

Biodégradation anaérobie des structures squelettiques en milieu marin : I - Approche morphologique.

Alain Simon* et Mathieu Poulicek

Laboratoire de Morphologie, Systématique et Écologie animales,
Université de Liège, 22, quai Van Beneden, B-4020 Liège, Belgique.

Résumé : Les phénomènes de biodégradation limitent l'accumulation de matériaux organiques dans les sédiments et permettent le recyclage des éléments biogènes. La plupart des travaux consacrés jusqu'ici à la biodégradation en milieu marin concerne l'interface eau-sédiment. Pourtant, nombre d'auteurs considèrent que les processus de biodégradation se déroulent plus lentement en anaérobiose, sans pour autant apporter de preuves expérimentales à cette affirmation. Cet aspect de la biodégradation est abordé dans ce travail. Nous avons placé des échantillons de structures squelettiques calcifiées (prismes de *Pinna nobilis*, nacre de *Nautilus pompilius* et plaques du test de *Sphaerechinus granularis*) dans des récipients en plastique de 2 litres, remplis à ras bord de sédiments puis bouchés hermétiquement.

L'examen de ces échantillons au microscope électronique à balayage a montré une rapide colonisation des échantillons par des bactéries, fungi et diatomées. Certains décomposeurs sont à même de creuser les carbonates alors que d'autres dégradent la matière organique depuis la surface de l'échantillon en suivant les travées gagnant les cristallites. De plus, nous avons remarqué la présence de figures de dissolution, causées par la baisse de pH et la chute du potentiel d'oxydo-réduction.

Abstract : Anaerobic biodegradation of skeletal structures in marine sediments.

1. Morphological approach.

Weathering processes in marine environment are important since they limit organic matter accumulation in sediments and depletion of biogenic elements. Marine biodegradation studies usually concern aerobic sedimentary layers. Despite the fact that anaerobic biodegradation is rarely taken into account, many authors consider biological weathering processes in anoxic sediment to occur slower than in oxic zones.

Our experimental approach of degradation processes in anaerobic conditions was undertaken in the Calvi Bay (Corsica). Three types of calcified skeletons were considered : isolated prismatic layer of *Pinna nobilis* shell, nacreous layer of *Nautilus pompilius* shell and stereom of *Sphaerechinus granularis* skeletal plates. The experimental material was set down in closed jars filled with organoclastic sand and retrieved periodically (after 1, 3, 6 or 9 months of experiment). Scanning electron microscope observations were performed on the experimental samples. These substrates were rapidly invaded by decomposers, mainly bacteria, diatoms and fungi. Some of them were able to bore carbonate substrates (endoliths), the others decompose the organic matrix from the surface of the calcified structure, making their way along the organic sheaths around cristallites.

Microscopic observations also revealed many traces of carbonate dissolution (etched and pitted surfaces) due to pH drop in experimental conditions and decrease of the oxidation-reduction potential. Chemical approach of anoxic biodegradation will be treated in a further paper.

INTRODUCTION

Les phénomènes de biodégradation jouent un rôle capital dans les écosystèmes. Sans recyclage efficace et rapide des matériaux constitutifs de la matière vivante, il s'ensuivrait une accumulation de déchets et un appauvrissement du stock d'éléments biogènes directe-

* Boursier de l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSI).

ment accessibles. En milieu marin, la biodégradation des formations squelettiques calcifiées, due aux fungi, cyanophycées, chlorophycées, rhodophycées, diatomées et à la méiofaune a été étudiée depuis plusieurs années, mais essentiellement à l'interface eau-sédiment (Hargrave 1972, May & Perkins 1979, Poulicek *et al.* 1981, Poulicek 1982, Poulicek & Jeuniaux 1982, Poulicek 1983, Poulicek & Jaspar-Versali 1984, Poulicek *et al.* 1988). Par contre, les processus intervenant dans la zone d'anaérobiose semblent avoir suscité moins d'intérêt, du moins sous l'angle expérimental. Or les sédiments anoxiques se retrouvent sous les zones les plus productives des océans (Henrichs & Reeburgh 1987) et représentent la totalité des strates sédimentaires, à l'exception des quelques premiers centimètres superficiels, proches de l'interface eau-sédiment. Beaucoup d'auteurs (Raup & Stanley 1978, Glenn & Arthur 1985, Stein *et al.* 1986) estiment que les organismes vivant dans les sédiments anoxiques sont peu actifs du point de vue de la biodégradation. Ceci devrait donc provoquer la préservation et donc une accumulation de matériaux organiques dans les sédiments anaérobiques. Telle est la conception la plus répandue de la biodégradation dans le milieu anoxique, que nous avons soumis à l'expérimentation *in situ*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons soumis trois types de structures squelettiques calcifiées, que l'on rencontre abondamment dans les sédiments organoclastiques, à l'action des décomposeurs anaérobies.

- Prismes de la coquille de *Pinna nobilis* (Mollusque bivalve), calcitiques, contenant 1,4 à 1,7 % de matière organique chitinoprotéique (Poulicek *et al.* 1988).

- Nacre de la coquille de *Nautilus pompilius* (Mollusque céphalopode), aragonitique, contenant 3,2 à 3,8 % de matière organique chitinoprotéique (Poulicek *et al.* 1988).

- Plaques du test de *Sphaerechinus granularis* (Echinoderme échinoïde), constitués de calcite magnésienne (10 à 12 % de $MgCO_3$) et de 1,6 à 2,8 % de matière organique glycoprotéique non chitineuse (Poulicek *et al.* 1988).

Rappelons que la solubilité de la calcite magnésienne est plus élevée que celle de l'aragonite, elle même plus soluble que la calcite (Chave *et al.* 1962).

Ces structures ont été isolées des autres strates minérales ou organiques (péριοstracum, épithélium) accolées. Elles ont ensuite été fragmentées puis incorporées dans des sacs en voile de nylon de 50 μm , 180 μm ou 400 μm de vide de maille, placés dans des récipients en plastique de 2 litres, fermés hermétiquement après avoir été remplis à ras bord de sédiment provenant des sites expérimentaux.

Nous avons travaillé d'une part sur une tache de sable organoclastique intermatte situé à 37 mètres de fond dans l'herbier de posidonies de la baie de Calvi (Corse) et d'autre part au niveau du sable coquillier (constitué à 100 % de coquilles de mollusques bivalves) des filtres bactériens de l'Aquarium public de l'Université de Liège.

La mesure de la concentration en oxygène dissous (oxymètre type électrode de Clark portative WTW Oxi-digi 88) a permis de vérifier la rapide mise en place des conditions

anoxiques dans les récipients clos : après deux jours celle-ci est inférieure à 6,00 % de saturation.

A l'ouverture des récipients, après 1, 3, 6 ou 9 mois d'expérience, les échantillons exhumés sont soit fixés à la glutaraldéhyde (à 4 % dans l'eau de mer filtrée) rincés dans l'eau de mer filtrée puis post-fixés au tétr oxyde d'osmium (à 1 % dans un tampon cacodylate de sodium 0,2 M) (traitement α), soit traités par NaClO (à 1,5 %) puis H₂O₂ (100 volumes) afin d'éliminer la matière organique des structures squelettiques (traitement β).

Les deux lots d'échantillons sont métallisés par "sputtering" de 20 nm d'or-palladium (appareillage Balzers SCD 30, sous une intensité de 30 mA pendant 120 secondes) puis observés au M.E.B. Jeol JSM 840 sous une tension de 20 KV. Les documents sont enregistrés sur pellicule Ilford FP4 6x7 cm.

L'approche chimique de cette expérience fera l'objet d'un second volet de cet article.

RÉSULTATS

Les traces laissées par les organismes endolithes (observation d'échantillons fixés selon le traitement β) sont très différentes en fonction du type de structure observée :

- dans les prismes de *Pinna nobilis*, les perforations sont nombreuses et diversifiées.

1) Type A : diamètre de 2 à 2,2 μ m, galeries ramifiées, comportant beaucoup de changements de direction (\pm 40 mesures effectuées) (Voir Fig. 7).

2) Type B : diamètre de 1,4 à 1,6 μ m, galeries non ramifiées, très parallèles à la direction des prismes (\pm 30 mesures effectuées) (Voir Fig. 8).

3) Type C : diamètre de 3 à 3,5 μ m galeries comportant beaucoup de changements de direction. Ce type d'endolithe est moins fréquemment rencontré que les deux précédents (voir Fig. 9).

4) Type D : diamètre voisin de 10 μ m, aucune ramification de galerie n'a été observée. Ce type d'endolithe n'a été rencontré que sur un seul échantillon (Voir Fig. 10).

- Dans la nacre de *Nautilus pompilius*, les perforations sont plus rares, mais peuvent atteindre de grandes tailles (Fig. 17 et 18).

- Sur les plaques du test de *Sphaerechinus granularis*, les perforations n'ont pas vraiment la forme de galeries, mais plutôt de puits de 1 à 2 μ m de diamètre disposés en chapelets (Fig. 13).

Du point de vue des altérations chimiques, la dissolution provoque l'arrondissement des arêtes des prismes et la disparition des trabécules du stéréome des plaques du test (Fig. 11, 12, 14, 15 et 16).

Les organismes décomposeurs observés *in situ* (observations d'échantillons fixés selon le traitement α) sont des bactéries, fungi et diatomées (Fig. 5, 6 et 19 à 24).

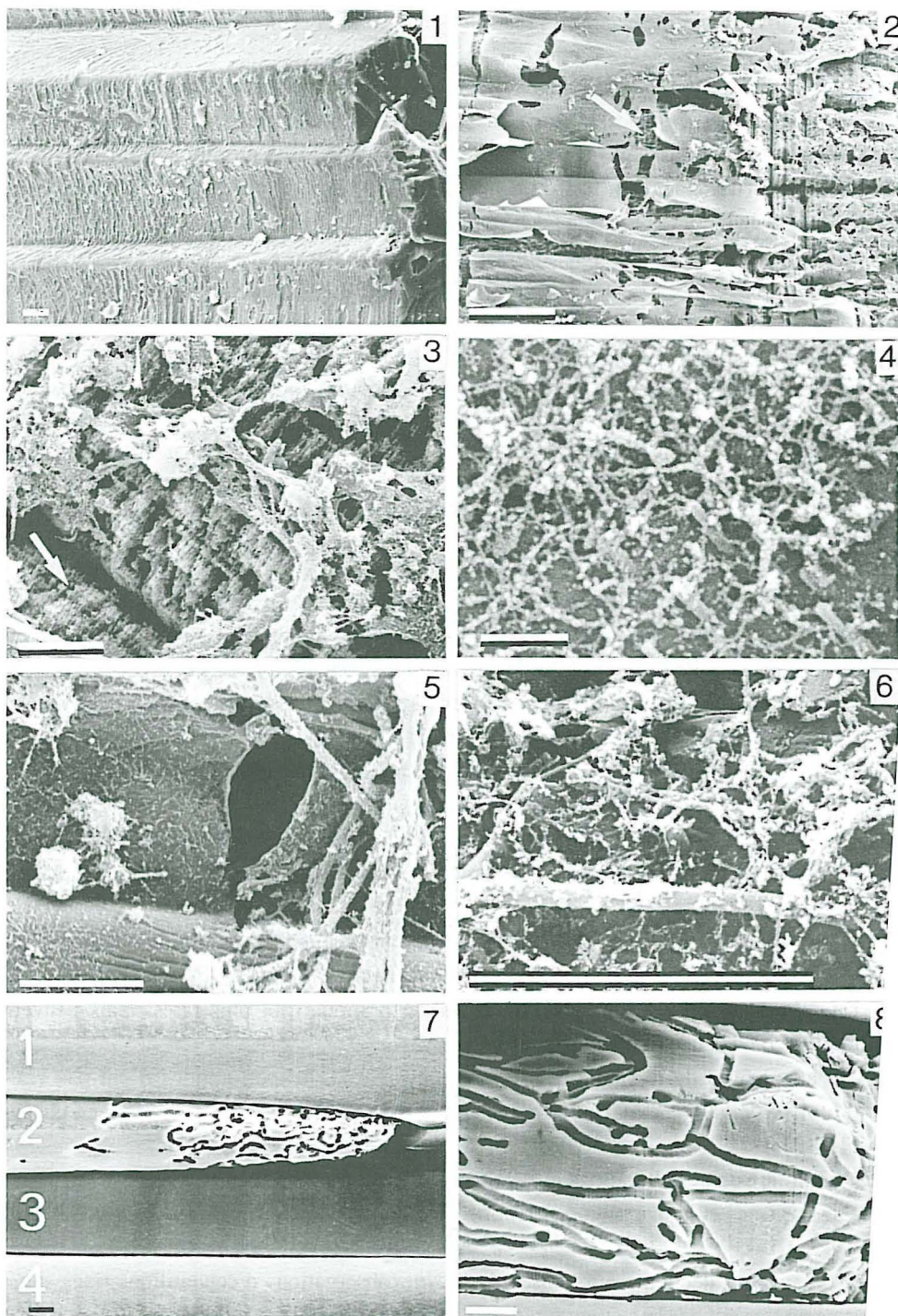


PLANCHE I

DISCUSSION

Tous les organismes anaérobies ne sont pas nécessairement présents dans le volume de sédiment introduit dans les récipients. Malgré ce fait, on observe différents types de décomposeurs anaérobies : fungi, bactéries et diatomées (Fig. 5, 6 et 19 à 24), capables ou non de creuser des galeries dans les formations squelettiques étudiées. Les données concernant ces microorganismes sont rares. Dans la zone anoxique des sédiments, des auteurs ont montré que certains fungi (Thraustochytriaceae et Chytridiaceae) sont plus abondants et actifs qu'à l'interface eau-sédiment (Clokier 1970, Bremer 1976, Johnson 1976). De même, certaines cyanophycées et diatomées semblent capables d'adopter un mode de nutrition hétérotrophe en anoxie (May & Perkins 1979). A l'appui de ces données, nous avons observé des diatomées vivantes (les deux parties du test étaient encore accolées) après 6 mois d'anaérobiose (Fig. 22).

Les galeries observées, dont le diamètre varie de 1 à 10 μm peuvent vraisemblablement être attribuées aux bactéries et fungi (présence d'éléments reproducteurs du type sporange, Fig. 21) et éventuellement aux cyanophycées pour les plus larges d'entre elles. N'ayant pas fait de cultures et ne pouvant nous appuyer sur aucune étude à propos des endolithes anaérobies, nous ne sommes pas en mesure d'identifier plus précisément les organismes observés dans ce travail préliminaire. Une telle approche est actuellement en cours.

Les traces de dégradation et les organismes rencontrés sont analogues pour tous les échantillons d'un même type de microstructure (prismes, nacre ou plaques du test) mais diffèrent en fonction de la nature du squelette. Il faut sans doute corréler les différents modes de dégradation avec la disposition spatiale de la matière organique au sein des microstruc-

PLANCHE I

Echelle 10 μm , sauf fig. 2 (échelle 100 μm) et fig. 4 (échelle 1 μm)

Fig. 1 : Structure prismatique de *Pinna nobilis*. Matériel témoin (non immergé), traitement α .

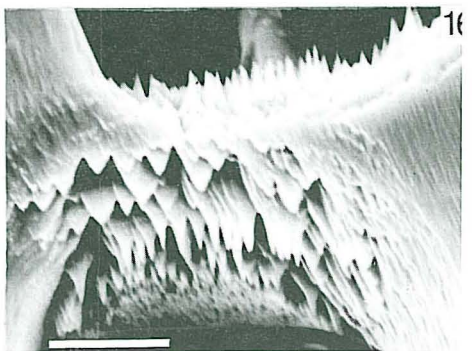
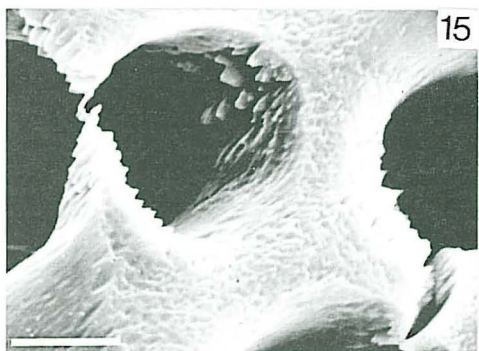
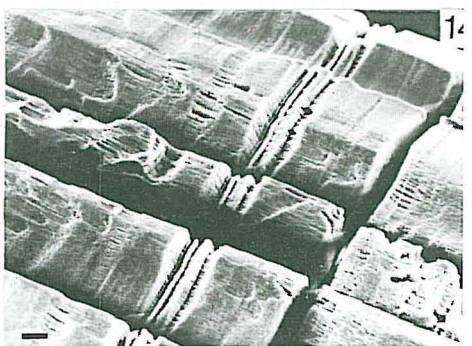
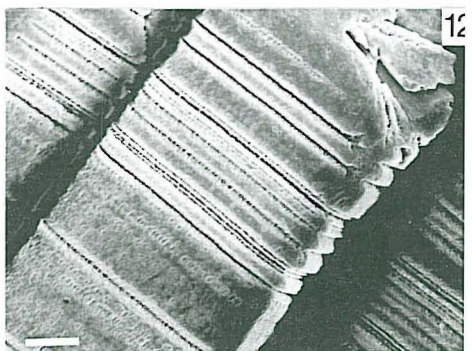
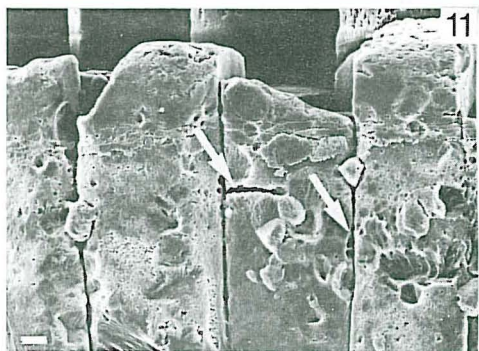
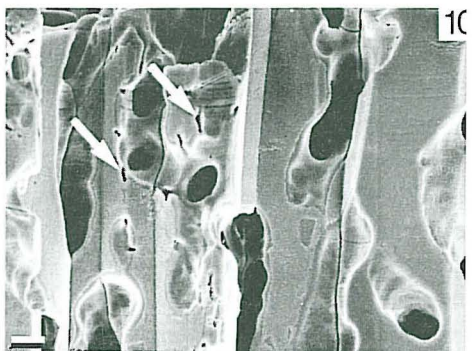
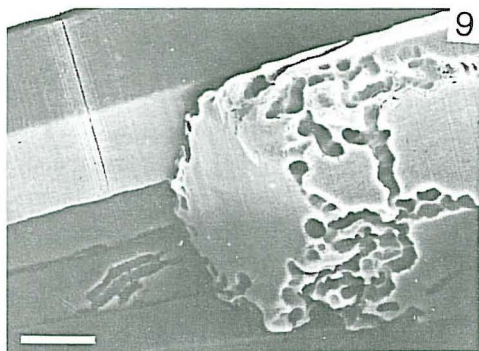
Fig. 2 et 3 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillons immergés pendant 1 mois en aquarium. Désorganisation de la trame organique péricristalline causée par l'activité des décomposeurs. Remarquons, derrière la trame organique décollée de la surface des prismes, des altérations de la partie minérale (flèches). Traitement α .

Fig. 4 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 1 mois à Calvi. Détail de la désorganisation des fibres de la trame péricristalline. Traitement α .

Fig. 5 et 6 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 9 mois à Calvi. Bactéries filamenteuses et coques sur des lambeaux de trame organique. Traitement α .

Fig. 7 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 6 mois à Calvi. Galeries creusées par les endolithes du type A. Remarquons l'hétérogénéité des phénomènes de biodégradation : le prisme 2 est très dégradé, contrairement aux prismes 1, 3 et 4. Traitement β .

Fig. 8 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 6 mois à Calvi. Endolithes du type B. Traitement β .



tures. Ainsi, la nacre par exemple, semble peu colonisée (toutefois trois échantillons présentent des perforations de très grande taille, fig. 17 et 18). Un délitement des tablettes qui la constituent peut cependant empêcher de visualiser les altérations au M.E.B. par élimination des strates les plus altérées. Par contre, les traces de biodégradation sont très visibles sur les prismes, contenant proportionnellement moins de matière organique que la nacre. Dans ce cas, la trame organique est disposée en épais feuillets (1 μm) entre les prismes, tandis qu'elle est répartie plus uniformément dans la nacre et les plaques du test : cette différence d'accessibilité des trames organiques dans les trois types de microstructures calcifiées pourrait dès lors expliquer les différents modes de colonisation. Constatons aussi que les perforations sont préférentiellement situées le long de la matière organique (Fig 5), ce qui confirme l'activité de microorganismes décomposeurs. D'éventuels organismes chimioautotrophes seraient répartis plus uniformément au sein des prismes.

Il faut également remarquer que la disposition des décomposeurs est très hétérogène : un endroit d'un échantillon peut être très densément colonisé (parfois par plusieurs types de décomposeurs) (Fig. 7, 8 et 9) alors qu'un autre endroit très proche reste presque intact. Ceci est probablement le reflet de l'hétérogénéité de la distribution des bactéries dans le sédiment.

Les échantillons de couche prismatique sont tous colonisés depuis la face externe (périostracale) ou depuis les endroits de fracture entre les prismes, mais jamais depuis la

PLANCHE II
Échelle 10 μm

Fig. 9 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 6 mois à Calvi. Endolithe du type C. Les galeries creusées par les endolithes sont toujours situés en bordure du prisme, en contact avec la matière organique péricristalline. Traitement β .

Fig. 10 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 9 mois en aquarium colonisé par plusieurs types d'endolithes : les petites perforations (voir flèches) mesurent $\pm 1 \mu\text{m}$, tandis que les grosses galeries (type D) mesurent $\pm 10 \mu\text{m}$. Traitement β .

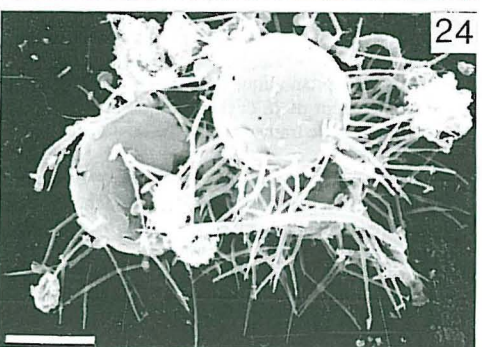
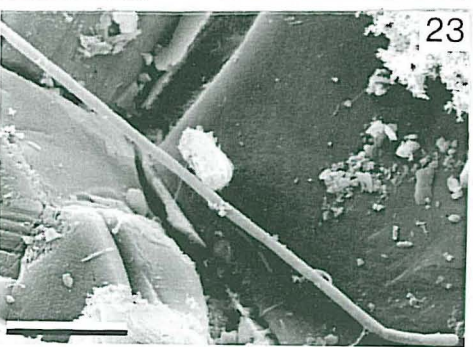
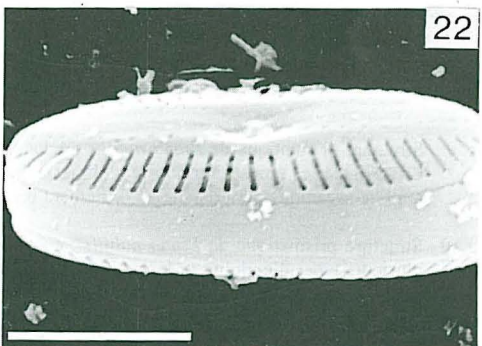
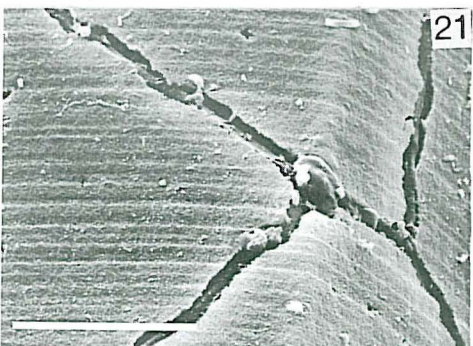
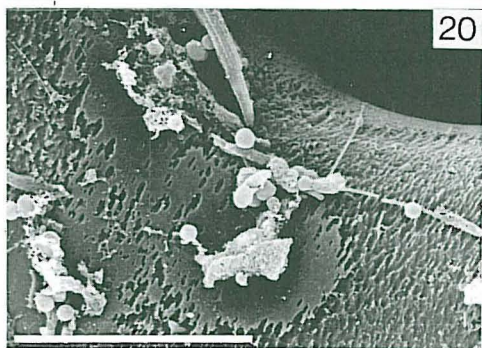
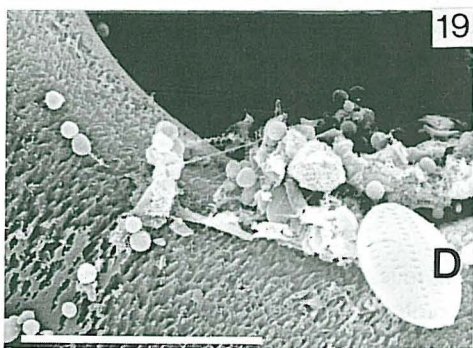
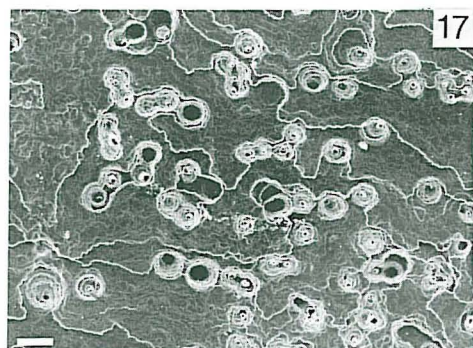
Fig. 11 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 3 mois à Calvi. Les flèches indiquent les altérations causées par les endolithes. L'arrondissement de l'arête des prismes est causé par la dissolution des carbonates. Traitement β .

Fig. 12 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 9 mois à Calvi. Les stries parallèles proviennent de la dégradation de la trame organique intracristalline et de la dissolution de la calcite, le long de cette trame organique. Traitement β .

Fig. 13 : Stéréome du test de *Sphaerechinus granularis* immergé pendant 9 mois à Calvi. Les endolithes ne creusent pas de galeries comme sur les échantillons de *Pinna* mais creusent des puits de 1 à 2 μm disposés en chapelets. Traitement β .

Fig. 14 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 9 mois en aquarium. Les phénomènes de dissolution mettent en évidence la sous-structure interne du cristallite. Traitement β .

Fig. 15 et 16 : Stéréome du test de *Sphaerechinus granularis* immergé pendant 6 mois en aquarium. La dissolution des carbonates peut provoquer la disparition des trabécules du stéréome. Traitement β .



face interne, qui était en contact avec le manteau. Cette face correspond aux cristaux déposés en dernier lieu par le manteau de la *Pinna*. Il est donc possible qu'elle soit constituée de l'apposition de cristaux parfaitement ordonnés, offrant ainsi peu de prise à la dissolution des carbonates et à l'ancrage des microorganismes.

Du point de vue de la vitesse de décomposition, les fig. 2, 3 et 4 illustrent la très rapide désorganisation de la trame organique des prismes. Cette désorganisation permet en outre d'entrevoir la structure fibrillaire de la trame organique péricristalline de *Pinna nobilis* (Fig. 3 et 4).

Enfin la dissolution des échantillons, causée par la diminution du potentiel d'oxydoréduction est visible sur les fig. 11, 12, 14, 15 et 16. Ces phénomènes sont relativement indépendants des processus de biodégradation *sensu stricto* puisque la disparition du minéral est indépendante de la disposition de la matière organique. Toutefois, il est évident que l'action des décomposeurs et chimioautotrophes se répercute sur les conditions physicochimiques du milieu, provoquant la dissolution des carbonates.

D'après notre étude, il semble que la biodégradation se déroule selon d'autres modalités en anaérobiose et à l'interface eau-sédiment puisque la nature des décomposeurs est différente. En aérobiose, il est possible d'observer des perforations causées par des Chlorophycées, Rhodophycées, Spongiaires, champignons Ascomycètes et Oomycètes (Poulicek 1982, Poulicek & Jaspar-Versali 1984) dont on ne trouve aucune trace en anaérobiose. De plus, ces organismes creusant des perforations de grande taille, le diamètre des perforations observé sur des échantillons soumis à la dégradation aérobie peut atteindre 100 μm et même 1 mm alors qu'en anoxie, les perforations mesurent généralement 1 à 10 μm . Par contre, la densité des perforations est similaire en aérobiose ($\pm 200\ 000$ prismes colonisés/ cm^2 , soit 75 % des prismes, après 6 mois d'immersion en milieu aérobie) (Poulicek 1982) et en anoxie.

PLANCHE III

Échelle 10 μm , sauf fig. 17 (échelle 100 μm)

Fig. 17 et 18 : Nacre de *Nautilus pompilius* immergée pendant 6 mois en aquarium. Remarquons la grande taille (voir échelle) et la densité de ces perforations d'origine inconnue. Traitement β .

Fig. 19 : Stéréome du test de *Sphaerechinus granularis* immergé pendant 6 mois à Calvi. Diatomées (D) et coques (flèches) de $\pm 1\ \mu\text{m}$ de diamètre. Traitement α .

Fig. 20 : Stéréome du test de *Sphaerechinus granularis* immergé pendant 6 mois à Calvi. Bactérie filamenteuses et coques à la surface du stéréome. Traitement α .

Fig. 21 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 6 mois à Calvi. Endolithe filamenteux observé *in situ*. Traitement α .

Fig. 22 : Nacre de *Nautilus pompilius* immergée pendant 6 mois en aquarium. Diatomée toujours vivante après 6 mois d'anaérobiose. Traitement α .

Fig. 23 : Structure prismatique de *Pinna nobilis* : échantillon immergé pendant 6 mois à Calvi. Bactéries filamenteuses se développant à la surface apicale des prismes. Traitement α .

Fig. 24 : Nacre de *Nautilus pompilius* immergée pendant 6 mois en aquarium. Fungi. Traitement α .

Les phénomènes de dissolution des carbonates vont intervenir sur les processus de biodégradation. En anaérobiose, la dissolution semble accroître la vitesse de décomposition en permettant aux décomposeurs d'atteindre la matière organique des structures squelettiques calcifiées sans creuser les carbonates. Ceci augmenterait donc l'impact des décomposeurs épilithes (incapables de perforer les carbonates), comme les bactéries. La dissolution de la calcite le long de la trame organique intracristalline se remarque sur la Fig. 12. Le milieu abyssal, sous saturé en carbonates, provoque également une augmentation de la vitesse de biodégradation par dissolution des carbonates dans les formations squelettiques calcifiées (Poulicek 1983).

A durée égale d'immersion expérimentale, l'activité des décomposeurs anaérobies est du même ordre de grandeur que l'activité des décomposeurs aérobies sur un même matériel, tant du point de vue densité des perforations que du point de vue de l'ultrastructure des matrices organiques.

Si l'interface eau-sédiment est une étape clé de la biodégradation, elle n'est donc pas la seule zone d'intense décomposition de la matière organique. Malgré leurs strictes exigences au niveau de l'utilisation des métabolites et des réactions chimiques, les décomposeurs anaérobies apparaissent en définitive aussi actifs que leurs homologues aérobies.

A cause de la diffusion vers la pleine eau et sous l'action de la macrofaune (se nourrissant de microorganismes décomposeurs ou simplement via les bioturbations qu'ils provoquent) (Aller, 1982), les nutriments présents dans le sédiment anoxique pourront être recyclés. Ainsi les organismes anaérobies, loin de constituer une "voie sans issue", s'insèrent donc parfaitement à la fois dans les chaînes trophiques et les cycles biogéochimiques. Puisque la dégradation anaérobie complète la décomposition aérobie, ces deux processus limitent dans une large mesure l'accumulation de matériaux organiques dans les sédiments.

REMERCIEMENTS

Merci à M. le Professeur Jeuniaux pour son aide et ses conseils. Cette étude a pu se dérouler à Calvi avec l'aide du Dr. D. Bay, directeur de la Station océanographique STARESO et en aquarium grâce au Dr. J. Voss, Conservateur de l'Aquarium Public de l'Université de Liège. Remercions également Mlle. C. Toussaint pour son aide.

Ce travail a été réalisé avec l'appui du Fonds pour la Recherche Fondamentale et Collective, crédit n° 2.4506.83 du Fonds National de la Recherche Scientifique de Belgique.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLER, R.C., 1982. The effects of macrobenthos on chemical properties of marine sediment and overlaying water. *Animal-Sediment Relations*, P.L. Mc Call and M.J.S. Tevesz editors. Plenum Press (N.Y. and London) : 53-96.
- BREMER, G.B., 1976. The ecology of marine lower fungi. In E.B.G. Jones. Recent advances in aquatic mycology, Wiley ed. (New-York) : 313-333.
- CHAVE, K.E., K.S. DEFFEYES, P.K. WEYK, R.M. GARRELS & M.E. THOMPSON, 1962. Observations on the solubility of skeletal carbonates in aqueous solutions. *Science*, 137 : 33-34.
- CLOKIE, J., 1970. Some substrate relationships of the family Thraustochytriaceae Veröff. *Inst. Meeresforsch. Bremerh.*, 12 : 329-351.
- GLENN, C.R. & M.E. ARTHUR, 1985. Sedimentary and geochemical indicators of productivity and oxygen contents in modern and ancient basins : the holocene Black sea as the "type" anoxic basin. *Chem. Geol.*, 48 : 325-354.
- HARGRAVE, B.T., 1972. Aerobic decomposition of sediment and detritus as a function of particle surface area and organic content. *Limnol. Oceanogr.*, 17 (4) : 583-596.
- HENRICH, S.M. & W.S. REEBURGH, 1987. Anaerobic mineralization of marine sediments organic matter: rates and the role of anaerobic processes in the oceanic carbon economy. *Geomicrobiology Journal*, 5 (3/4) : 191-237.
- JOHNSON, T.W., 1976. The Phycomycetes morphology and taxonomy. Jones E.B.G. (ed.), *Recent advances in aquatic mycology*. Wiley (New-York) : 193-211.
- MAY, J.A. & R.D. PERKINS, 1979. Endolithic infestation of carbonate substrates below the sediment-water interface. *J. Sed. Petrol.*, 49 (2) : 357-378.
- POULICEK, M., 1982. Coquilles et autres structures squelettiques des mollusques: composition chimique, biomasse et biodégradation en milieu marin. Thèse de Doctorat en Sci. Zool., Université de Liège, 180 p (n. publ.).
- POULICEK, M., 1983. Patterns of mollusk shell biodegradation in bathyal and abyssal sediments. *J. Moll. Study*, 12 A : 136-141.
- POULICEK, M. & C. JEUNIAUX, 1982. Biomass and biodegradation of mollusk shell chitin in some marine sediments. *Proc. 2nd internat. Conf. on Chitin and Chitosan, Sapporo (Japan)*, S. Hirano and S. Tokura editors : 196-199.
- POULICEK, M. & M.F. JASPAR-VERSALI, 1984. Biodégradation de la trame organique des coquilles de Mollusques en milieu marin : action des microorganismes endobiontes. *Bull. Soc. R. Sci. de Liège*, 53^e année : 114-126.
- POULICEK, M., M.F. JASPAR-VERSALI & G. GOFFINET, 1981. Étude expérimentale de la dégradation des coquilles de mollusques au niveau des sédiments marins. *Bull. de la Soc. Roy. des Sci. de Liège*, 11-12 : 513-518.
- POULICEK, M., G. GOFFINET, C. JEUNIAUX, A. SIMON & M.F. VOSS-FOUCART, 1988. Early diagenesis of skeletal remains in marine sediments: a 10 years study. *Actes du colloque. "Recherches océanographiques en mer Méditerranée"*. Institut de Recherches Marines et d'interactions Air-Mer, ed. : 107-124.
- RAUP, D.M. & S.M. STANLEY, 1978. Principles of paleontology. *Freeman and Company ed.* (San Francisco), 481 p.
- STEIN, R., J. RULLKOETER & D. WELTE, 1986. Accumulation of organic-carbon rich sediments in the late Jurassic and Cretaceous Atlantic ocean. A synthesis. *Chemical Geology*, 56 : 1-32.