de cette méthode de récupération des organochlorés, nous avons procédé à une optimisation de l'élution par une colonne de florasil de 3 cm de longueur et 1 cm de diamètre. Ainsi une solution de 10 ml de n-hexane contenant 0,5 ppm de lindane, de p,p' -DDT et de p,p' -DDE et 5 ppm de PCB (Aroclor 1260) est purifiée sur cette colonne et l'éluat récupéré en fractions de 10 ml. Les chromatogrammes tracés nous ont permis de constater qu'à partir de la septième fraction, le n-hexane ne contient plus d'organochlorés.

Séparation des résidus du DDT et des PCB

La séparation a été réalisée sur colonne de gel de silice 60 (70-230 mesh ASTM — très pur pour chromatographie sur colonnes, Merck). Une première élution par le n-hexane (pestanal R — Riedel) permet de récupérer les PCB et une seconde élution par le benzène (pestanal R — Riedel) nous donne les résidus du DDT.

Une colonne de gel de silice de 18 cm de longueur et 1 cm de diamètre est préparée à partir d'une suspension de gel de silice (séché à 150° C) dans le n-hexane.

Les conditions expérimentales ont été optimisées en pratiquant la séparation sur 4 ml de n-hexane contenant 0,5 ppm de lindane, de p,p' -DDT de p,p' -DDD et de p,p' -DDE et 5 ppm d'Aroclor 1260.

A partir des chromatogrammes des différentes fractions des deux éluats, nous avons pu faire les constatations suivantes :

— pour séparer totalement les PCB des composés du DDT, un volume global de 38 ml de n-hexane doit être utilisé pour la première élution, une importante fraction du lindane étant de ce fait récupérée;

— pour récupérer le reste du lindane et les résidus du DDT, 50 ml de benzène sont à utiliser pour la seconde élution.

Dans la suite de nos expériences, le n-hexane sortant du florasil est concentré jusqu'à 2 ml et introduit dans la colonne de gel de silice. L'élution est alors pratiquée dans les conditions déterminées ci-dessus et l'injection exécutée après concentration jusqu'à 2 ml des solutions obtenues.

Analyse chromatographique

Équipement et conditions opératoires

— Chromatographe à gaz (de marque CARLO Erba, type Frac-tovap 2450) équipé d'un détecteur à capture d'électrons (ECD - HT, avec un contrôleur modèle 250) et d'un enregistreur Speedomax W.

— Mélange argon/méthane (95/5) utilisé comme gaz vecteur et comme gaz auxiliaire.

— Colonne DC 200 à 10% (gaz chromosorb QBW DMCS, 100-120 mesh)

— Températures :

- Injecteur : 250° C

- Four : 210° C

- Détecteur : 250° C

— Pressions :

- Gaz Vecteur : 2 kg/cm²

- Gaz auxiliaire : 0,3 kg/cm²

— Mode : Courant constant

— Atténuation : 128

— Vitesse d'enregistrement : 6 inches (environ 152 mm/heure)

— Volume injecté : 5 microlitres

Analyse quantitative

Pour le dosage quantitatif, de nombreuses méthodes sont utilisées telles que hauteur du pic, surface du pic (produit de la hauteur par la largeur à mi-hauteur ou produit de la hauteur par le temps

de rétention), triangulation du pic, etc. Elles dénotent toutes de la complexité du problème (Sherma, 1979; Sherma et Beroza, 1980).

Dans le présent travail, nous avons retenu, la méthode utilisant la hauteur du pic, méthode qui minimise les erreurs de mesure dues à l'opérateur mais qui exige une constance parfaite des paramètres opératoires à cause de la haute sensibilité de la hauteur aux changements de ces derniers.

Le lindane, le p,p' -DDT, le p,p' -DDD et le p,p' -DDE donnent des pics uniques et individualisés (fig. 2) et ne posent pas de problème d'identification.

Les figures 3, 4 et 5 montrent les chromatogrammes de trois solutions étalons contenant respectivement 0,5 ppm d'Aroclor 1260, 1 ppm d'Aroclor 1260 et 1 ppm d'Aroclor 1254.

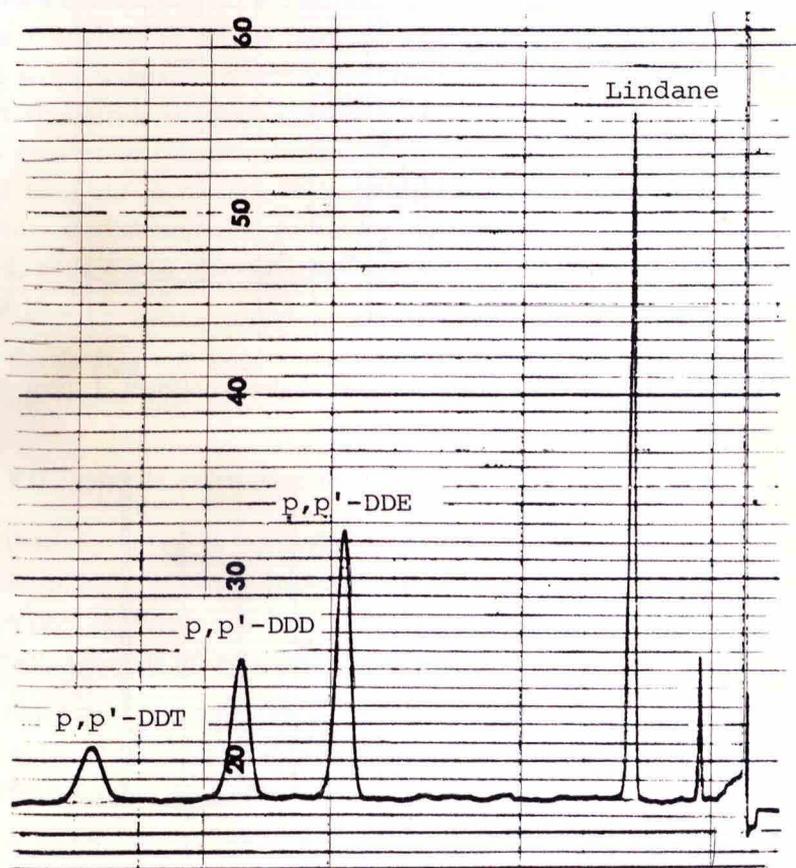


Fig. 2 : Chromatogramme d'une solution étalon contenant 0,05 ppm d'organochlorés (p,p' - DDT; p,p' - DDD; p,p' - DDE et lindane).



Fig. 3 : Chromatogramme d'une solution étalon contenant 0,5 ppm d'A-roclor 1260.

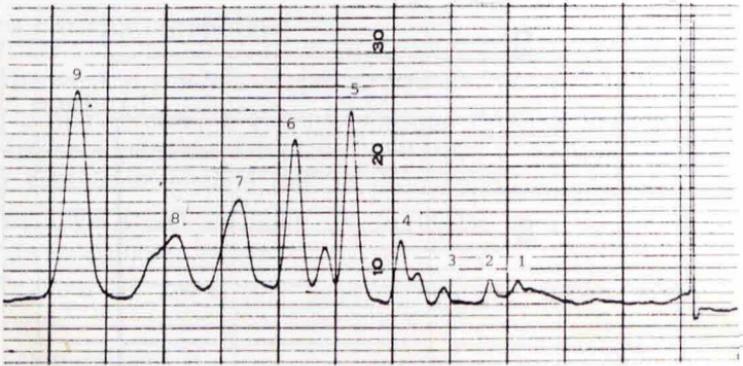


Fig. 4 : Chromatogramme d'une solution étalon contenant 1 ppm d'A-roclor 1260.

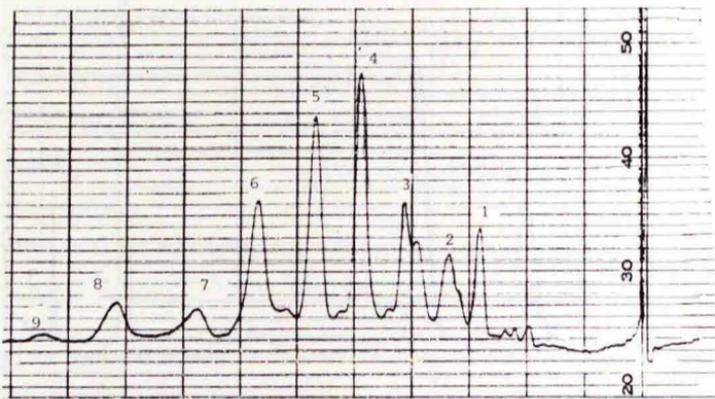


Fig. 5 : Chromatogramme d'une solution étalon contenant 1 ppm d'A-roclor 1254.

Les figures 6 a et 6 b présentent les chromatogrammes correspondant à l'échantillon n° 8. Ces chromatogrammes, ainsi que ceux relatifs à l'échantillon n° 11 (fig. 7 a et 7 b), montrent la répartition, déjà observée, du lindane entre le n-hexane et le benzène. De ce fait, nous avons mesuré la hauteur du pic provenant du lindane sur chacun des deux chromatogrammes et c'est la somme de ces hauteurs que nous avons considérée pour le calcul de la concentration.

Tous les échantillons renfermant des PCB donnent des chromatogrammes analogues à celui de l'Aroclor 1260. Cependant les PCB présents dans les échantillons ne correspondent à la composition du standard que qualitativement. En effet, la comparaison entre un chromatogramme d'un échantillon et celui d'une solution étalon contenant environ le même taux de PCB (Aroclor 1260) nous montre que si les temps de rétention et l'allure générale des différents pics sont similaires, en revanche les hauteurs relatives des pics ne sont pas constantes, ce qui risque d'entacher d'erreur le dosage quantitatif basé sur la mesure de la hauteur des pics. Afin de réduire ces erreurs et d'obtenir une concentration globale en équivalent du standard, nous avons pris en considération la moyenne des hauteurs des neuf pics.

Sur la figure 8, nous avons présenté les courbes d'étalonnage des organochlorés analysés.

Efficacité du prétraitement

Pour éprouver la méthode du prétraitement utilisé, nous avons admis qu'aussi bien les organochlorés contenus dans les échantillons lyophilisés que ceux qui leur sont ajoutés se comportent de la même manière vis-à-vis du processus de prétraitement.

Ainsi des concentrations connues d'organochlorés sont ajoutées aux échantillons lyophilisés qui sont par la suite traités et analysés; les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau 2.

A la lumière de ces résultats, il apparaît que les concentrations mesurées ne représentent que 75% des concentrations réelles et doivent être majorées en conséquence.

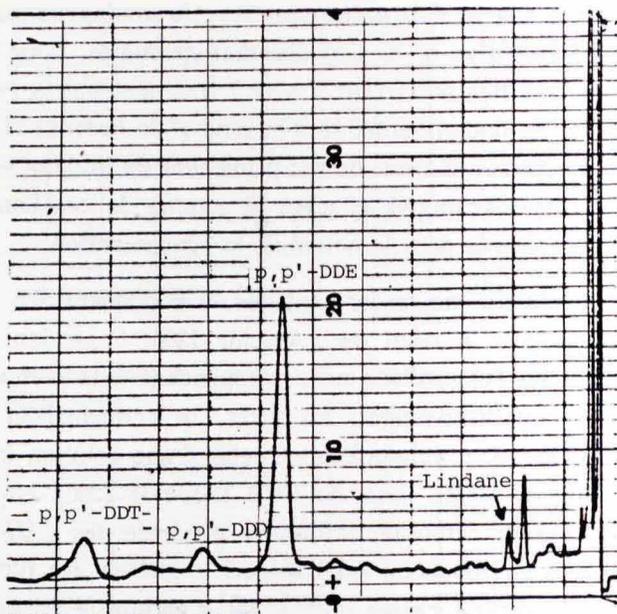


Fig. 6a : Chromatogramme de l'échantillon n° 8 (fraction benzénique)

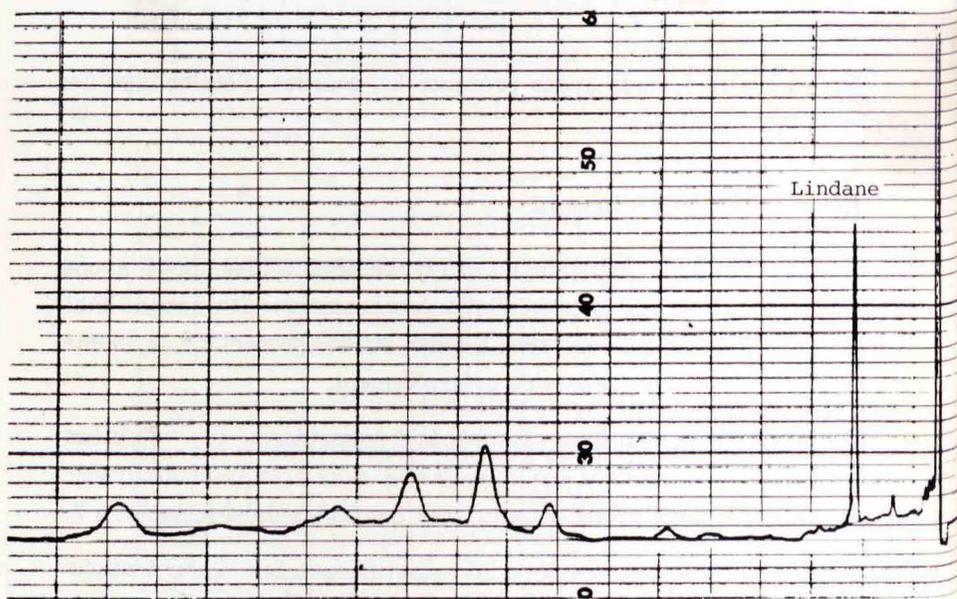


Fig. 6b : Chromatogramme de l'échantillon n° 8 (fraction n - hexane)

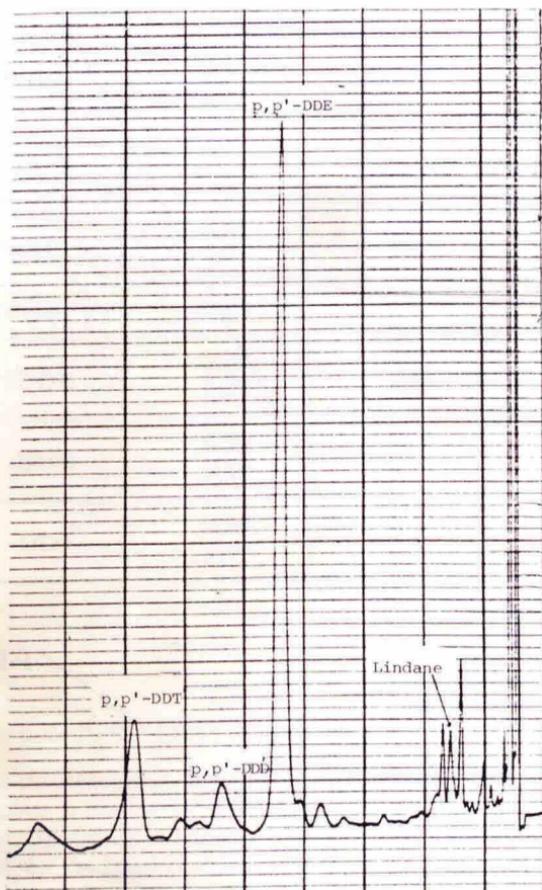


Fig. 7a : Chromatogramme de l'échantillon n° 11 (fraction benzénique)

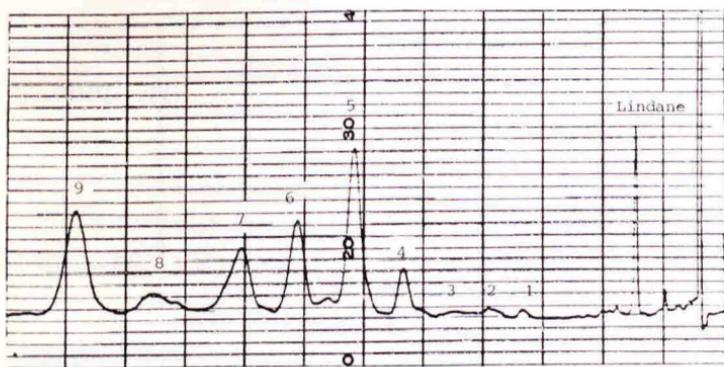


Fig. 7b : Chromatogramme de l'échantillon n° 11 (fraction n - hexane).

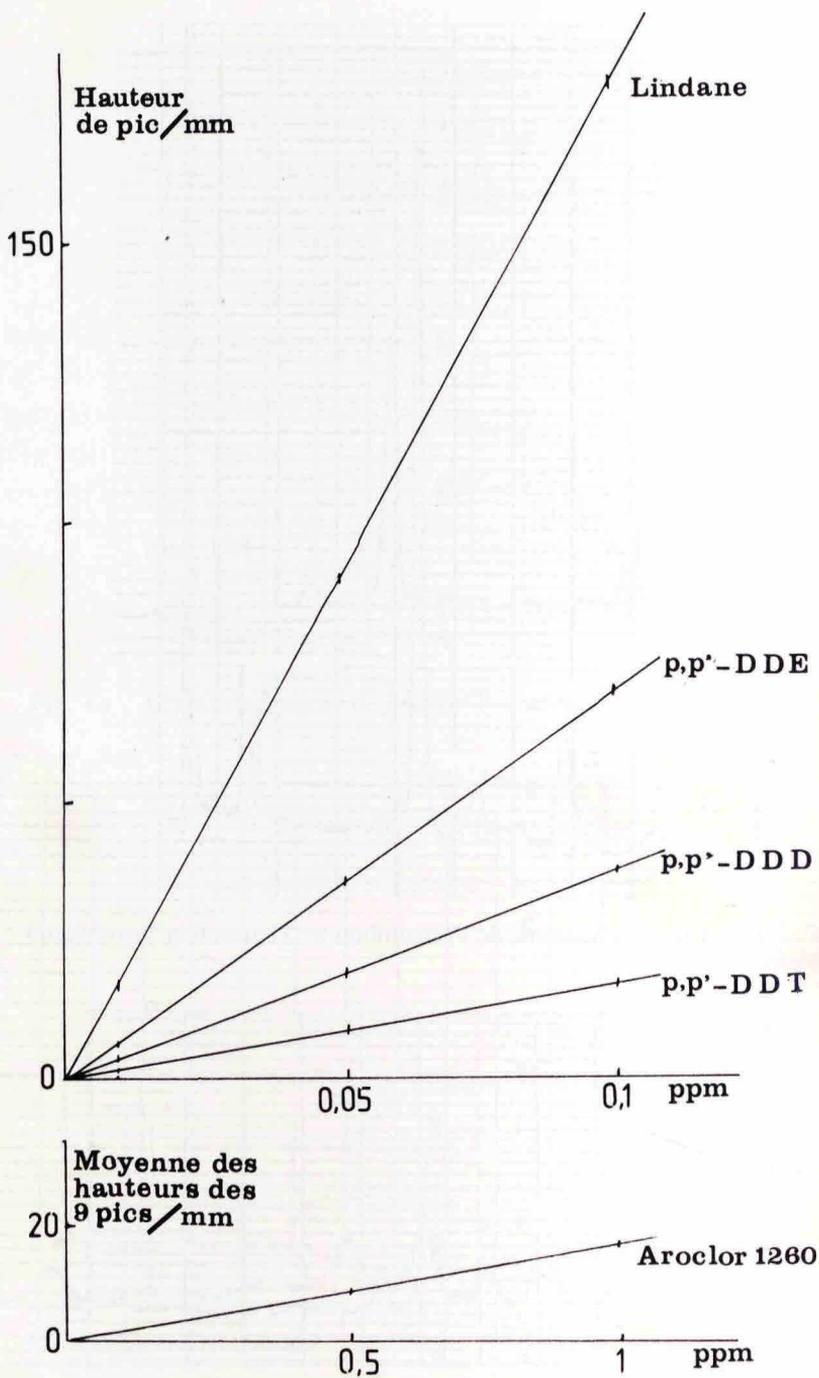


Fig. 8 : Courbes d'étalonnage pour l'analyse des organochlorés.

TABLEAU 2

Efficacité du prétraitement

Composé	ppm ajoutés	ppm retrouvés	% de recouvrement
Aroclor	2,00	1,57	79
	4,00	3,00	75
Lindane	0,20	0,14	70
p,p' -DDE	0,20	0,15	75
	0,40	0,27	68
p,p' -DDD	0,20	0,15	75
	0,40	0,28	70
p,p' -DDT	0,20	0,17	85
	0,40	0,32	80

moyenne : 75
écart type : 5
Erreur % : 6

Limite de détection et reproductibilité

La limite de détection des différents organochlorés recherchés a été évaluée pour 5 ml de solution injectés. Elle représente la concentration minimale de la solution injectée qui donne lieu à des pics distincts du bruit de fond (tableau 3).

TABLEAU 3

Limites de détection LD (solution injectée)

Composé	L.D. (ppm)
Aroclor 1260	0,1
Lindane	0,002
p,p' -DDE	0,005
p,p' -DDD	0,01
p,p' -DDT	0,02

La reproductibilité a été étudiée par des injections répétées effectuées parmi les échantillons analysés. Les valeurs moyennes observées sont consignées dans le tableau 4.

TABLEAU 4

*Reproductibilité en fonction de la concentration
en organochlorés*

Concentration en unité L. D.	1	2	5
Reproductibilités en %	50	10	5

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le tableau 5, nous avons réuni les résultats obtenus à partir des analyses effectuées sur le tissu lyophilisé des poissons.

TABLEAU 5

*Concentration (en ppm) d'organochlorés dans la chair
lyophilisée de Mullus barbatus du golfe de Tunis*

N° Echantillon	PCB's	Lindane	p,p' -DDE	p,p' -DDD	p,p' -DDT
1	0,150	0,015	0,048	0,019	0,023
2	0,080	0,004	0,013	<0,005	<0,010
3	0,120	0,013	0,004	0,015	0,016
4	0,090	0,005	0,015	<0,005	<0,010
5	<0,050	0,001	0,003	<0,005	<0,010
6	0,090	0,013	0,037	0,007	0,016
7	0,130	0,017	0,054	0,011	0,036
8	0,120	0,016	0,033	0,011	0,021
9	0,120	0,020	0,040	0,011	0,021
10	0,050	0,016	0,023	<0,005	<0,010
11	0,080	0,019	0,023	0,005	0,010
12	0,069	0,012	0,029	0,009	0,012
moyenne	0,120	0,015	0,039	0,010	0,020
Ecart type	0,070	0,005	0,033	0,068	0,030

Dans le tableau 6, nous avons rassemblé les concentrations en organochlorés par rapport aux poids secs calculés à partir de la formule : $C_s = \frac{C_l}{R}$ avec C_s = concentration dans le tissu sec (en ppm); C_l = concentration dans le tissu lyophilisé (en ppm); R = rapport du poids sec au poids lyophilisé.

TABLEAU 6

Concentration (en ppm) d'organochlorés dans le tissu sec du rouget
Mullus barbatus du golfe de Tunis

N° Echantillon	PCB's	Lindane	p,p' -DDE	p,p' -DDD	p,p' -DDT
1	0,170	0,017	0,053	0,021	0,030
2	0,090	0,005	0,015	<0,006	<0,010
3	0,130	0,015	0,004	0,017	0,020
4	0,100	0,006	0,017	<0,006	<0,010
5	<0,060	0,001	0,004	<0,006	<0,010
6	0,100	0,014	0,039	0,007	0,020
7	0,140	0,018	0,057	0,012	0,040
8	0,135	0,021	0,043	0,013	0,025
9	0,130	0,022	0,045	0,012	0,020
10	0,060	0,020	0,029	<0,006	<0,010
11	0,090	0,021	0,026	0,006	0,010
12	0,070	0,013	0,027	0,010	0,010
moyenne	0,120	0,015	0,039	0,010	0,020
écart type	0,070	0,005	0,033	0,008	0,030

Les moyennes des concentrations trouvées dans le tissu sec sont de 0,120; 0,015; 0,039; 0,010 et 0,020 ppm respectivement pour les PCB, le lindane, le p,p' -DDE, le p,p' -DDD et p,p' -DDT. Les écarts types sont dans le même ordre de 0,070, 0,005, 0,033, 0,008 et 0,030 ppm.

Les écarts types étant élevés comparativement aux concentrations, nous avons procédé à une corrélation entre les concentrations d'organochlorés et la longueur totale moyenne des spécimens, ce qui nous a permis de calculer les coefficients de corrélation suivants :

- PCB : 0,5132
- Lindane : 0,5078
- p,p' -DDE : 0,5036
- p,p' -DDD : 0,5105
- p,p' -DDT : 0,4984

Ces coefficients de corrélation sont assez significatifs pour nous montrer que plus le spécimen de *M. barbatus* est grand, plus le taux d'organochlorés contenus dans sa chair est élevé, ce qui peut être dû au phénomène d'accumulation des organochlorés dans l'organisme marin, phénomène qui a été déjà observé dans d'autres cas tels que les poissons capturés au nord-ouest de l'océan Atlantique et dans le golfe du Mexique (Stout-Virgina, 1980).

Par ailleurs, les coefficients de corrélation entre les concentrations en organochlorés dans le tissu sec (tableau 7) montrent, qu'excepté le lindane, les quatre autres organochlorés sont étroitement liés les uns aux autres.

TABLEAU 7
Coefficients de corrélation entre les concentrations
en organochlorés du tissu sec de *M. barbatus*

	PCB	Lindane	p,p' -DDE	p,p' -DDD	p,p' -DDT
PCB	1	0,4272	0,8646	0,7776	0,8929
Lindane	0,4272	1	0,4573	0,4845	0,4028
p,p' -DDE	0,8646	0,4573	1	0,7470	0,9546
p,p' -DDD	0,7776	0,4845	0,7470	1	0,8148
p,p' -DDT	0,8929	0,4028	0,9546	0,8148	1

En outre, de la comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans d'autres zones telles que le nord-ouest de l'océan Atlantique et le golfe du Mexique (Stout-Virgina, 1980) ou les côtes européennes de la Méditerranée (FAO, 1978), il ressort que les concentrations d'organochlorés mesurés dans les rougets du golfe de Tunis sont relativement négligeables.

En effet, les concentrations moyennes en organochlorés publiées par l'UNEP (UNEP, 1980) pour la même espèce de poisson, *M. barbatus*, des différentes zones de la Méditerranée sont trois à quatre fois plus élevées que les moyennes que nous avons enregistrées pour cette espèce dans le cas du golfe de Tunis. Toutefois nos résultats gagneraient à être confirmés par d'autres mesures sur d'autres espèces de poissons ainsi que sur des échantillons du *Mullus barbatus* de taille, d'âge et de lieu et date de capture différents.

BIBLIOGRAPHIE

- ALZIEU C. (1976). — Etude critique des techniques d'analyse utilisées dans la mesure des polluants en milieu marin. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 40 (1) : 5-138.
- BERNHARD M. (1976). — Manual of methods in aquatic environment research. Part. 3. Sampling and analyses of biological material. *F.A.O. Fish. Tech. Pap.*, 158 : 1-124.
- DARROW D.C. and HARDING G.C.H. (1975). — Accumulation and apparent absence of DDT metabolism by marine copepod, *Calanus sp.* in culture. *J. Fish. Res. Bd Canada*, 32 : 1845-1849.

- F.A.O. (1978). — Résumés des rapports sur l'état d'avancement des études de base et la surveillance continue du DDT et des DPC et d'autres hydrocarbures chlorés dans les organismes marins. *Circ. Cons. gén. Pêches Méd.*, 7 : 31-38.
- HAMELINK J.L. and WAYBRANT R.C. (1976). — DDE and lindane in a large-scale model lentic ecosystem. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 105 (1) : 124-134.
- HARDING G.C., VASS W.P. and DRINKWATER K. F. (1981). — Importance of feeding, direct uptake from sea water, and transfer from generation to generation in the accumulation of an organochlorine (p,p' -DDT) by the the marine planktonic copepod *Calanus finmarchicus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38 : 101-119.
- JARVINEN A. W., HOFFMAN M.J. and THORSLAND (1977). — Long-term toxic effects of DDT food and water exposure of fathead minnows *Pimephales promelas*. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 34 : 2089-2103.
- MACEK K.J. and KORN S. (1970). — Significance of food chain in DDT accumulation by fish. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 27 : 1496-1498.
- MURPHEY P.G. (1972). — Sulfuric acid for the clean-up of animals tissue for analysis of acid stable chlorinated hydrocarbons residues. *J.A.O.C.*, 55 (6) : 1360-1362.
- NEBEKER A.V. and PUGLISI F.A. (1974). — Effet of polychlorinated biphenyls (PCB's) on survival and reproduction of *Daphnia*, *Gammarus*, and *Tanytarsus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 103 (4) : 722-728.
- RAMACHANDRAN S., RAJENDRAN N. and VENUGOPALAN N. K. (1980). — Effet of pesticides DDT, Dimenthoate and Sevin on the growth of marin diatom *Coscinodiscus concinnus* in culture. *Mahasagar. Bull. Natn. Inst. Oceanogr.*, 13 (3) : 235-238.
- SHERMA J. (1979). — Manual of analytical quality control for pesticides and related compounds in human and environmental samples. *E.P.A. 600/1-79-008*.
- SHERMA J. and BEROZA M. (1980). Analysis of pesticide residues in human and environmental samples. A compilation of methods selected for use in pesticide monitoring programs. *E.P.A. 600/8-80-038*.
- STOUT-VIRGINA F. (1980). Organochlorine residues in fishes from the north-west Atlantic Ocean and gulf of Mexico. *Fish. Bull.* 78 (1) : 51-58.
- U.N.E.P. (1980). — Co-ordinated Mediterranean pollution monitoring and research programme (MED POL), Part. 1 : Summary scientific report; February 1975-June 1980. *UNEP/WG. 46/3 Part. 1* : 44-73.