

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE NANTES
ANNEE 1994

**UN CAPTEUR BIOLOGIQUE ORIGINAL
ENREGISTRANT LES MOUVEMENTS
VALVAIRES DES MOLLUSQUES BIVALVES**

THESE
pour le
diplôme d'Etat
de
DOCTEUR VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement
le 26 mai 1994
devant
la Faculté de Médecine de Nantes
par

Armelle FLOCH

Née le 4 Novembre 1968 à Chartres (28)

JURY

Président : Monsieur MARJOLET
Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Membres : Monsieur LE BRIS
Professeur Associé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Madame KAMMERER
Maître de Conférences Agrégé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Invité : Monsieur MAZURIE
Chef du Laboratoire Ressources Aquacoles à l'IFREMER La Trinité-sur-mer

A Monsieur Joseph MAZURIE

*Chef du laboratoire Ressources Aquacoles
de la Station IFREMER de La Trinité-sur-Mer*

qui m'a accueillie dans son laboratoire, a supervisé mes recherches et m'a permis de les réaliser dans d'excellentes conditions.

Merci pour la confiance et l'aide qu'il a bien voulu m'accorder.

A Monsieur Claude LE BEC

*Chercheur de la Direction de L'Environnement Littoral
de la Station IFREMER de Sète*

qui m'a communiqué son enthousiasme pour ce sujet, m'a aidée et conseillée tout au long de ce travail.

Merci pour son dévouement, sa patience et ses encouragements précieux.

A Monsieur Patrick CAMUS

*Chercheur de la Direction de l'Environnement Littoral
de la Station IFREMER de La Trinité-sur-mer*

qui m'a conseillée et aidée pour la rédaction et l'illustration photographique de cette thèse.

Merci pour sa disponibilité.

A Monsieur Gabriel de KERGARIOU

Directeur de la Station IFREMER de la Trinité-sur-mer

et

A l'ensemble du Personnel de la Station de la Trinité-sur-mer

qui m'ont accueillie chaleureusement et ont facilité la réalisation de cette thèse par leur gentillesse et leur bonne humeur.

Ils furent ma seconde famille pendant ces deux dernières années.

**Aux différentes équipes de l'IFREMER du Centre de Brest,
des directions**

- *des Ressources Vivantes (DRV)*
- *de l'Environnement Littoral (DEL)*
- *de L'Ingénierie, de la Technologie et de l'Informatique (DITI)*

et en particulier, à Messieurs PENNEC, BLANCHARD, KERDREUX, CHAPRON
pour leur aide lors des expérimentations.

A la Société Micrel (Hennebont),

A la Société Aquacole d'Ouessant,

A l'Ecloserie du Comité Local des Pêches Maritimes du Tinduff,

A Messieurs Oulen et Le Guen, ostréiculteurs à l'Aber Wrac'h

pour leur coopération aimable et spontanée.

A Monsieur le Professeur MARJOLET

*Professeur à la faculté de Médecine de Nantes,
qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.*

Hommage respectueux.

A Monsieur LE BRIS

*Professeur Associé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes,
qui nous a communiqué son intérêt pour l'Océanologie et l'Aquaculture
et nous a orienté vers ce travail.*

Hommage reconnaissant.

A Madame KAMMERER,

*Maître de Conférences Agrégé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes,
qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.*

Hommage respectueux.

A mes parents,

en remerciement de leurs encouragements permanents et de leur patience
tout au long de mes études.

Un modeste témoignage de mon immense reconnaissance
et de ma profonde affection.

A ma famille et mes amis

.... et à Polka



RESUME

Les dangers de pollution de l'environnement ont conduit à la mise en oeuvre de techniques perfectionnées permettant la détection rapide des contaminations du milieu, afin d'en limiter les conséquences.

Parmi elles, les analyses physico-chimiques ponctuelles s'avèrent souvent lourdes et inappropriées. La surveillance biologique à l'aide d'espèces sentinelles réagissant aux altérations du milieu constitue un complément précieux.

Nombreux sont les bio-capteurs imaginés, notamment en milieu aquatique. Basés sur des réponses biologiques variées, à tous les niveaux de l'organisme, d'espèces particulièrement sensibles, ils renseignent avec des temps de latence plus ou moins longs, des modifications de leur écosystème. La surveillance du milieu se fait grâce au suivi, en continu, du paramètre biologique retenu. Toute variation significative par rapport à l'algorithme du système déclenche une alarme correspondant à une situation anormale. Poissons, bactéries, daphnies ou mollusques sont ainsi utilisés en routine, dans plusieurs dispositifs.

Les bivalves filtreurs, en contact permanent avec l'eau, sont des espèces sentinelles privilégiées, en eau douce comme en mer. Ils remplissent toutes les conditions pour une intégration efficace au sein de systèmes biologiques d'alarme précoce. Si leur respiration, fréquence cardiaque ou taux de létalité reflètent la qualité de l'eau qu'ils filtrent. Leur activité valvaire est un paramètre simple et rapide pour qualifier leur milieu.

Le regain d'intérêt du bio-capteur valvaire découle des avancées technologiques qui permettent la mesure et l'enregistrement automatique et en continu des écartements intervalvaires de bivalves. Le traitement du signal permet de détecter les situations d'alerte. Ainsi, deux dispositifs sont disponibles depuis peu sur le marché, le premier proposé par la société hollandaise Delta-Consult depuis 1991 et le second conçu en 1993, en France par Ifremer et fabriqué par Micrel.

Le fonctionnement de ces deux nouveaux appareils est présenté ici, mettant en évidence leurs avantages et faiblesses respectifs ainsi que les améliorations à apporter avant une utilisation en routine.

Au laboratoire, le comportement "normal" de moules marines (*Mytilus edulis* et *galloprovincialis*) et secondairement d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) est analysé en l'absence de stress et lors de variations "naturelles" de la qualité de l'eau, en particulier lors de chutes de salinité. Quelques applications sur le terrain confirment la sensibilité de la réponse valvaire aux conditions rencontrées et l'intérêt de ce système pour la comparaison de sites.

L'ensemble des résultats obtenus lors de cette validation a conduit à une réflexion méthodologique sur le principe de mesure, le traitement des signaux et le choix des bivalves utilisés dans ces appareils.

Enfin, une évaluation de la sensibilité de la réponse valvaire en fonction des contaminants est envisagée à partir de la bibliographie existante. Elle souligne l'importance de la détermination spécifique des seuils de sensibilité des différents bivalves aux principaux polluants, étape fondamentale avant une utilisation courante de ces bio-capteurs valvaires sur le terrain comme instrument de surveillance du milieu aquatique. Les différentes applications des ces bio-capteurs originaux sont ensuite présentées.

SOMMAIRE

RESUME	13
INTRODUCTION	19
PREMIERE PARTIE	
I. INTEGRATION D'ESPECES SENTINELLES AU SEIN DE CAPTEURS BIOLOGIQUES	23
I.1. DEFINITION DES BIOINDICATEURS	23
I.1.1. Utilisation des indices de stress en surveillance de l'environnement	23
<i>I.1.1.1. Définition du stress</i>	23
<i>I.1.1.2. Hiérarchie des effets à l'échelle de l'organisme et applications dans le choix des indices de stress</i>	24
- niveau moléculaire	26
- niveau subcellulaire, cellulaire, tissulaire et organique	27
- paramètres physiologiques et comportementaux	27
- échelle de la population et de la communauté au sein d'un écosystème	27
I.1.2. Capteurs biologiques et indicateurs écologiques au service de l'environnement	27
<i>I.1.2.1. Définitions</i>	27
- bio-indicateurs écologiques	28
- bio-capteurs ou espèces sentinelles	28
<i>I.1.2.2. Quelques exemples de bio-indicateurs</i>	29
I.2. LE CONCEPT DE SONDE BIOLOGIQUE D'ALARME PRECOCE EN MILIEU AQUATIQUE ("Biological Early Warning System")	31
I.2.1. Définition	31
I.2.2. Critères de choix des organismes	32
I.2.3. Paramètres biologiques utilisés	32
I.2.4. Contraintes techniques	33
<i>I.2.4.1. Hydraulique de la chambre de mesure</i>	33
<i>I.2.4.2. Analyse du signal</i>	33
I.3. LES PRINCIPAUX CAPTEURS BIOLOGIQUES UTILISES EN MILIEU AQUATIQUE	35
I.3.1. Systèmes utilisant les poissons	35
<i>I.3.1.1. Système détectant la mort</i>	35
<i>I.3.1.2. Système basé sur le comportement locomoteur</i>	35
<i>I.3.1.3. Capteur rhéotaxique</i>	36
<i>I.3.1.4. Système mesurant la fréquence ventilatoire</i>	36

I.3.2. systèmes utilisant des organismes microscopiques	38
<i>I.3.2.1. Les daphnies</i>	38
<i>I.3.2.2. Bio-capteur algal</i>	38
<i>I.3.2.2. Surveillance biologique par les bactéries</i>	39
I.3.3. utilisation des bivalves	39
<i>I.3.3.1. Particularités biologiques</i>	39
<i>I.3.3.2. Paramètres biologiques utilisés</i>	40
- réponses létales	43
- croissance des tissus et de la coquille	43
- "Scope for growth"	44
- respiration	45
- filtration	46
- fréquence cardiaque	46
- mouvements valvaires	46
DEUXIEME PARTIE	
II. VALIDATION EXPERIMENTALE DE DEUX BIO-CAPTEURS ENREGISTRANT LES MOUVEMENTS VALVAIRES	51
II.1. DESCRIPTION DES APPAREILS	51
II.1.1. Le valvomètre "Mosselmonitor"	51
<i>II.1.1.1. Présentation générale</i>	51
<i>II.1.1.2. Principe de fonctionnement</i>	51
<i>II.1.1.3. Programmation de l'appareil</i>	57
<i>II.1.1.4. Mode d'emploi</i>	58
II.1.2. Un dispositif d'enregistrement des mouvements valvaires conçu par l'Ifremer	60
<i>II.1.2.1. Présentation générale</i>	60
<i>II.1.2.2. Principe de mesure</i>	60
<i>II.1.2.3. Acquisition, stockage et traitement des mesures</i>	64
<i>II.1.2.4. Mode d'emploi</i>	65
- installation des moules	65
- immersion de l'appareil	65
II.2. PREMIERES UTILISATIONS EXPERIMENTALES DE CES BIO-CAPTEURS	67
II.2.1. Analyse des mouvements valvaires de bivalves marins	67
<i>II.2.1.1. Mouvements valvaires des moules <i>Mytilus galloprovincialis</i></i>	67
- matériel et méthodes	67
- résultats	68
<i>II.2.1.2. Signaux valvaires d'huîtres creuses</i>	75
II.2.2. Effet de l'apport d'eau brute sur le comportement de moules à jeûn	78
<i>II.2.2.1. Matériel et méthodes</i>	78
<i>II.2.2.2. Résultats</i>	78

II.2.3. Comparaison des signaux valvaires dans deux sites de la rade de Brest : Sainte-Anne du Portzic et le Tinduff	82
<i>II.2.3.1. Première comparaison au printemps 93</i>	82
- matériel et méthodes	82
- résultats	85
<i>II.2.3.2. Deuxième comparaison en septembre 93</i>	92
- matériel et méthodes	92
- résultats	93
II.2.4. Utilisation du valvomètre en situation d'alerte en zone conchylicole à Paluden (Aber Wrac'h)	98
<i>II.2.4.1. matériel et méthodes</i>	98
<i>II.2.4.2. résultats</i>	100
II.2.5. Effets de dessalures expérimentales sur les mouvements valvaires de moules de différentes origines	112
<i>II.2.5.1. Dessalures isolées jusqu'à 20 et 10 ‰</i>	111
- matériel et méthodes	111
- résultats	112
<i>II.2.5.2. Cycles de dessalures au laboratoire</i>	118
- matériel et méthodes	118
- résultats	119
II.2.6. discussion de l'ensemble des expérimentations	129
<i>II.2.6.1. rythmicité nyctémérale</i>	129
<i>II.2.6.2. influence de la charge sestonique de l'eau</i>	129
<i>II.2.6.3. réactions aux chutes de salinité</i>	134
II.3. ANALYSE METHODOLOGIQUE	137
II.3.1. Le capteur	137
<i>II.3.1.1. Structure des deux appareils</i>	137
<i>II.3.1.2. Système de mesure</i>	137
II.3.2. Les bivalves sentinelles	140
<i>II.3.2.1. Sensibilité individuelle</i>	140
<i>II.3.2.2. Adaptation</i>	140
<i>II.3.2.3. Choix de l'espèce</i>	141
II.3.3. Le traitement du signal	141
<i>II.3.3.1. Acquisition de données</i>	141
<i>II.3.3.2. Traitement du signal</i>	142
- passage en pourcentages	142
- statistiques de base	143
- alarmes	143

TROISIEME PARTIE

III. LES APPLICATIONS DE CES BIO-CAPTEURS VALVAIRES	
III.1. IMPORTANCE D'UNE VALIDATION EN ECOTOXICOLOGIE	147
III.1.1. Réponses valvaires aux contaminants	147
<i>III.1.1.1. Réponses de moules dulçaquicoles à un apport d'hypochlorite</i>	147
<i>III.1.1.2. Réponse de <i>D. polymorpha</i> au TBTO</i>	150
<i>III.1.1.3. Réponse de <i>D. polymorpha</i> à l'hexachlorobutadiène</i>	150
III.1.2. Grille de sensibilité aux polluants	152
III.1.3. Sensibilité du bio-capteur valvaire en comparaison d'autres dispositifs biologiques de surveillance du milieu aquatique	154
<i>III.1.3.1. Systèmes utilisant les bivalves</i>	154
<i>III.1.3.2. Systèmes utilisant d'autres organismes aquatiques</i>	155
III.2. LES APPLICATIONS ENVISAGEABLES	157
III.2.1. En surveillance de l'environnement	157
III.2.2. Un instrument au service des chercheurs	163
CONCLUSION	165
ANNEXES	167
Annexe 1 : Tableaux comparatifs des principaux bio-capteurs disponibles en milieu aquatique	169
Annexe 2 : Plaquettes commerciales des deux valvomètres	179
Annexe 3 : Effets de différents contaminants sur les mouvements valvaires des moules	185
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	193

INTRODUCTION

Le Vingtième siècle, siècle du développement industriel, de l'essor technologique, mais aussi de l'explosion démographique et de l'environnement ...

Si le modernisme facilite la vie quotidienne de l'homme, il menace aujourd'hui les équilibres écologiques de la planète par des pollutions diverses, rejets des usines, de l'agriculture et de la vie domestique. Le "trou" dans la couche d'ozone, les pluies acides ou l'augmentation des teneurs en nitrates et phosphates de l'eau, en sont quelques exemples fréquemment évoqués et largement médiatisés.

Dans ce contexte, la surveillance de l'environnement est devenue une préoccupation majeure tant écologique que politique. Pour apprécier régulièrement la qualité des milieux terrestres, aquatiques et atmosphériques, des systèmes de mesures de plus en plus sophistiqués sont mis en oeuvre. En majorité, ils réalisent une recherche physico-chimique des principaux polluants organiques et minéraux. Des analyses microbiologiques sont également effectuées. Si le but principal de ces études est la protection de la santé humaine et animale, le souci de préserver notre patrimoine naturel existe également.

L'eau, composante principale de la "Planète bleue" abrite de nombreux écosystèmes dont certains sont menacés par cette activité humaine débordante. Nombreuses sont les techniques d'analyses déployées en milieu aquatique : sur l'eau, le sédiment, ou même les organismes marins. Moules et huîtres sont ainsi utilisées dans les réseaux de surveillance du littoral gérés par l'Ifremer (RNO : Réseau National d'Observation, REMI : Réseau d'Etude Microbiologique et REPHY : Réseau d'Etude du Phytoplancton toxique).

Mais ces analyses sont pour la plupart discontinues et ciblées ; elles ne permettent pas de détecter toutes les pollutions. Leurs résultats sont obtenus a posteriori, alors que les effets se font déjà sentir.

D'où l'importance de développer des systèmes de mesure automatique et continue. Ainsi, le projet MAREL (ex Ravel) a pour objectif de réaliser en permanence un suivi des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau, grâce à des balises autonomes placées sur le littoral. Les mesures parviendront directement aux scientifiques par transmission hertzienne. Mais ces mesures sont spécifiques. Ne peut être détecté que ce qui est recherché...

Le recours à une surveillance biologique, automatique et continue, basée sur les réponses anticipées mais souvent non spécifiques d'espèces sentinelles s'avère complémentaire. Des dispositifs originaux ont été envisagés en milieu aquatique, marin et dulçaquicole. Ils mettent à contribution des organismes variés comme le poisson, les daphnies ou bien encore les mollusques bivalves.

Filtreurs, ces derniers sont en contact permanent avec l'eau, ils intègrent une bonne partie des contaminations du milieu. Sédentaires, leur principale protection réside dans la fermeture de leurs valves, qui les isole du milieu. Leur comportement est un reflet précoce et sensible des altérations de l'eau.

Au début du siècle, Marceau (1909) élaborait le premier enregistreur mécanique de mouvements valvaires de coquillages. Aujourd'hui, les avancées technologiques ont permis

la conception de nouveaux appareils sophistiqués, enregistrant en permanence les écartements intervalvaires des bivalves. Le traitement informatique du signal permet l'émission en direct d'alarmes lors de pollutions.

Deux "valvomètres" sont maintenant sur le marché international ; le premier proposé par la société hollandaise Delta-Consult et le second mis au point par l'Ifremer et fabriqué par la société française Micrel. L'alliance d'une réponse biologique sensible, d'un système de mesure et d'une assistance informatique sophistiqués les rend particulièrement séduisants pour la détection précoce des pollutions aquatiques.

Quelles sont leurs caractéristiques techniques ? Quelles sont les particularités des mouvements valvaires de quelques bivalves marins ? Les premières expérimentations réalisées ont été l'occasion de valider ces bio-capteurs originaux, tant du point de vue matériel que de la sensibilité des organismes sentinelles, et d'envisager leurs différentes applications...

PREMIERE PARTIE

**INTEGRATION D'ESPECES SENTINELLES
AU SEIN DE CAPTEURS BIOLOGIQUES**

I. INTEGRATION D'ESPECES SENTINELLES AU SEIN DE CAPTEURS BIOLOGIQUES

Les menaces importantes de pollution de l'environnement et leur impact sur la santé humaine et animale ont conduit au développement de techniques permettant la détection rapide des pollutions afin d'en limiter les conséquences.

A maintes reprises, les méthodes de surveillance physico-chimique se sont révélées insuffisantes, inadaptées, lourdes et coûteuses. Elles sont réalisées de façon discontinue, avec un délai entre prélèvements et analyses. Elles sont "ciblées", ne dosent que certains polluants listés au préalable, avec un seuil limite de détection.

De plus, la détection d'un toxique dans l'eau ne renseigne pas toujours sur sa forme active et l'effet biologique des concentrations mesurées. Les informations toxicologiques, les effets sur les espèces biologiques ne sont pas toujours connus.

Il existe souvent une interaction entre les substances toxiques et les paramètres physico-chimiques du milieu (pH, oxygène, salinité, température...) provoquant une pollution mixte avec synergie ou antagonisme.

Dans ce contexte, le recours à une surveillance biologique de l'environnement constitue, sinon une alternative, du moins un complément aux analyses physico-chimiques. Des organismes sentinelles bien adaptés offrent en effet une réponse mesurable aux altérations du milieu dans lequel ils vivent et utilisable pour détecter les pollutions.

Sensibles mais généralement non spécifiques du polluant en cause, leurs réactions biologiques constituent un signal d'alarme qui peut permettre le déclenchement d'analyses chimiques plus précises et une réaction rapide des professionnels concernés.

I.1. DEFINITION DES BIO-INDICATEURS (*sens large*)

I.1.1. Utilisation d'indices de stress en surveillance de l'environnement

I.1.1.1. Définition du stress

Bayne, en 1975 a défini le **stress** comme une altération mesurable d'un état physiologique, induite par un changement environnemental et qui rend l'individu ou la population plus vulnérables à d'autres variations du milieu.

Ces altérations peuvent être quantifiées par évaluation de paramètres biologiques (indices de stress) qui permettent de définir l'état de santé des individus. Tandis que les "indices généraux", révèlent une réaction non spécifique de l'organisme à une large gamme de variations environnementales naturelles ou anthropiques, les "indices spécifiques" traduisent la réponse des organismes à certaines catégories de contaminants (métaux lourds, résidus de xénobiotiques...).

1.1.1.2. Hiérarchie des effets à l'échelle de l'organisme et applications dans le choix des indices de stress

Les effets des modifications environnementales sur les individus se produisent à tous les niveaux de l'organisme et même de la communauté, multipliant les indices de stress utilisables dans la détection des pollutions. L'individu est une organisation structurée et hiérarchisée, dans laquelle le contaminant ou facteur stressant agit initialement au niveau le plus petit (moléculaire) et se répercute progressivement à des niveaux supérieurs : cellulaire, tissulaire, organique, population et enfin communauté (tableau 1).

Tableau 1 : niveau d'impact et de détection d'un stress (d'après Suteau, 1987)

Niveau	subcellulaire biochimique	cellulaire tissulaire	physiologique comportemental	population
impact biologique	perméabilité membranaire	cycle de gamétogénèse	respiration	biomasse
	activité enzymatique	cycle de stockage des nutriments	alimentation	abondance des espèces
	flux métabolique	malformations	excrétion	disparition
	charge énergétique	tumeurs	croissance	distribution
	activité humorale	néoplasmes	reproduction	diversité
	activité immunologique		viabilité des larves	interactions trophiques
	anomalies géniques et chromosomiques		fonctions sensorielles	
	chimie du sang		locomotion	variabilité spatiale et temporelle
		activité		
		mort		
mise en évidence	- biomarqueurs enzymes de détoxification dosages biochimiques	- analyses histologiques	- mesures directes ou indirectes des grandes fonctions	- indices biotiques
	- dose interne bioaccumulation	- autopsies	- analyse comportementale	
			- biométrie, morphologie	

Ainsi, le mercure bloque les groupements thiol des enzymes, en particulier celles régulant la biosynthèse, et peut, par déstabilisation des membranes lysosomales et libération des enzymes hydrolytiques, conduire à la mort cellulaire et la dégénération tissulaire.

Une inhibition de la biosynthèse peut s'exprimer par une diminution du taux de croissance d'une population cellulaire, compensée par une hypertrophie cellulaire entraînant un dysfonctionnement tissulaire voire organique ou, plus généralement, une réduction de la croissance de l'organisme.

Ce que l'investigateur observe dépend du niveau qu'il étudie et du délai entre l'apport du polluant et ses analyses. L'effet observé à un échelon donné est une conséquence de l'action de la substance stressante au niveau inférieur, sachant que les toxiques agissent en premier lieu à l'échelle moléculaire. Si l'impact du polluant dépasse les capacités de contrôle et de neutralisation de l'organisme à ce niveau, il se répercute à l'étage supérieur.

Il y a donc un ordre chronologique : les réponses aux niveaux inférieurs (moléculaires) interviennent précocément, et ont un rôle prédictif sur les conséquences plus tardives à des rangs supérieurs (fig. 1). Leur détection anticipée permet de limiter les conséquences sur l'organisme et la population.

Les pollutions peuvent être des événements aigus, exceptionnels ou chroniques, dont les effets s'expriment immédiatement, ou à long terme. Les mesures biochimiques, physiologiques ou comportementales, permettent de visualiser des réponses immédiates ou à court terme. Elles sont préconisées dans la détection précoce des pollutions et sont mises en oeuvre lors d'études fréquentes ou continues. Couplées à un système d'alarme, elles permettent le déclenchement d'analyses plus approfondies sur les sites menacés. En revanche, les modifications histologiques ou morphologiques sont des effets différés, intervenant tardivement et se limitant à des interprétations a posteriori.

A chaque niveau de l'organisme, il existe des mécanismes homéostatiques variés et des réponses adaptatives qui tentent de contrer les effets des contaminants et de maintenir une stabilité interne. Les effets observés à un échelon peuvent être masqués à des niveaux supérieurs si les capacités adaptatives de l'organisme dépassent les pouvoirs du toxique. La sensibilité à l'échelle moléculaire demeure la plus importante, mais aussi la plus délicate à visualiser puisqu'elle nécessite du matériel d'analyse parfois très sophistiqué et coûteux.

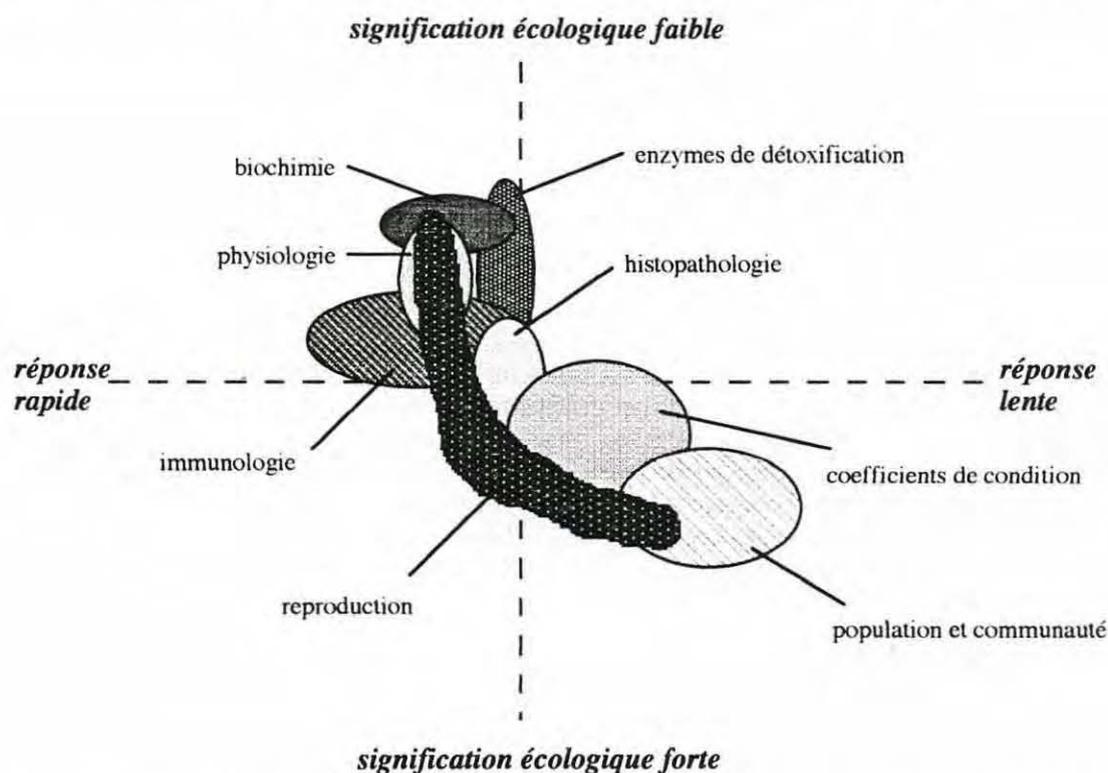


figure 1 : place des différents bio-indicateurs en fonction de leur signification écologique et du temps de réponse (Vindimian et Garric, 1993)

Le polluant agit initialement au niveau des molécules. Il se produit une interaction entre les molécules toxiques et une cible moléculaire de l'organisme. Si la réponse à l'agression est rapide, sa signification écologique est limitée (fig. 1). Les différentes altérations observables à des niveaux supérieurs n'en sont qu'une conséquence : l'impact sur l'écosystème, par la disparition de certaines espèces et le déséquilibre qu'elle provoque au sein de communautés biologiques, est le résultat ultime qui se révèle longtemps après, mais avec une forte signification écologique. L'intensité de la pollution (concentration en contaminants) agit également sur les formes d'expression qu'elle revêt, ce qui n'est pas pris en compte dans la représentation de la figure 1.

Le dosage interne en polluants (concentration en polluant dans les tissus de l'individu) demeure une des techniques traditionnelles de surveillance de la qualité de l'environnement, utilisée en routine par l'Ifremer dans le cadre du Réseau National d'Observation. Par comparaison aux concentrations environnementales, elle permet d'estimer la biodisponibilité et les capacités de bioconcentrations des polluants. Le franchissement de seuils donne le signal d'alarme de pollution.

Les **biomarqueurs**, témoins moléculaires rapides et mesurables de la présence de polluants dans l'organisme, représentent une méthode d'avenir pour la détection des pollutions. Séduisants par leur précocité et leur sensibilité de réaction, ils renseignent en plus, dans certains cas, sur les risques d'effets toxiques à long terme. Les plus courants sont des paramètres biologiques, biochimiques et immunologiques.

Citons par exemple l'inhibition ou l'induction de systèmes enzymatiques tels que les cholinestérases sanguines fortement inhibées par les insecticides organophosphorés ou carbamates avant tout symptôme neurotoxique (utilisé par IFREMER dans le Réseau National d'Observation).

Ainsi, l'activité aminolévulinate deshydratase est fortement inhibée par le plomb. A l'inverse, les metallothionéines interviennent dans la complexation et le métabolisme des métaux lourds.

L'induction des cytochromes P450 du foie (isoenzymes) par une grande variété de polluants industriels (hydrocarbures aromatiques polycycliques, molécules organochlorées polychlorobiphényles et dioxines), est un paramètre étudié chez les poissons (en particulier le dragonnet ubiquiste sur notre littoral et vivant à proximité du fond) et les moules dans le cadre des réseaux de surveillance de la qualité de l'eau (mesure de l'activité enzymatique EROD par fluorimétrie chez le poisson). Sa grande sensibilité aux substances toxiques en fait un système d'alarme prometteur dans l'avenir, permettant une intervention anticipée avant des troubles irrémédiables au sein de l'organisme et de l'écosystème, d'autant que les substances en cause sont rémanentes et bioaccumulables (Rivière, 1993 ; Vindimian et Garric, 1993).

D'autres molécules peuvent être utilisées comme indicateurs de stress. Ainsi, certaines protéines "de stress" sont synthétisées lors de traumatismes physiques ou chimiques (neuromédiateurs, hormones). Citons également les protéines de chocs thermiques qui apparaissent brutalement lors de modification de température.

L'intérêt des biomarqueurs réside dans leur présence en avant garde après la pollution. La possibilité de les détecter précocement dans certains organismes sentinelles, permet à l'homme d'intervenir et de limiter leur effet avant des lésions irréversibles pour son écosystème et sa propre communauté. Si leur temps de réponse est très court, leur signification écologique est faible puisqu'ils sont "au début d'une situation chaotique où l'état final est parfaitement déterminé par l'état initial mais dépend d'une telle quantité de

paramètres ou d'événements qu'il n'est pas possible de le prévoir avec précision, à l'inverse des indicateurs écologiques qui eux font le constat précis de l'écosystème, et donc ont une excellente signification écologique" (Vindimian et Garric, 1993).

- niveaux subcellulaire, cellulaire, tissulaire et organique

Le stress peut se répercuter sur les organites cellulaires. Ainsi, la stabilité des membranes lysosomales est un indice de stress utilisé chez les mollusques : les polluants contenus dans les lysosomes peuvent fragiliser les membranes et augmenter leur perméabilité (Viarengo et Canesi, 1991).

Les substances toxiques peuvent aussi entraîner des altérations de la morphologie cellulaire (hypertrophie, atrophie), une inhibition des mitoses, ou inversement, des phénomènes néoplasiques et un développement anarchique (formation de tumeur, néoplasme) altérant la structure et la forme d'un tissu et d'un organe (structure de la glande digestive, des gonades...). Les productions (sécrétion de mucus par les cellules branchiales..) et cycles cellulaires peuvent également être touchés : cycle de gamétogénèse, stockage des nutriments, gestion des réserves.

Ces effets sont observés au niveau cellulaire ou tissulaire par analyses histologiques effectuées en différé, après intervention sur l'animal. Ils s'opèrent après un temps de latence (quelques jours à quelques mois), peu compatible avec une détection précoce des stress. En revanche, ces techniques d'analyses sont intéressantes pour rechercher les effets à long terme.

- paramètres physiologiques ou comportementaux

La surveillance des grandes fonctions biologiques (respiration, excrétion, alimentation, croissance, reproduction, mort) et des réponses comportementales fournit de nombreux indices de stress (bilan énergétique, consommation d'oxygène, taux de croissance, taux de létalité) relativement simples et applicables à de nombreuses espèces.

- échelle de la population et communauté au sein d'un écosystème

Les études sur les équilibres des populations au sein d'un écosystème s'appuient sur le recensement d'espèces phares, indicateurs écologiques à grand renfort d'indices (indice biotique de Verneaux, indice diatomique, indice oligochète, méthode PICT -pollution inducted community tolerance).

Intégrant l'ensemble des effets des polluants et les réponses adaptatives de l'organisme et de la communauté, l'indicateur écologique témoigne après plusieurs années d'un stress important intervenu sur l'organisme. Sa signification écologique est très forte.

I.1.2. Capteurs biologiques et indicateurs écologiques au service de l'environnement

I.1.2.1. Définitions

Blandin (1986) définit un indicateur biologique comme "un organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence, aussi précocément que possible les modifications naturelles ou provoquées".

La surveillance biologique du milieu se fait à l'aide d'indicateurs écologiques et d'espèces sentinelles de l'environnement.

- bio-indicateurs écologiques

"Ce sont des espèces ou associations d'espèces, capables, par leur disparition, augmentation, ou variation densitaire de rendre compte de l'évolution générale d'un milieu" (Ministère de l'environnement, comité scientifique Faune - Flore, 1978).

Ils renseignent sur la pollution de la biocoenose (ensemble des organismes vivant en interaction au sein d'un écosystème) et fournissent un complément d'informations sur le biotope, partie abiotique de l'écosystème, caractérisée par ses propriétés physico-chimiques (Schlubach, 1993).

Si leur réaction aux pollutions s'opère à long terme - le contaminant doit briser l'équilibre et les interactions entre les différentes espèces - en revanche, leur signification écologique est proportionnelle au nombre d'espèces étudiées (Cairns, 1986). Leur utilisation doit être réservée à une étude à long terme de restauration d'un écosystème (exemple de l'étude menée par les biologistes sur les conséquences écologiques du naufrage de l'Amoco-Cadiz en 1978 sur les côtes bretonnes).

La détermination d'indices biotiques, basés sur la présence et l'abondance de certains groupes ou espèces, est l'un des critères retenus pour évaluer la qualité d'un écosystème.

- bio-capteurs ou animaux sentinelles

Selon le National Research Council (1991), **un bio-capteur est un "dispositif destiné à collecter, systématiquement et régulièrement des données sur des animaux exposés à la pollution environnementale, ces données sont ensuite analysées pour identifier les dangers potentiels pour la santé de l'homme et de l'environnement"** (Rivière, 1993).

La détection est donc fondée sur la mesure d'une ou de plusieurs réponses d'espèces sentinelles, véritables sondes biologiques dans un milieu donné.

Elle s'appuie sur des paramètres biologiques très divers, appartenant à tous les niveaux de l'organisme. Leur sensibilité et la rapidité de réaction est variable. Les méthodologies et les techniques mises en oeuvre pour cette surveillance biologique sont également très nombreuses. Des tests biologiques standards, parfaitement validés sont utilisés en routine pour l'évaluation de la qualité du milieu, tandis que d'autres méthodes plus sophistiquées et parfois encore au stade expérimental, nécessitent un support technique considérable et sont difficilement applicables régulièrement.

Afin d'évaluer la qualité du milieu, les espèces sentinelles peuvent être placées directement in situ. C'est surtout possible pour des espèces aquatiques dont on peut limiter les déplacements. La maintenance doit être aisée et ne pas nécessiter une présence constante. Dans de nombreux cas, les animaux sont maintenus au laboratoire, mais exposés à des échantillons du milieu à tester ("Truitemètre", test daphnies, ou rats auxquels on fait ingérer des petites quantités de matériaux bruts ou des extraits de ces matériaux).

Il semble évident que le choix d'un bio-capteur doit être parfaitement raisonné en fonction du but recherché et des possibilités (disponibilité en organismes sentinelles, assistance technologique, intervention humaine, coûts, faciès du milieu, type de stress incriminé, délais de réaction souhaités, sensibilité et fiabilité).

Dans la suite de notre exposé, nous étudierons les systèmes biologiques d'alarme précoce, détectant principalement les pollutions aiguës ayant des effets visibles à court terme.

1.1.2.2. Quelques exemples de bio-indicateurs

Quelques exemples suffisent à montrer la diversité des systèmes utilisant des espèces sentinelles et les applications envisageables.

Depuis le canari que les mineurs emportaient avec eux, au siècle dernier, au fond des mines de charbon, pour détecter des fortes concentrations de monoxyde de carbone et les avertir rapidement du danger (l'oiseau est vingt fois plus sensible que l'homme au CO), d'autres systèmes ont été imaginés. Certains sont utilisés quotidiennement afin de prévenir et limiter les risques de pollutions. Cet exemple historique est néanmoins très intéressant, car il intègre les notions de détection précoce, mais également d'alarme, avec prévision du risque et donc possibilité de réaction rapide qui limite les conséquences vis à vis de la santé humaine.

Dès le XIX^{ème} siècle, un parallèle est établi entre la disparition progressive des lichens dans le centre des villes et la pollution atmosphérique par le SO₂. Chaque espèce lichénique possède une concentration moyenne annuelle au-delà de laquelle elle ne peut survivre. Lorsque le taux de SO₂ augmente, les espèces les plus résistantes colonisent les niches écologiques laissées vacantes par les espèces les plus sensibles. Lors de fortes pollutions s'établissent fréquemment des populations mono ou bispécifiques. Le recensement des associations lichéniques renseigne sur les concentrations atmosphériques moyennes en SO₂, et permet une zonation des aires polluées. Ces observations biologiques correspondent à 80% aux analyses physico-chimiques (Schlubach, 1993).

En milieu marin, le MUSSEL WATCH fut un des premiers dispositifs biologiques permettant d'évaluer la qualité de l'eau de mer (Goldberg *et al.*, 1978). Les bivalves, en tant qu'organismes filtreurs, bioaccumulent et concentrent les substances toxiques présentes dans l'eau en faibles concentrations. Il est alors plus précis de doser les toxiques dans ces organismes que dans l'eau. Comme les phénomènes de bioaccumulation et d'épuration sont lents, ces bivalves constituent une sorte de "mémoire de l'eau", permettant un suivi à long terme des pollutions marines.

Ce type de programme est en vigueur dans de nombreux pays comme les USA, la Hollande, et la France, où le Réseau National d'Observation de l'Ifremer réalise un suivi de la qualité de l'eau grâce à des mollusques bivalves provenant d'une centaine de points répartis sur tout le littoral. Les analyses portent sur les principaux contaminants rémanents : métaux lourds (zinc, mercure, cadmium, cuivre, plomb), les polychlorobiphényles (PCB), les insecticides de la famille du DDT et du lindane, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH). L'étude se fait ponctuellement par analyses physico-chimiques sur des prélèvements biologiques (hépatopancréas) effectués ponctuellement (une fois par mois en routine). L'information est donc partielle et fournie a posteriori. Elle renseigne essentiellement sur la contamination chronique de ces secteurs. Un autre réseau (Réseau de suivi des Efflorescences Phytoplanctoniques) recherche, à partir de broyat d'hépatopancréas de moules, la présence éventuelle de DSP et PSP, phycotoxines pathogènes pour l'homme.

Sur terre, de nombreuses espèces sauvages jouent également le rôle de sentinelles face aux pollutions. Ainsi, à la suite de l'accident de Tchernobyl, le renne (*Rangifer tarandus*), grand consommateur de lichens et dont la chaîne alimentaire est courte, a montré des taux de césium radioactif largement supérieurs aux seuils admis pour la circulation des denrées au niveau de la CEE. (Moutou, 1993).

Plus communément, les risques que constituent les décharges peuvent être évalués par le surmulot (*Rattus norvegicus*). Présent en abondance sur tout le territoire, il se multiplie sur ces décharges. Omnivore et vivant dans des terriers, il est particulièrement exposé aux

substances toxiques potentielles. Par ailleurs, l'élevage de surmulots dans des conditions semi-naturelles fournit des lots témoins.

Les domaines d'applications des bio-capteurs sont donc variés : s'ils sont déjà largement développés en milieu aquatique, ils trouvent également des applications en milieu terrestre et atmosphérique. Ils permettent, selon le cas, de mesurer des pollutions aiguës ou chroniques et les appréciations sont quantitatives ou qualitatives (fig. 2).

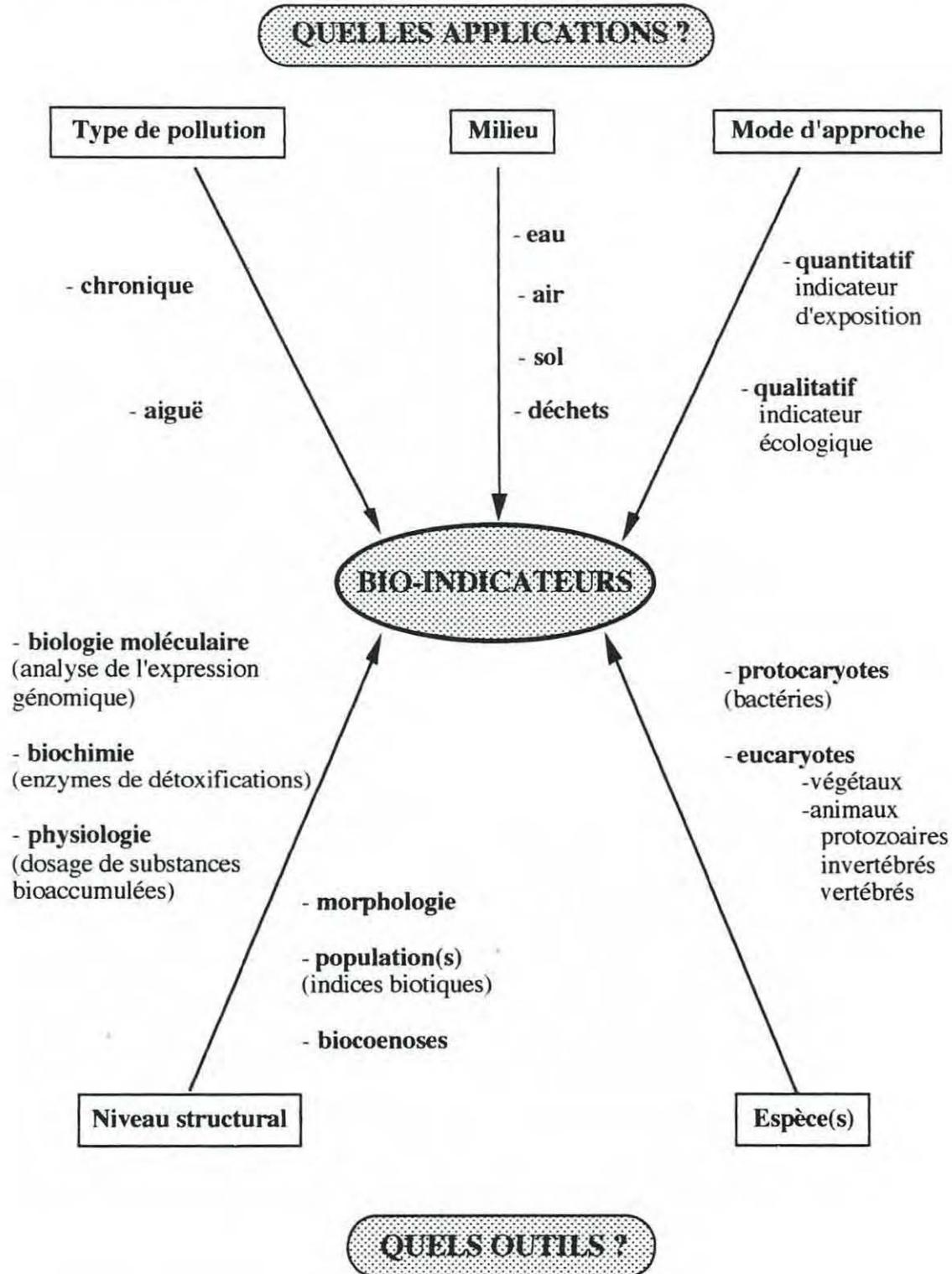


figure 2 : diversité et spécificité des bioindicateurs (Schlubach, 1993)

I.2. LE CONCEPT DE SONDE BIOLOGIQUE D'ALARME PRECOCE EN MILIEU AQUATIQUE ("Biological Early Warning System")

I.2.1. Définition

Il s'agit de systèmes utilisant des organismes vivants comme capteurs biologiques, permettant ainsi d'apprécier de façon **continue**, **automatique**, et **rapide**, la qualité de l'eau et les éventuels apports de polluants.

Les organismes maintenus au laboratoire ou sur le terrain sont exposés à une eau à tester, en continu ou discontinu mais avec un renouvellement fréquent. Un paramètre biologique, généralement physiologique ou comportemental de l'organisme est enregistré automatiquement et en permanence. Dans ce cas, l'individu doit rester en vie.

Le paramètre mesuré est converti en un signal électrique grâce à des transducteurs, puis envoyé vers une interface qui le transcrit en une forme compatible avec un micro-ordinateur ou un moniteur électronique. A partir d'un algorithme pré-défini, l'ordinateur analyse le signal et détermine s'il est normal ou non. Les changements significatifs sont convertis en signal d'alarme, informant l'utilisateur en direct ou déclenchant automatiquement une action correctrice (déclenchement d'un échantillonneur, fermeture de vannes) (fig. 3).

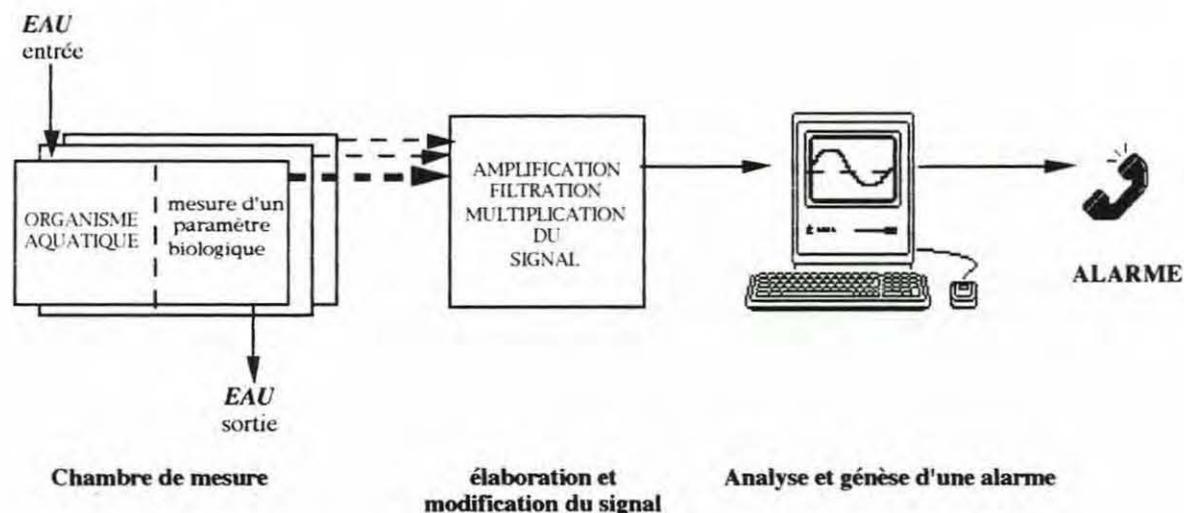


figure 3 : composantes fondamentales d'un biocapteur (d'après Diamond *et al.*, 1988)

La fonction du dispositif est de détecter **automatiquement** et **rapidement** les pollutions **aiguës**. Cairns et Van Der Schalie (1980) ont défini les critères indispensables à un BEWS (Biological Early Warning System).

1- La réponse biologique est quantifiable au niveau électrique. Le paramètre étudié change lors de conditions sublétales et la détection doit être rapide et fiable.

2- Les mesures sont automatiques et continues et se réalisent sans contrainte ni stress pour l'animal.

3- La vitesse à laquelle l'animal réagit, est influencée par un nombre important de critères, notamment la réponse biologique étudiée, la concentration et le mode d'action de la substance toxique ainsi que les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (température, pH, oxygène dissous, salinité, etc.). Un délai de plusieurs heures entre l'introduction de la

substance toxique et la réponse de l'organisme paraît trop grand pour une détection précoce d'un rejet toxique (Cairns *et al.*, 1972 ; Price, 1978).

I.2.2. Critères de choix des organismes utilisés

Les espèces sentinelles sont nombreuses et variées, elles répondent à certaines conditions, indispensables à leur intégration au sein de systèmes biologiques de surveillance.

1- Les organismes choisis présentent une densité de population suffisante autorisant des prélèvements aisés, peu coûteux, sans déséquilibrer la population.

2- Leur aire de dispersion est connue ; les espèces étant, si possible communes aux eaux testées, sans pour autant provenir du même endroit car leur accoutumance fausserait les résultats.

3- Leur maintenance est facile, au laboratoire comme sur le terrain, avec une survie suffisamment longue.

4- Leur biologie est connue, offrant une bibliographie importante, notamment en écotoxicologie avec réalisation de tests de toxicité (voies d'exposition connues, déterminées par l'habitat et les préférences nutritionnelles).

5- Par ailleurs, une transposition à des espèces voisines est envisageable (en fonction des répartitions géographiques).

6- La possibilité de disposer d'animaux témoins, non pollués est également importante.

Comme nous l'avons vu précédemment, le choix de l'organisme sentinelle est fondamental. Le capteur utilisé doit à la fois être de maintenance facile et répondre au plus grand nombre de polluants. Les espèces les plus faciles à cultiver ou à maintenir dans des conditions expérimentales sont souvent assez peu sensibles aux substances toxiques.

S'il est possible de trouver un organisme sensible à plusieurs toxiques dans un rejet industriel précis, un seul organisme répond rarement de façon identique à toutes les substances chimiques pouvant polluer l'eau potable (Brown, 1976). Le recours à une surveillance monospécifique est alors motivé par un désir de simplification du système.

Lorsque les risques sont connus, le ciblage d'une espèce particulièrement sensible au spectre toxique est possible. Par compte, lorsque les risques ne sont pas ciblés, il est quasiment impossible de désigner une espèce optimale. Le risque encouru doit être rapporté à l'objectif du dispositif de surveillance et surtout aux espèces exposées. Dans le cadre de la santé publique, les précautions doivent être redoublées, plusieurs types de bio-capteurs peuvent être installés conjointement.

I.2.3. paramètres étudiés

Chacun présente ses caractéristiques, ses avantages et ses inconvénients. Parmi eux, la facilité de mesure, la sensibilité et la rapidité de la réponse. Les altérations biochimiques ou physiologiques seront plus précoces que les diminutions de l'indice de croissance ou le taux de reproduction. De même, une variation de la consommation d'oxygène sera détectée plus rapidement et pour une concentration de toxiques plus faible qu'une modification de comportement locomoteur ou de fuite (Cairns et Dickson, 1980).

Si les réponses biochimiques ou physiologiques sont théoriquement les plus sensibles, les modifications comportementales sont plus faciles à mesurer et donc propices à une intégration au sein de systèmes de surveillance. Ils sont aussi généralement moins sophistiqués et donc moins coûteux.

Une perte de sensibilité peut intervenir lors d'expositions longues par accoutumance à de très faibles concentrations en polluants. Le "Bluegill sunfish" (*Lepomis macrochirus*) exposé pendant 29 semaines à 1/100 de la CL50 à 96 h du Zn montre une diminution d'activité lors d'un pic de 3 mg/l de Zinc. En revanche, la réponse ventilatoire n'est pas modifiée après 41 semaines de préexposition (Drummond et Carlson, 1977). Le moyen de pallier à cette acclimatation est de changer régulièrement les organismes. Cependant, il est difficile, en pratique, de déterminer la fréquence de renouvellement des animaux : comment faire la distinction entre un animal acclimaté à une certaine concentration d'un polluant et un animal non stressé ? Une solution serait de les changer par moitié.

Les conditions de mesures doivent réduire au maximum les risques de fausses alarmes intervenant en l'absence de pollution de l'eau. De même, le système doit intégrer les variations naturelles de l'eau susceptibles de faire réagir l'organisme en l'absence de pollution ou d'en modifier les effets. Une régulation de ces paramètres de l'eau ou, au moins, une bonne connaissance de leurs valeurs permet d'interpréter les réactions des organismes sentinelles.

Les rythmicités éventuelles doivent également être prises en compte. Par exemple, la ventilation et l'activité du Bluegills augmentent lorsque le cycle diurnal de température passe de 24,8-26°C à 24,8-29,2°C (Cairns *et al.*, 1973a et b, 1974). De même, l'activité operculaire et le métabolisme d'une jeune truite (*Oncorhynchus mykiss*) est affectée par une variation de pH de 6 à 9 (Hargis, 1976).

1.2.4. Contraintes techniques

1.2.4.1. Hydraulique de la chambre de mesure

Le point d'implantation du système de surveillance doit être judicieusement choisi pour intégrer l'ensemble des risques de contaminations et assurer son rôle de témoin anticipé de la pollution. Il tient compte de la particularité de chaque site (géologie, hydrodynamisme) et de ses facilités d'accès pour l'installation et la maintenance du matériel.

Par ailleurs, le taux de renouvellement de la chambre de mesure doit être suffisant pour réduire le délai entre pollution et détection par l'organisme sentinelle. On peut donc augmenter les débits et/ou diminuer le volume de la chambre, sans pour autant confiner les individus.

1.2.4.2. Analyse du signal

Le dispositif est pourvu de méthodes appropriées d'analyses de données. La plage de variation normale du paramètre mesuré est déterminée statistiquement afin de distinguer de manière fiable les réactions anormales de l'organisme.

Un **algorithme statistique** compare les signaux recueillis aux témoins les convertit en alarme lors de dépassement de seuils. L'algorithme intègre les réponses des organismes sentinelles, la biologie de l'espèce, le principe de mesure et le type de traitement statistique choisi (fig. 4).

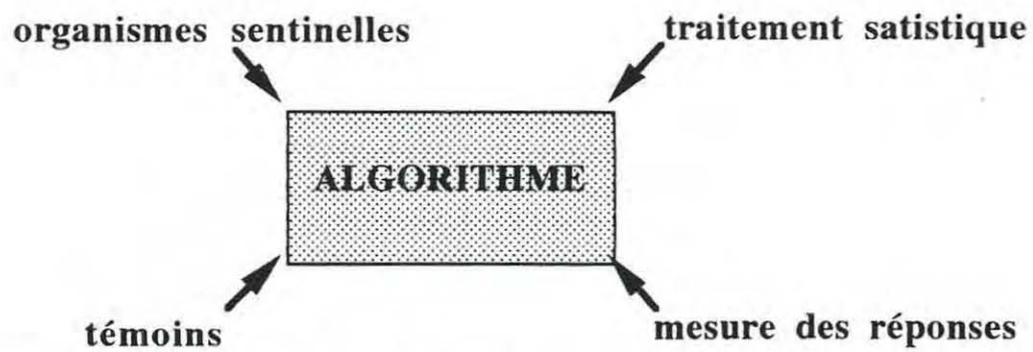


figure 4 : composantes de l'algorithme d'un bio-capteur d'alarme précoce
(Diamond *et al.*, 1988)

I.3. LES PRINCIPAUX SYSTEMES BIOLOGIQUES DE SURVEILLANCE UTILISES EN MILIEU AQUATIQUE

Le développement industriel de systèmes biologiques de surveillance de la qualité de l'eau est relativement récent. Ils utilisent des organismes aquatiques comme intégrateurs des stress produits par la dégradation du milieu. Les dispositifs utilisant les poissons sont les plus nombreux, mais une nouvelle génération de capteurs a vu le jour, elle exploite les réponses d'invertébrés macroscopiques et d'organismes microscopiques (phytoplancton, bactéries...).

I.3.1. Systèmes utilisant les poissons

Ce sont les plus anciens et les plus nombreux. Ils utilisent des réponses biologiques variées : létalité, ventilation operculaire, activité natatoire, activité cardiaque ... En outre, chaque dispositif diffère par les espèces qu'il emploie, le nombre et la taille du poisson, mais aussi la durée de la période de surveillance, la calibration des mesures et le traitement du signal (Cairns et Gruber, 1980).

I.3.1.1. Système détectant la mort

L'observation d'un grand nombre de poissons morts flottants à la surface d'un bassin constitue un signal d'alarme face à une altération du milieu. Des dispositifs automatiques détectant la mort du poisson ont été imaginés, intégrant une diminution de leurs déplacements ou la détection des poissons flottants à la surface ou obstruant les grilles de sortie du bassin et provoquant une augmentation de la hauteur d'eau.

I.3.1.2. Système basé sur le comportement locomoteur

Toute modification anormale du comportement locomoteur du poisson peut être le signe d'une pollution. Divers systèmes ont été utilisés pour suivre ces variations (augmentation ou diminution de l'activité, type de déplacement, orientation, changement de direction, préférence et fuite...).

Les moyens techniques mis en oeuvre sont extrêmement variés : interruption d'un rayon lumineux (visible ou infra-rouge), enregistrement d'un courant induit par des électrodes implantées sur le poisson, détection d'un potentiel électrique corrélé à la condition physiologique du poisson, surveillance vidéo, détection des turbulences générées par l'activité du poisson, fréquence de collision avec un capteur immergé, etc. (Kramer et Botterweg, 1991).

Sur la Loire, une station de surveillance de l'eau potable est équipée d'un détecteur biologique de pollution à effet doppler "TRUITOSEM" (licence Société des eaux de MARSEILLE). L'eau à tester passe dans un bac où sont placées une quinzaine de truitelles, deux sondes immergées à chaque extrémité du bac créent un champ ultrasonique stationnaire. Par effet Doppler, le mouvement des animaux est transformé en un signal sonore audible et en un signal analogique 4-20 mA. En cas de pollution, le changement de comportement des animaux entraîne une variation du signal sonore et électrique, déclenchant aussitôt une pré-alarme. La simplicité de ce système en fait un atout. La détection est automatique et continue. Le nombre important de poissons témoins limite les fausses alarmes.

1.3.1.3. Capteur rhéotaxique

Son principe est simple. Les poissons ont une tendance naturelle à remonter le courant (rhéotaxie positive). En présence de polluants, le poisson tente de fuir et nage avec le courant ou il est rapidement intoxiqué et ne parvient plus à remonter le courant (rhéotaxie négative) (Koeman, Poels et Slooff, 1978).

Le dispositif se présente sous la forme d'une chambre soumise à un flux contrôlé d'eau et contenant des poissons. Le débit peut être modulé, avec alternance de phases de courant rapide et de phases de repos (Juhnke et Besch, 1971). En aval de la chambre, des capteurs (cellule photo-électrique, capteurs de mouvements ...) sont activés par les poissons entraînés par le courant (Waller et Cairns, 1972 ; Poels, 1975 ; Van Hoof, 1980 ; Morgan, 1977) (fig. 5).

Afin de réduire les fausses alarmes déclenchées par des poissons sains, un choc électrique léger ou une forte lumière tendent à les stimuler pour reprendre leur nage à contre-courant. Une étude réalisée aux Pays bas avec ce type de capteur a décelé 10% de faux positifs (alarme sans mise en évidence de polluants) (Botterweg *et al.*, 1989). Les résultats obtenus (tableau 2) confirment la bonne sensibilité de ce système, détectant des toxiques à des doses beaucoup plus faibles que les doses létales.

Tableau 2 : concentrations en polluants détectées par un bio-capteur basé sur la rhéotaxie des poissons, installé sur le Rhin, à la station de Lobith (d'après Vindimian et Garric, 1993).

date	substances toxiques	concentration (mg/l)	CL50 à 96h (mg/l)
15/4/1988	Isophorone	26	220
06/7/1988	Isophorone	3	220
26/10/1988	Tétrachloroéthane	10	37
	Tétrachloroéthène	0,2	5
	Fluoranthène	0,4	4
	Pyrène	0,3	0,0026
	Paraoxon équivalents	1,3	-
06/2/1989	Trioxane	2	-
	Fluoranthrène	0,5	-
	Pyrène	0,4	0,0026
	Alcoxyalcane	0,5	-
	Terpénoïde	0,5	-

1.3.1.4. Systèmes mesurant la fréquence ventilatoire

De nombreux polluants provoquent une augmentation de la fréquence ventilatoire et des troubles du rythme. A partir de ce principe, divers systèmes ont été imaginés (Cairns et Gruber, 1980). Dans les plus anciens, des électrodes étaient directement fixées sur les poissons (Sparks *et al.*, 1972 ; Health, 1972). D'autres, plus récents utilisent la mesure des variations de tension électrique liées au mouvement des ouïes d'un poisson situé entre deux électrodes placées dans le bac et parallèles à son corps (Evans *et al.*, 1986b ; Evans et Solman, 1985).

Outre la fréquence ventilatoire, des informations peuvent être obtenues sur la dépression respiratoire et l'expiration (Van der Schalie et Zeeman, 1988 ; Drummond et Carlson, 1977). Il est également possible de détecter les battements cardiaques (Evans et Walwork, 1988).

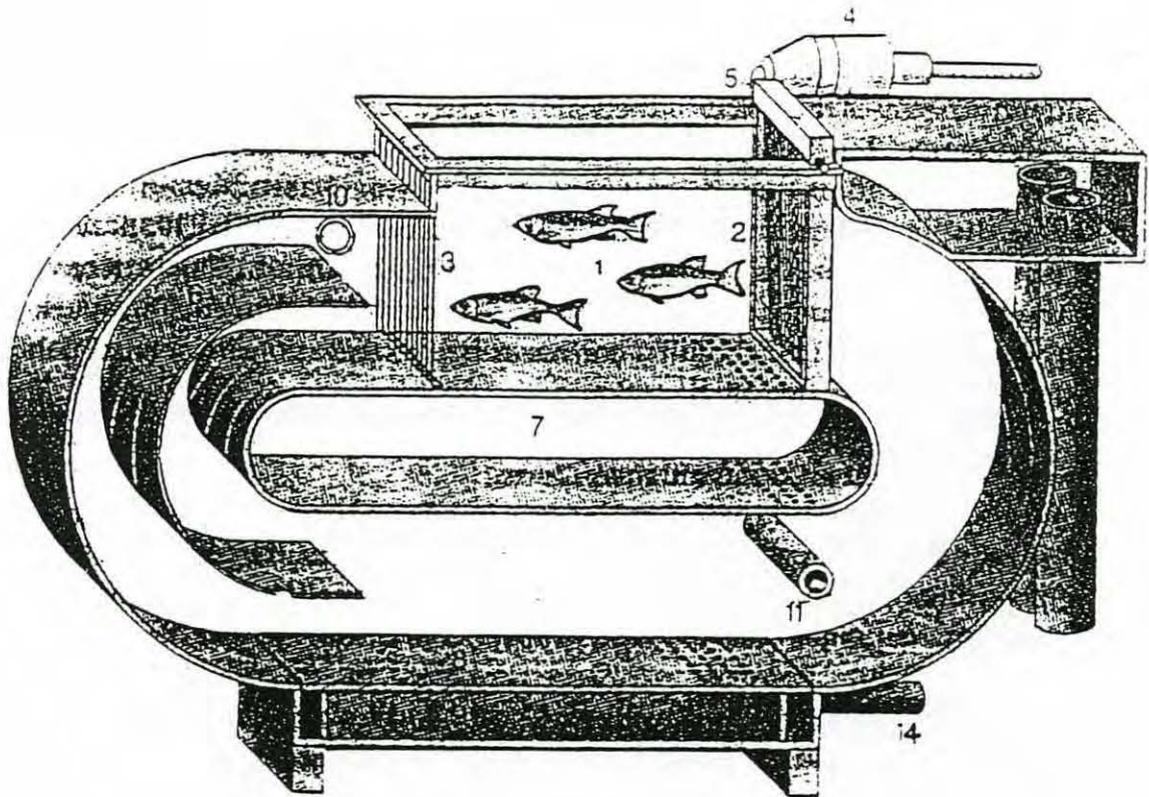


Figure 5 : un exemple de système basé sur la rhéotaxie des poissons (Kramer et Botterweg, 1991)
 (1) chambre de mesure, (2) détecteurs de contact, (3) écran, (4) détecteurs de pression,
 (10) arrivée d'eau, (11) flux laminaire, (14) sortie d'eau.

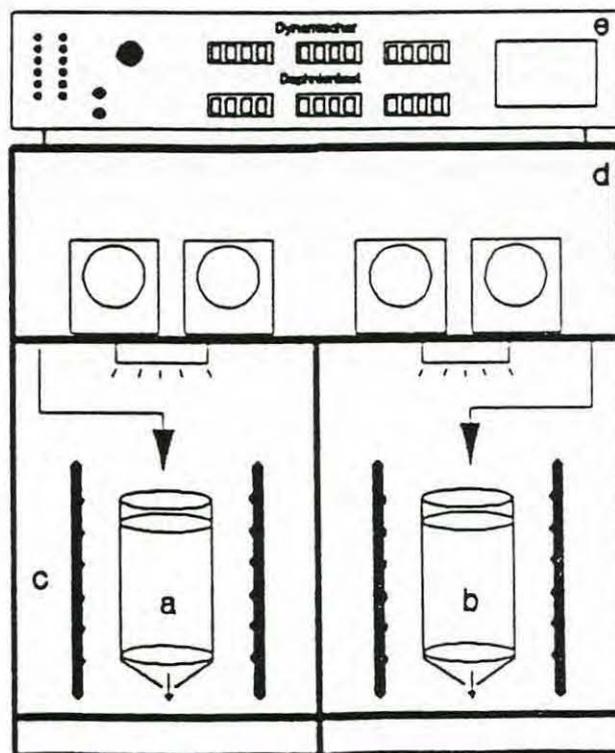


Figure 6 : schéma du système "Daphnie-Test" (Kramer et Botterweg, 1991)
 (a) et (b) chambres de mesure, (c) émetteurs et détecteurs de lumière,
 (d) pompes, (e): électronique.

Enfin, d'autres dispositifs sont basés sur l'activité électrique de certains poissons. *Gnathonemus petersi* répond à une pollution par une chute d'activité électrique et une diminution de la fréquence des pulsations électriques (Geller, 1984).

I.3.2. Bio-capteurs utilisant des organismes microscopiques

I.3.2.1. Les daphnies

Les daphnies, petits crustacés aquatiques, sont sensibles à une large gamme de substances chimiques. Ils sont utilisés dans plusieurs tests de toxicité. En outre, un détecteur biologique, le "Daphnia-Test" permet de mettre en évidence des doses sublétales de polluants (Knie, 1978 et 1982).

Le système détecte et analyse l'activité des daphnies dans une colonne d'eau. Des sources lumineuses et des détecteurs sont placés en regard de chaque côté d'un tube vertical où circule l'eau à tester (fig. 6). Le principe de détection est basé sur le nombre de rayons lumineux interrompus par les daphnies par unité de temps. Une diminution de ce nombre signe une altération de l'activité des crustacés et donc une dégradation du milieu.

Un capteur impédancemétrique utilisant daphnies et larves d'insectes (*Chironomus sp.* ou *Tnytarsus sp.*) a également été imaginé. Les variations d'impédance sont liées aux mouvements des fluides corrélés aux activités natatoires et respiratoires des invertébrés (Heinis et Swain, 1986 ; Heinis *et al.*, 1990). Ce système s'est révélé très sensible aux insecticides organophosphorés et aux métaux lourds comme le cadmium.

I.3.2.2. Bio-capteur algal

L'utilisation d'organismes phototrophes (phytoplancton) semble judicieux pour détecter des apports de pesticides. Plusieurs approches ont été réalisées : détection de la fluorescence (Noack *et al.*, 1985 ; Benecke *et al.*, 1982), inhibition du taux de croissance (Ostgaard *et al.*, 1984) ou changements morphologiques (Cairns *et al.*, 1982).

Une bioélectrode algale a été mise au point à l'université de Metz (Pandard *et al.*, 1992). Des cellules phytoplanctoniques sont exposées à une source lumineuse qui initie la photosynthèse. La production d'oxygène est mesurée en direct par une électrode qui fournit un signal en temps réel proportionnel à l'activité photosynthétique (fig. 7). Les premiers résultats obtenus montrent une bonne sensibilité de ce type de mesures. Le capteur se présente sous la forme d'une électrode d'une durée de vie d'une semaine environ. Elle peut être utilisée sur le terrain et permet de suivre en direct l'état de la production primaire.

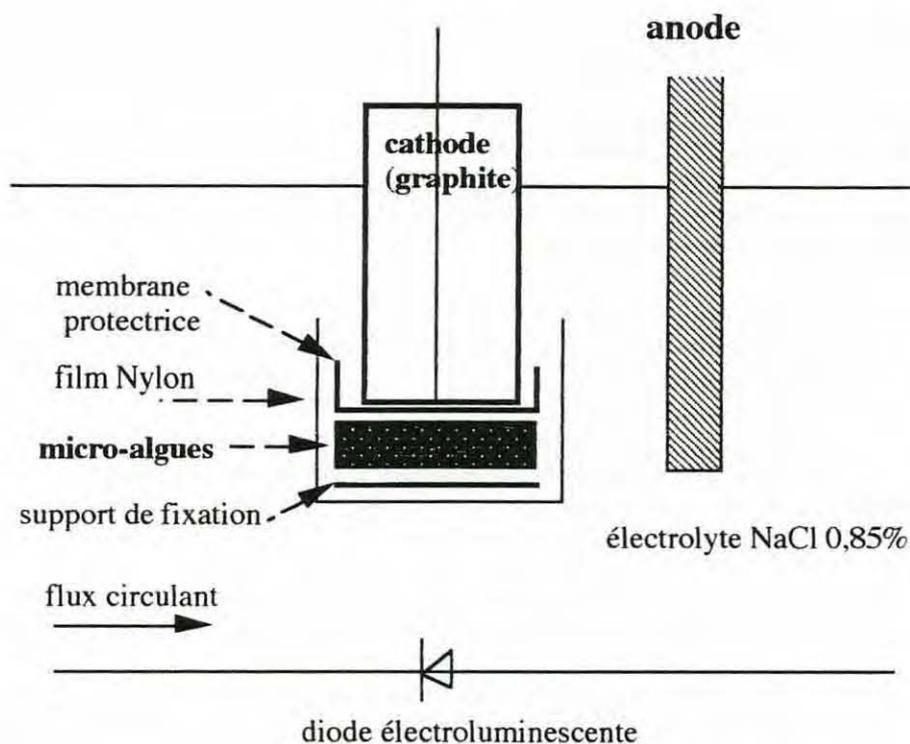


figure 7 : bio-capteur basé sur la production d'oxygène par des algues unicellulaires (d'après Vindimian et Garric, 1993)

1.3.2.3. Surveillance biologique par les bactéries

L'activité respiratoire, la demande biologique en oxygène de bactéries en suspension, sur substrat ou filtre biologique ont été utilisées au sein de détecteurs biologiques de pollution (Clark *et al.*, 1977 ; Shieh et Yee, 1985 ; Martin, 1988). Dans des travaux plus récents, certaines bactéries ont été incorporées à des électrodes permettant un suivi en temps réel de leur activité, par exemple, la production de CO₂ par *Escherichia coli* immobilisée à la surface d'une électrode (Dorward et Barisas, 1984).

Enfin, certains dispositifs mesurent la luminescence de bactéries telles que *Photobacterium phosphoreum*. Une pollution réduit la production de lumière (Bulich, 1979). La méthode a été standardisée au sein des systèmes "Microtox" (Beckman, 1978) et "Lumis Tox" (Link, 1988).

1.3.3. Utilisation des bivalves

1.3.3.1. Particularités biologiques

Les mollusques bivalves, sont des espèces dominantes des communautés littorales et estuariennes. Leur large répartition géographique en eau douce comme en eau de mer, permet leur intégration au sein de systèmes biologiques de détection des pollutions, en limitant les problèmes inhérents aux comparaisons interspécifiques.

Leur sédentarité en fait des individus particulièrement exposés aux contaminations variées d'un site donné (pollutions organiques et minérales, germes pathogènes, phytoplanctons toxiques) (fig. 8). Sessiles, ils colonisent les zones interditaies et sont pour

la plupart euryhalins. Ils sont relativement tolérants à un large éventail de conditions environnementales (température, niveau d'oxygène ...), sans pour autant y être insensibles.

En tant que filtreurs, ils "drainent" d'importants volumes d'eau (plusieurs litres par heure) et concentrent dans leurs tissus les substances chimiques présentes en faible quantité dans l'eau (concentration d'un facteur 10 à 10^5). La recherche de toxiques intratissulaire est plus facile et précise que dans l'eau ou les sédiments. Par ailleurs, elle permet d'évaluer l'impact biologique des substances.

Les populations de mollusques et plus particulièrement de moules sont relativement stables ce qui permet d'effectuer des prélèvements répétés sans déséquilibrer leurs populations. Des suivis à court et long terme sont donc possibles.

De maintenance facile, ils peuvent être transplantés sur d'autres sites, intertidaux ou subtidaux dans des structures fabriquées, alors qu'en temps normal ils ne peuvent s'y implanter faute de substrat adapté. De même, leur élevage en conditions expérimentales au laboratoire ne pose pas de problème majeur.

Par ailleurs, de nombreuses espèces de bivalves sont convoitées par les consommateurs et la recherche de contaminants est fondamentale pour la santé publique.

Ainsi, la moule est utilisée dans la plupart des réseaux de surveillance de l'environnement littoral de nombreux pays comme les USA avec "The Mussel Watch", la Hollande ou la France avec les RNO (réseau national d'observation) et REPHY (réseau d'étude des phytoplanctons toxiques) de l'Ifremer.

Mais ces réseaux effectuent des recherches ciblées de contaminants préalablement listés. Or le nombre de substances toxiques et de produits de dégradation est quasiment illimité. Les analyses sont donc restreintes à des polluants courants, d'action connue, faciles à mettre en évidence pour un coût abordable pour des tests en grande série. Par ailleurs, les renseignements sont fournis a posteriori. L'intervention est donc limitée et certains dommages restent inévitables en raison des délais. D'où l'importance de mettre en place des systèmes biologiques de détection rapide des pollutions, donnant l'alerte dès la présence de toxiques.

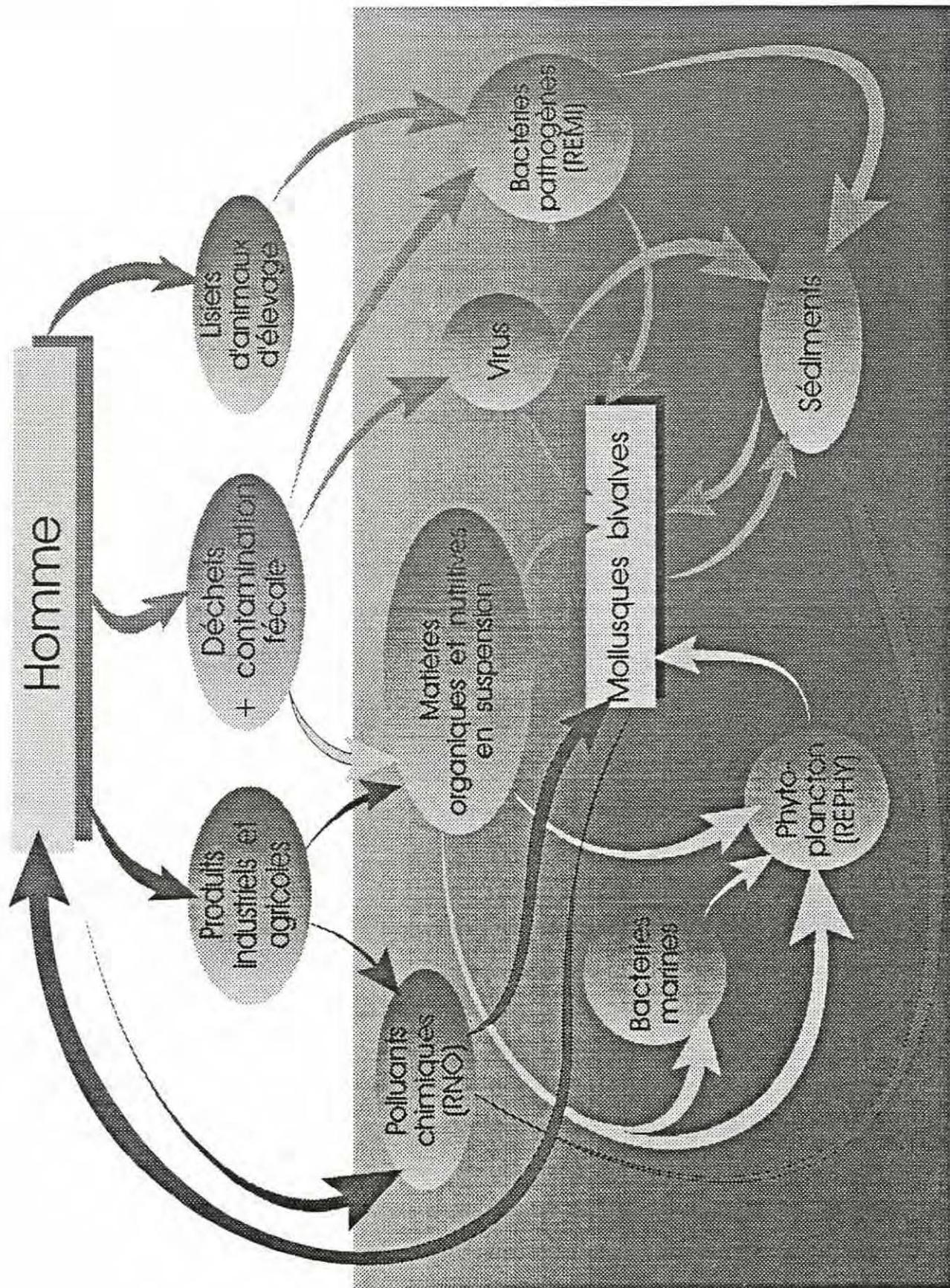
1.3.3.2. Paramètres biologiques utilisés

Les réponses des bivalves utilisables pour détecter les pollutions sont nombreuses et variées.

1- Elles doivent être sensibles à des taux de polluants existant ou pouvant exister dans le milieu naturel et présenter un spectre de réactions gradué entre les conditions optimales et létales.

2- Le temps de réponse doit être le plus court possible. Nous retiendrons donc les effets à court terme avec un temps de latence de quelques heures à quelques jours maximum.

3- Les techniques développées doivent pouvoir s'appliquer, autant que possible, au laboratoire et, à l'idéal sur le terrain.



IFREMER / DELUST Séle
C.LB.93 d'après C.VIVARES 1990

figure 8 : exposition des mollusques bivalves aux contaminants

- réponses létales

C'est un des tests toxicologiques fréquent employé au laboratoire (détermination de la CL50 à 96 heures par exemple). La mort du bivalve entraîne un relâchement du muscle adducteur qui se traduit par une "ouverture" largement supérieure à la normale.

Toutefois, les bivalves adultes ont la capacité de s'isoler de façon prolongée (plusieurs jours) d'un environnement toxique par fermeture complète de leurs valves. En conséquence, les valeurs fournies par une CL50 sont relativement élevées.

L'utilisation de larves pélagiques d'huîtres ou de moules est courante dans les tests de surveillance de la qualité de l'eau (effluents, rejets, extraits de sédiments, eau de mer) (Martin *et al.*, 1981 ; Klockner *et al.*, 1985). Les embryons sont simplement incubés dans les échantillons d'eau à tester, à température constante pendant une durée convenue. Le nombre de larves atteignant et dépassant le stade larvaire D (premier stade avec ébauche de coquille) est recensé puis le taux de létalité déduit (tableau 3).

Tableau 3 : Concentration induisant un développement larvaire anormal pour 50% des embryons de *M. edulis* après 48h d'exposition (d'après Martin *et al.*, 1981).

substances toxiques	Ag	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn
concentration (microg/l)	14	>3000	1200	4469	5,8	5,8	891	476	>10000	175

Dans certains cas comme la survie et la croissance, les bivalves adultes sont plus sensibles que les stades larvaires. Grâce à leurs réserves, les adultes survivent parfois plusieurs mois à des substances toxiques, toutefois, des effets létaux à long terme peuvent être prédits par un bilan énergétique négatif (Widdows *et al.*, 1987b ; Widdows et Johnson, 1988).

Les adultes semblent 10 fois plus sensibles que les larves au cuivre (Beaumont *et al.*, 1987), hydrocarbures (Widdows *et al.*, 1987b), et produits de vidange (Butler *et al.*, 1990) ; et 4 fois plus au TBT (Page et Widdows, 1992). Deux hypothèses sont avancées : les premiers stades larvaires vivent sur les réserves énergétiques de l'oeuf et non sur une alimentation directe. Par ailleurs, le système nerveux qui est un site d'action préférentiel de nombreux polluants n'est pas encore développé (Widdows et Donkin, 1992).

- croissance des tissus et de la coquille

Les indices de croissance permettent d'évaluer les performances de l'individu. Ils posent quelques difficultés chez les bivalves car une large proportion peut être perdue sous forme de gamètes. De plus, il n'y a pas d'étroite corrélation entre la croissance valvaire et celle du soma et des gonades. Il est par ailleurs difficile de distinguer les effets de la nourriture (qualité et quantité) de l'action sublétales de contaminants car un suivi à long terme des apports nutritifs est lourd à mener.

Toutefois, l'utilisation de la croissance des valves et des tissus comme détection des épisodes toxiques a été réalisée avec succès, sur des larves ou des juvéniles, pendant de courtes périodes. Calabrese (1977) montre non seulement une réduction du taux de croissance de larves d'huîtres (*Crassostrea gigas*) et de clams (*Mercenaria mercenaria*) en présence de métaux, mais aussi un écart de tolérance entre les stades embryonnaires et juvéniles. Dans l'eau, la phase larvaire planctonique s'accompagne de fortes mortalités dues à la prédation, aux maladies et dispersions. Tout facteur réduisant le taux de croissance larvaire allonge ce stade de développement et a de lourdes conséquences sur les chances de

survie des individus. Stromgren (1982, 1986, 1987), a déterminé les concentrations de différents toxiques réduisant de 50% la croissance valvaire de juvéniles de *Mytilus edulis* (tableau 4)

Tableau 4 : Concentrations en polluants entraînant une réduction de 50% de la croissance valvaire de juvéniles de *Mytilus edulis* (d'après Stromgren, 1982 et 1986).

toxiques	concentrations dans l'eau (microg/l)
Cu	4
Cd	100
Hg	0,4
Zn	60
Pb	>200
Ni	>200
TBT	0,2
Hydrocarbures	1500

Le TBT réduit également la croissance tissulaire de juvéniles de *Mytilus edulis* (10 mm) à des concentrations supérieures à 0,2 microg/l de TBT soit 10 microgrammes de TBT par gramme de poids sec (Salazar et Salazar, 1992). A des concentrations inférieures à 0,1 microgrammes/l de TBT, les facteurs environnementaux masquent ou modifient les effets du TBT.

La forme et la structure des coquilles de bivalves sont également un indicateur de pollution. Chez *Crassostrea gigas*, la production de multiples chambres dans la coquille, fragilisant celle-ci, est due spécifiquement au TBT provenant des peintures anti-salissures. Des déformations interviennent également sur les coquilles de moules.

- bilan énergétique ("scope for growth")

Il s'agit de l'énergie disponible pour la croissance somatique et germinale. La mesure directe de la croissance et des productions est particulièrement difficile chez les bivalves. Elle est établie de façon indirecte, à partir du bilan énergétique fourni par l'équation de Winberg (1960).

$$C = P + R + E + F$$

- avec C = total de l'énergie apportée par les aliments
 P = énergie destinée à la production tissulaire, gamètes et coquille
 R = énergie dépensée dans la respiration
 E = énergie perdue en excrétion
 F = énergie perdue en fèces

soit encore :

$$P = A - (R + E)$$

avec A = ration énergétique absorbée : $A = C - F$

Le bilan énergétique est maximal dans des conditions optimales mais peut être négatif lors de stress où l'animal consacre ses réserves pour sa maintenance.

Alors que la mesure directe de la croissance ne permet pas de détecter immédiatement les modifications environnementales, le bilan énergétique est un témoin fiable du statut de l'individu et des divers composants de la croissance dans des conditions variables (Bayne *et*

al., 1985). C'est un indicateur de stress intéressant car il constitue une intégration de la réponse générale de l'organisme aux stimuli extérieurs, notamment aux stress naturels et anthropiques.

L'effet de stress sur le bilan énergétique a été largement étudié depuis quelques années. Widdows et Bayne (1971) l'ont utilisé comme indicateur de stress au laboratoire, et plus récemment, sur le terrain, en réponse à des modifications naturelles ou à des pollutions de l'environnement (Bayne *et al.*, 1979 ; Widdows *et al.*, 1981b).

D'après Gilfillan (1975 et 1976), le bilan énergétique, exprimé en terme de flux de carbone plutôt qu'en énergie chute, sous l'action d'hydrocarbures, dans trois espèces de bivalves (*Mytilus edulis*, *Modiolus demissus* et *Mya arenaria*).

Une diminution du bilan peut être due à une réduction de l'apport énergétique : par réduction du taux de nutrition, de la quantité d'aliments disponibles pour les cellules ou des capacités de digestion et d'absorption des nutriments ; et/ou à une augmentation des pertes énergétiques par augmentation de la respiration ou de l'excrétion .

Toute modification d'une des composantes se répercute sur l'équation globale et sur le bilan énergétique. Toutefois, c'est l'ensemble des mécanismes physiologiques qui est à considérer. Par exemple, une augmentation du taux de respiration, et donc d'énergie perdue, peut être une réaction adaptative à une augmentation de la consommation. Dans ces conditions, le surplus énergétique, compense l'énergie respiratoire perdue, et augmente le taux de croissance. A l'inverse, une hausse de l'activité métabolique résultant d'une contamination par des hydrocarbures (pétrole) se traduit par une réduction de l'apport alimentaire et entraîne une chute du taux de croissance pouvant être interprétée comme un stress.

Toute interprétation de réponse physiologique doit intégrer les effets de paramètres extrinsèques (variations normales des paramètres naturels de l'environnement : température, salinité oxygène dissous, qualité et quantité de matières en suspension, lumière, courant...) et intrinsèques (taille, âge, stade reproducteur, statut nutritionnel).

Mytilus edulis est un organisme intéressant puisque sa physiologie est peu altérée par des variations naturelles modérées du milieu et qu'elle peut répondre à des stress dus à des substances polluantes ou à des variations trop importantes de la qualité du milieu (Bayne *et al.*, 1985).

- respiration

Elle représente la part des apports utilisée pour produire l'énergie nécessaire au métabolisme de l'organisme (consommation d'oxygène, production de CO₂ et de chaleur). Son appréciation la plus simple est la mesure de l'oxygène consommé. Elle est réalisée à l'aide d'oxymètres, en milieu confiné ou ouvert. Pour les bivalves, la contrainte majeure est de limiter le volume et le débit (en circuit ouvert) d'eau des bacs de mesure, afin de visualiser la chute de pression partielle en oxygène dissous dans le milieu (une moule dans des conditions normales respire 0,2 ml d'O₂ par gramme de poids sec et par heure).

Bayne *et al.* (1985) insistent sur le fait que la mesure de la consommation d'O₂ n'est interprétable que si elle est corrélée à celle d'autres paramètres biologiques tels que le comportement, la filtration et la nutrition.

Ainsi, la littérature concernant les effets des hydrocarbures sur la respiration d'organismes aquatiques apporte des observations contradictoires d'augmentation et de diminution du taux de respiration (Johnson, 1977). En fait, lorsque le comportement est étudié simultanément, il apparaît que l'effet direct des hydrocarbures est une augmentation de

la respiration, contrebalancée par la suppression d'activité, la fermeture ou l'isolement des organismes lorsque les concentrations en hydrocarbures augmentent.

-filtration

L'enregistrement de l'activité de filtration des moules (par mesure du courant d'eau au niveau du siphon, de l'ouverture valvaire, ou des écarts de concentrations en particules), donne de bonnes indications sur la présence éventuelle de produits contaminants (Abel, 1976). Il semble que les siphons inhalants et exhalants soient sensibles à certaines substances chimiques et y répondent par leur fermeture.

Les effets du cadmium, cuivre, mercure, plomb et zinc ont été étudiés en enregistrant le flux d'eau sortant du siphon exhalant (Salanki *et al.*, 1991). La force de ce courant est proportionnelle à l'ouverture du siphon et peut être enregistrée (Vero et Miller, 1979). Même lors de l'ouverture du siphon, de petites vagues de contractions correspondant à des changements réguliers de courant palléal sont enregistrables. Par moment, des fermetures rapides et brèves du siphon interviennent sans aucune autre réaction visible. Parfois, celles-ci sont corrélées à des fermetures temporaires des valves, dues à une contraction rapide des muscles adducteurs. Dans ce cas, un courant de plus grande intensité est enregistré. Périodiquement, une fermeture plus longue du siphon peut intervenir.

Sous l'effet de 0,2 mg/l de Cd^{2+} , on remarque quelques pics correspondant à la fermeture du siphon exhalant. A 1,2 mg/l, le courant sortant est plus irrégulier, avec des phases de diminution et de fermeture du siphon. L'adjonction de plomb à 0,2 mg/l entraîne des fermetures du siphon avec arrêt de la circulation d'eau pendant 1 minute environ toutes les 2 à 3 minutes. A fortes concentrations de plomb (0,4 mg/l), le siphon reste fermé. Le zinc montre une relation dose-effet nette. A basse concentration (0,78 mg/l), on note des pics de fermetures de très courte durée. A 12,2 mg/l, les fermetures sont régulières, d'une durée de deux minutes, tandis qu'à 50 mg/l, le siphon est fermé, excepté quelques ouvertures erratiques (Salanki *et al.*, 1991).

-fréquence cardiaque

L'activité cardiaque est quantifiée par la mesure de la fréquence des battements cardiaques, facilement enregistrables en continu. *Mytilus edulis* et *Ostrea edulis* maintenues dans des conditions stables ont une fréquence cardiaque constante. D'où l'intérêt d'utiliser la fréquence cardiaque pour déceler les apports de substances toxiques (Akberali et Black, 1980 ; Akberali et Trueman, 1985).

Plusieurs systèmes ont été imaginés, ils ont permis de valider la bonne sensibilité de ce paramètre aux variations de qualité de milieu. Trueman (1967) a mis au point une méthode d'enregistrement de la fréquence cardiaque par mesure de l'impédance à l'aide de deux électrodes positionnées à travers la coquille, de chaque côté du coeur.

Lors de chute d'oxygène dissous, la fréquence cardiaque du clam *Noetia ponderosa* diminue (Deaton et Mangum, 1978). La relation entre mouvements valvaires, filtration et battements cardiaques a été mise en évidence en 1917 par Koch. Les périodes de fréquence cardiaque élevée correspondent aux phases d'activité avec large ouverture valvaire et intense filtration et les périodes de quiescence s'accompagnent de bradycardie.

- sondes biologiques enregistrant les mouvements valvaires

La coquille des bivalves constitue un exosquelette, barrière de protection du mollusque vis à vis d'un milieu extérieur vivant riche en dangers de toute sorte (prédation, choc, altérations naturelles ou anthropique de la qualité du milieu). L'ouverture valvaire

passive, imposée par le ligament valvaire, peut être réduite activement par contraction des muscles adducteurs postérieurs essentiellement, solidement fixés à la coquille et commandés par les ganglions viscéraux (Grassé, 1960).

L'observation de quelques moules dans un aquarium suffit à constater que les bivalves, ouverts la majeure partie du temps en situation normale pour respirer et s'alimenter, se ferment rapidement en présence d'un danger, mécanique ou physico-chimique.

Les mouvements valvaires sont faciles à observer et à mesurer, sans intervention majeure ni traumatisante sur l'organisme. Ils sont donc prédisposés à une intégration au sein d'un dispositif technique permettant leur enregistrement automatique et en continu sur de longues périodes.

Dès 1909, Marceau imaginait un système mécanique permettant de tracer, sur un cylindre de thermomètre enregistreur, les mouvements valvaires de différents bivalves. Plus récemment, His (1970) conçut un "ostréographe" avec lequel il étudia, entre autres, le comportement valvaire des huîtres au cours de la ponte.

Depuis, les dispositifs ont suivi les progrès de la technique : jauges de contrainte (Fujii, 1977 ; Djangmah, 1979 ; Higgins, 1980) et plus récemment, des systèmes basés sur une induction électromagnétique (Schuring et Geense, 1972 ; Slooff *et al.*, 1983 ; Jenner *et al.*, 1989).

D'abord limités à une conception artisanale réservée à des expérimentations uniques au laboratoire, deux appareils sont aujourd'hui commercialisés, comme systèmes de détection des variations de qualité de l'eau.

Le premier, appelé "Mosselmonitor", est proposé par la société hollandaise Delta-Consult depuis 1991. Tout récemment (1993), un chercheur de l'Ifremer a mis au point un appareil analogue utilisant un capteur original. Le "valvomètre" français est commercialisé par la Société Micrel à Hennebont.

L'intérêt des biologistes pour ces systèmes est important. L'Ifremer a fait l'acquisition de ces deux appareils, les applications directes ou indirectes envisagées sont nombreuses.

Mais, l'utilisation pratique de ces appareils sophistiqués par l'électronique et la programmation qui les accompagnent ne peut s'envisager avant une validation, aussi bien technique que biologique. Elle a constitué nos recherches expérimentales, à la station IFREMER de La Trinité-sur-mer, entre 1992 et 1994.

DEUXIEME PARTIE

**VALIDATION EXPERIMENTALE DE DEUX BIO-CAPTEURS
ENREGISTRANT LES MOUVEMENTS VALVAIRES
DES BIVALVES**

II. VALIDATION EXPERIMENTALE DE DEUX BIO-CAPTEURS ENREGISTRANT LES MOUVEMENTS VALVAIRES DES BIVALVES

II.1. DESCRIPTION DES APPAREILS UTILISES

II.1.1. Le valvomètre MOSSELMONITOR

II.1.1.1. Présentation générale

Le valvomètre hollandais "Mosselmonitor" est fabriqué par la société Delta-Consult depuis 1991 d'après un projet élaboré en coopération avec l'institut national hollandais de santé publique et de protection de l'environnement (RIVM), et deux laboratoires de recherche (TNO et KEMA).

Il se présente sous la forme d'une structure cylindrique en polyéthylène de 30 kg (hauteur 50 cm et diamètre 30 cm) abritant des composants électroniques (fig. 9 et photo 1). L'appareil est étanche, immergeable jusqu'à 15 m, une garde (capuchon grillagé) peut protéger la partie supérieure lors d'enregistrements *in situ*.

Un connecteur électrique, branché sur le dessus de l'appareil assure l'alimentation (secteur, batterie, solaire) et permet la circulation des informations (mesures, alarmes...). Afin d'enregistrer en continu les écartements valvaires, l'appareil doit obligatoirement être connecté en permanence à un micro-ordinateur équipé d'un logiciel de communication qui réalise l'acquisition des données.

A l'extrémité supérieure, les moules, huit au maximum, sont collées verticalement sur un support en PVC. Leurs écartements valvaires respectifs sont mesurés grâce à deux électrodes, l'une fixée sur une des valves, l'autre placée en regard sur la paroi en PVC (photo 2). Les capteurs sont reliés au boîtier électronique par des petits câbles électriques (figure 10).

II.1.1.2. Principe de fonctionnement du valvomètre

Le valvomètre "Mosselmonitor" mesure l'écartement valvaire grâce aux deux électrodes fixées de part et d'autre du coquillage. L'une émet le champ magnétique créé par un courant électrique à haute fréquence (500 KHz), la seconde intercepte une partie de ce champ qui induit un courant inversement proportionnel à la distance entre les capteurs (fig. 11). Le signal reçu est rectifié et digitalisé par un convertisseur analogique/numérique. Un microprocesseur (Eurolog Z80) recueille et traite les données.

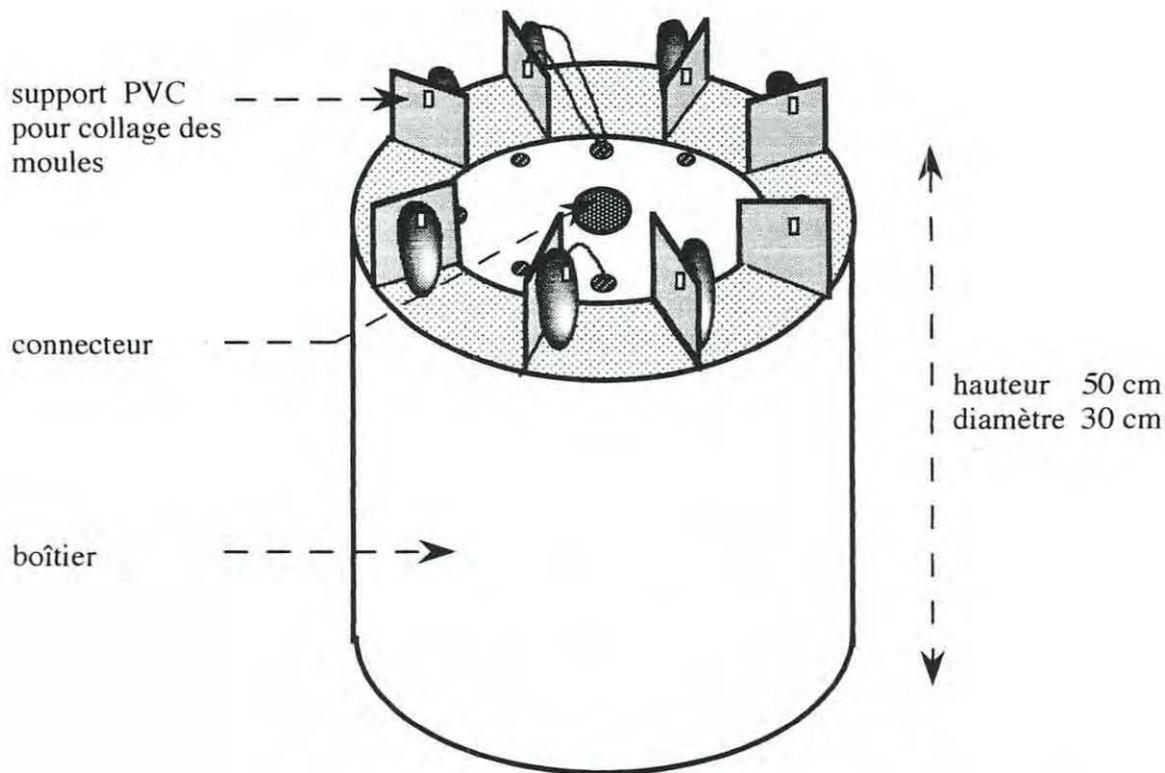


figure 9 : schéma du "Mosselmonitor"

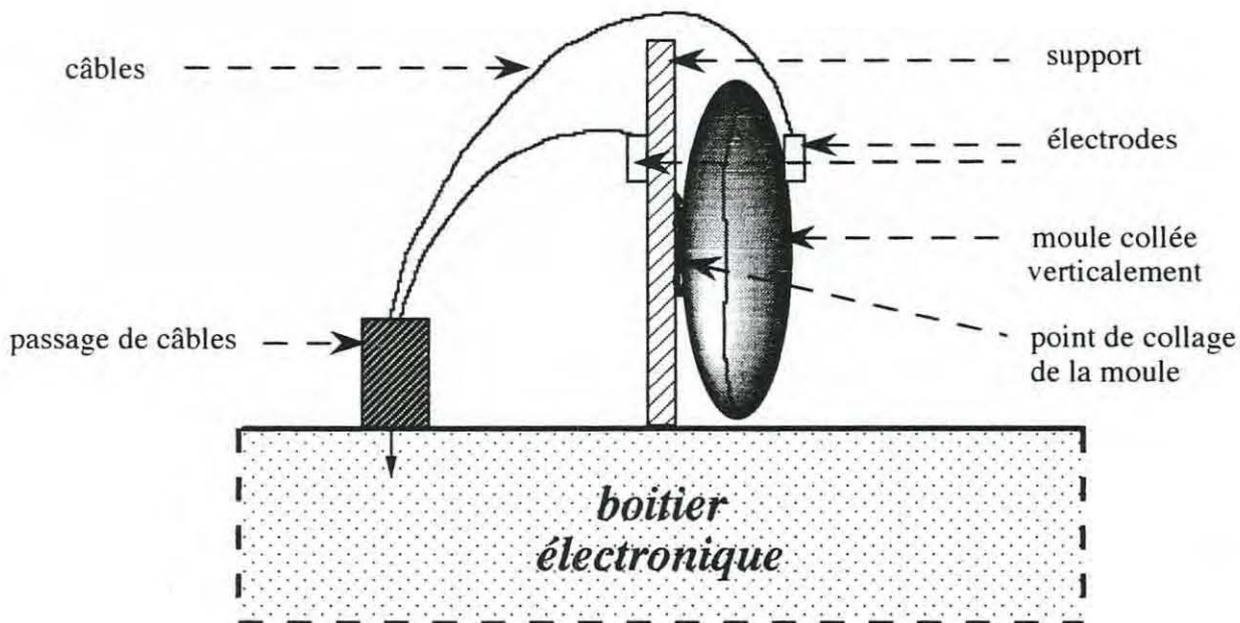


figure 10 : détail de l'installation de la moule sur le valvomètre hollandais

photo 1 :
"Mosselmonitor"
de Delta Consult
vue d'ensemble

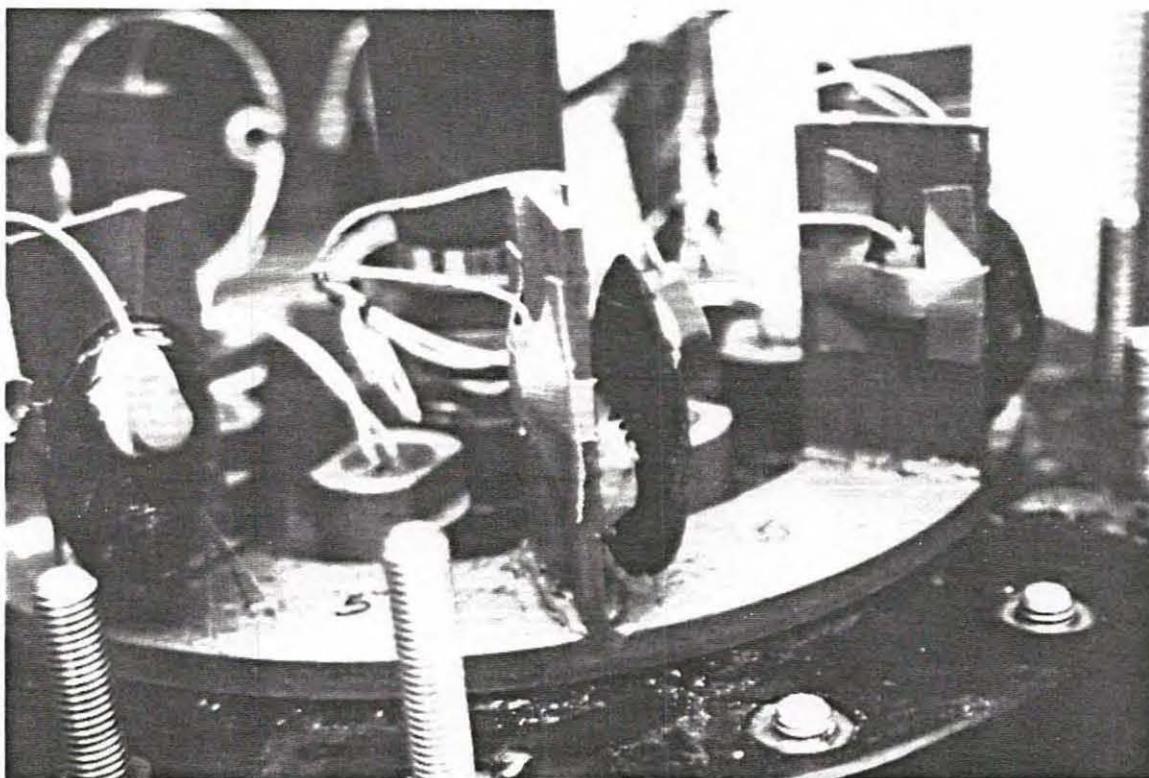


photo 2 : detail des capteurs

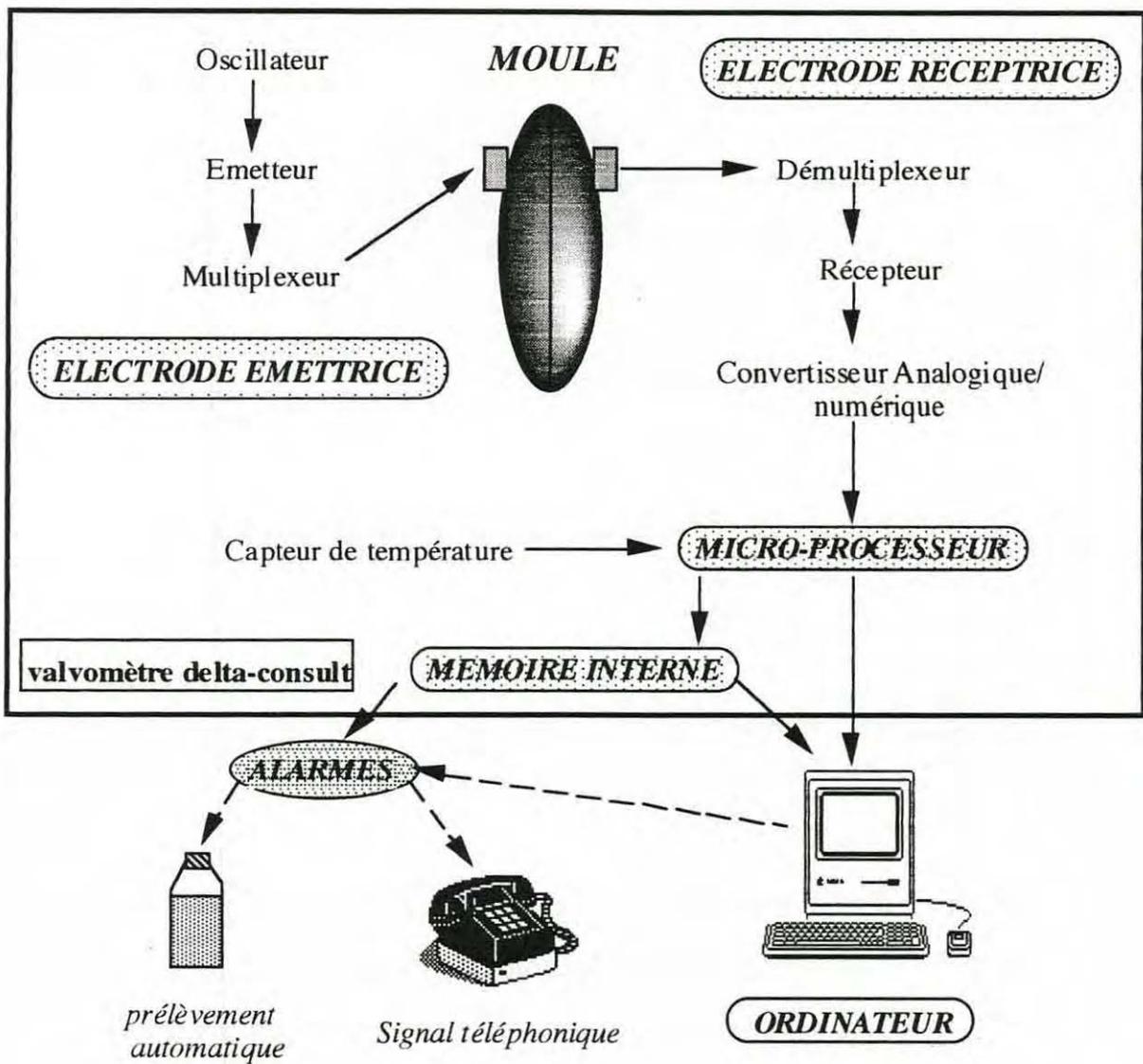


figure 11 : schéma d'interconnexion du valvomètre hollandais

La validation préliminaire de l'appareil a montré que la valeur mesurée était uniquement fonction de la distance entre les centres des deux électrodes (Floch, 1992). L'inclinaison de la surface d'un des capteurs par rapport à l'autre laissé constant n'a pas d'incidence sur les mesures, comme le montrent les valeurs obtenues par glissement d'un capteur sur une demi-sphère alors que l'autre est maintenu en son centre (fig 12 et 13).

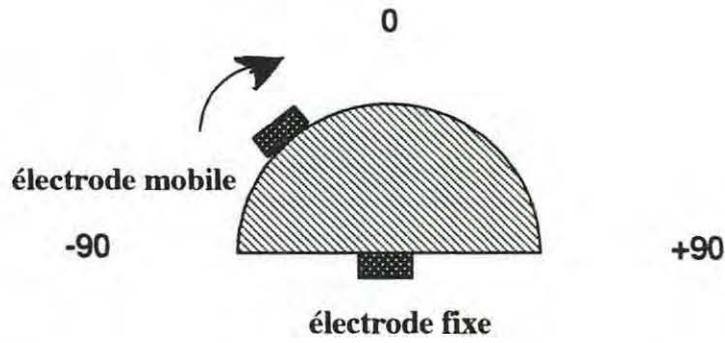


figure 12 : glissement d'une électrode sur une sphère (l'autre reste au centre)

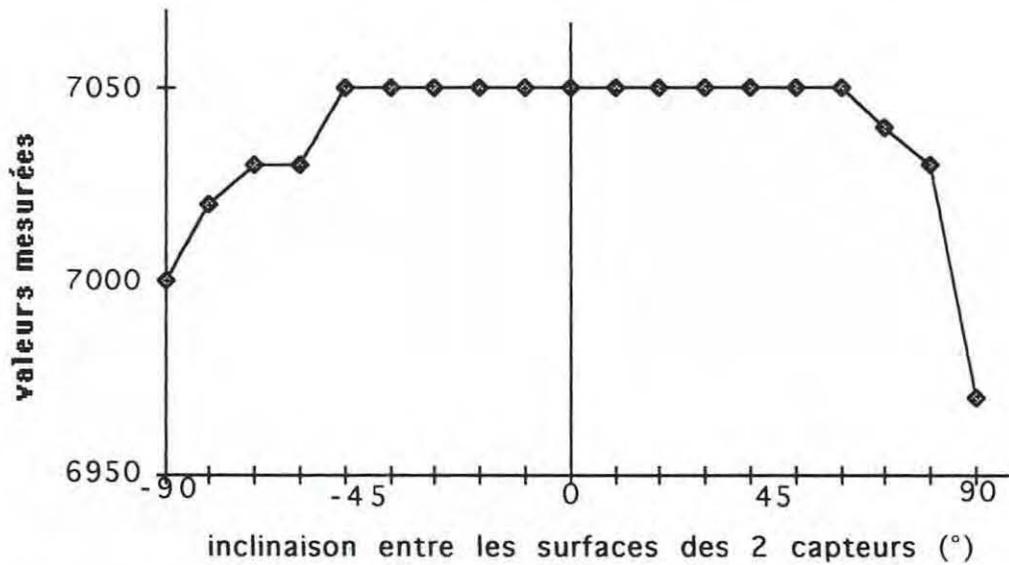


figure 13 : influence de l'orientation du capteur sur les valeurs mesurées

La relation valeur mesurée fonction de la distance entre les capteurs, est linéaire entre 4000 et 6000 en valeur absolue mesurée, soit, pour un écartement des électrodes compris entre 2 et 3 cm (cf fig.14 et 15). Il convient donc de placer les électrodes à une distance de 2 cm lorsque les valves sont fermées. A l'idéal, l'ouverture valvaire ne doit pas dépasser un cm. Il faut donc choisir judicieusement les mollusques et tenir compte de leur morphologie lors du positionnement des électrodes, afin d'exploiter au mieux la dynamique du capteur.

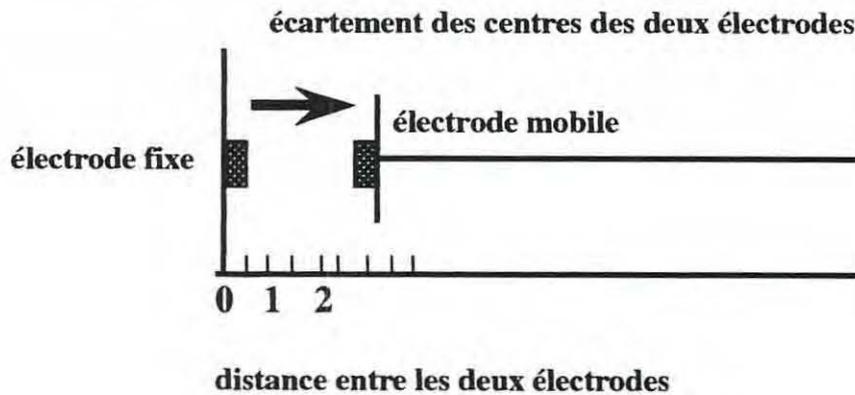


figure 14 : écartement linéaire entre les deux électrodes

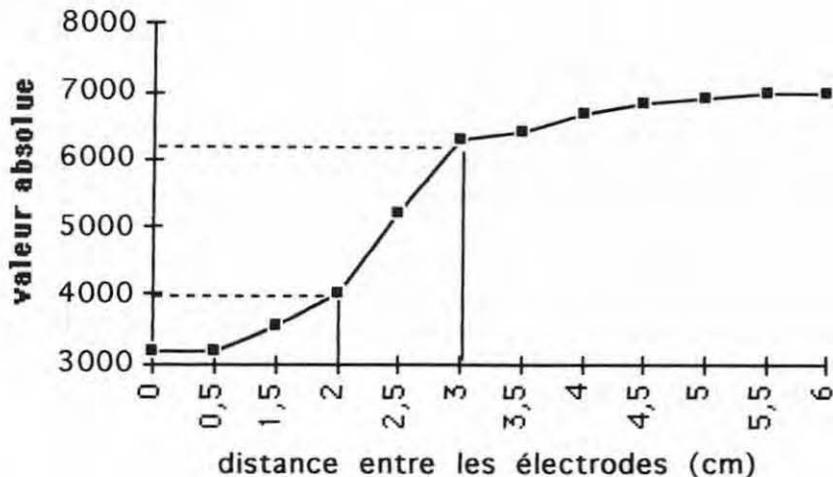


figure 15 : courbe valeur mesurée fonction de l'écartement des électrodes

Les mesures d'écartement valvaire et les éventuelles alarmes émises peuvent être stockées par un terminal. Une sortie "alarme" permet de déclencher un signal (sonnerie, appel téléphonique, échantillonnage automatique) lorsque les seuils critiques sont atteints.

II.1.1.3. Programmation de l'appareil

Avant chaque enregistrement, l'appareil est programmé grâce à un logiciel de communication (Procomm Plus version 1.1 b de DATASTORM Technologies) installé sur un micro-ordinateur. Le programme de mesures et d'émission d'alarmes est entièrement paramétrable.

Sont à définir :

- **la cadence de mesure** (entre 15 et 600 s)
- **la présentation des mesures**, en valeur absolue ou pourcentage calculé à partir des valeurs minimales et maximales enregistrées précédemment
- **le délai d'évaluation** correspondant à la période d'acclimatation des moules, pendant lequel les minima et maxima sont calculés mais aucune alarme n'est émise
- **la fréquence de remise à jour** des minima et maxima calculés par période (de 1 à 50 jours) : c'est un moyen de tenir compte des évolutions intervenant sur les moules (croissance, adaptation).

Sont également fixés les seuils des différentes alarmes traitées par le logiciel intégré à l'appareil :

- **alarme de fermeture** : correspondant à la fermeture simultanée (au delà d'un seuil) d'un nombre d'individus et pendant une durée préalablement paramétrés
- **alarme d'hyperactivité** : elle traduit une modification importante et synchrone de l'activité valvaire de moules. Le paramétrage fixe un seuil de variation entre deux mesures successives : si ce seuil est dépassé plusieurs fois pendant un intervalle de mesures donné et

pour plusieurs moules, une alarme d'hyperactivité est émise. Sont donc à définir : l'écart entre deux valeurs successives, la durée de l'intervalle de mesures, le nombre d'activités importantes à dépasser au cours de cet intervalle et enfin le nombre de moules réagissant simultanément pour que cette alarme soit émise.

- **chute de la moyenne d'ouverture valvaire** calculée individuellement pour un intervalle fixé et comparé au précédent. Si l'écart entre deux valeurs successives dépasse un certain seuil simultanément pour plusieurs moules, une alarme est émise.

- **alarme de baillement** lors de dépassement d'un seuil d'ouverture maximale (supérieur à 100% d'ouverture). Elle traduit une autolyse du muscle adducteur survenant à la mort du bivalve. Dès l'émission de cette alarme, la moule correspondante est considérée comme morte, son écartement intervalvaire est toujours mesuré mais n'est plus pris en compte pour l'évaluation des alarmes.

Deux configurations sont proposées pour l'utilisation du valvomètre Delta-Consult.

1. L'appareil peut fonctionner uniquement en **mode alarme**, sans connexion permanente à un ordinateur. Il stocke alors dans sa mémoire interne, le récapitulatif des différentes alarmes émises (type, heure et durée), à concurrence de 800 lignes. Cette version est opportune lors d'immersion du "MOSELMONITOR" sur un site non aménagé, sans alimentation électrique ni abri pour le micro-ordinateur (éloignement du rivage). Dans ce cas, les signaux bruts ne sont pas enregistrés. En cas d'alarme, il y a émission d'un signal (lumineux, sonore, déclenchement automatique d'un échantillonneur d'eau ou même fermeture d'une vanne). En différé, l'utilisateur obtient un bilan des alarmes émises par transfert du contenu de la mémoire à un micro-ordinateur.

Dans ce cas, le choix des seuils d'alarmes est fondamental puisqu'il fixe la sensibilité de l'appareil. Plus les seuils fixés sont faibles, plus l'appareil est sensible et les erreurs par excès fréquentes. Inversement, des seuils trop hauts peuvent induire des erreurs par défaut. Ces alarmes trouvent parfaitement leur place lors d'emploi comme capteur biologique, mais un travail de recherche des seuils est impératif, comme nous le soulignerons plus tard.

2. Un enregistrement en continu et en direct des écartements valvaires et des alarmes est possible par liaison permanente à un micro-ordinateur.

II.1.1.4. mode d'emploi

D'abord, les moules doivent être installées sur l'appareil. Le collage est délicat en raison de la position verticale du support (et des moules). Le travail sur matériel vivant entraîne quelques contraintes. Il est indispensable que les moules soient bien fixées car elles exercent à l'aide de leur byssus une force importante sur leur support, qui pourrait les décoller. Cette situation inhabituelle ne doit pas provoquer de stress trop important qui interférerait avec les objectifs recherchés : la colle choisie est non toxique et de prise rapide pour éviter une exondation durable.

Notre façon de procéder fut la suivante :

- en premier lieu, nettoyage de l'extérieur de la coquille pour enlever balanes, filaments de byssus et algues
- puis léger ponçage du point de collage pour éliminer la conchyline et nettoyage à l'alcool et séchage à l'air (ou avec un linge propre et sec)
- la surface en plastique du support subit le même traitement.

La colle conseillée par le constructeur (UNIFAST GC LC de Dental Industry corp.) nécessite en principe une polymérisation aux UV, faute de quoi la prise est lente (une demi-

heure minimum) et parfois insuffisante (décollement des moules par la force du byssus). Dans un second temps, nous avons utilisé une autre référence (UNIFAST GC), autopolymérisable, à prise rapide (moins de 5 minutes) et plus solide (aucun décollement en trois semaines d'utilisation).

Une fois la moule fixée, les électrodes (enrobées de matières plastiques) sont ajustées de chaque côté de la moule. L'une est collée sur la partie postérieure d'une valve à l'aide d'un ciment dentaire (PR SCELL) à prise rapide non dégradant pour l'électrode, l'autre est fixée en regard sur le support vertical avec un ruban adhésif résistant à l'eau. Les électrodes, doivent être distantes de 1 cm, moules fermées (cf figure 15 : dynamique de l'appareil). L'appareil impose des contraintes quant à la taille des mollusques.

Afin de limiter les temps d'exondation, l'appareil est immergé dans les plus courts délais dès que les électrodes sont collées. Sa hauteur importante (50 cm) impose, lors d'utilisation au laboratoire, des bacs profonds. Sur le terrain, son poids assure un lest suffisant dans des zones peu agitées.

I.1.2. Un dispositif d'enregistrement des mouvements valvaires conçu par l'Ifremer

II.1.2.1. Présentation générale

A partir du même concept, l'enregistrement automatique et en continu des mouvements valvaires des bivalves, un chercheur de l'Ifremer, Serge PENNEC (Direction de l'ingénierie de la Technologie et de l'Informatique de Brest), a conçu un appareil analogue qui utilise un principe de mesures original : l'effet Hall (brevet n° INPI 9314958 le 8 décembre 1993) (Floch *et al.*, 1994). Une licence pour la fabrication et la commercialisation de l'appareil a été accordée à la société MICREL d'Hennebont (France). Les deux appareils que nous avons utilisés étaient les deux de "pré-série" (Floch, 1993). Certaines transformations (mécaniques) ont été effectuées par nos soins afin de faciliter leur emploi et d'optimiser les mesures.

Le valvomètre "Ifremer-Micrel" se présente sous la forme d'une structure cylindrique de 300 mm de diamètre environ, pour une hauteur maximale de 50 mm et une masse de 2 kg (fig. 16 et photo 3). Il est très compact, ce qui est fort appréciable pour une utilisation ambulante au laboratoire et surtout sur le terrain.

Huit moules sont collées horizontalement en périphérie sur une couronne en PVC, tandis que le centre de l'appareil renferme une centrale autonome d'acquisition de données miniaturisée à microprocesseur ("mémo-collecteur" mis au point par Micrel).

L'ensemble de l'électronique (centrale et carte électronique) est coulé dans un bloc de résine polyuréthane afin d'en assurer une parfaite étanchéité, l'appareil est immergeable jusqu'à -100 mètres.

Les métaux apparents (lames, rivets) ont rapidement été remplacés par du plastique du fait de la corrosion. Les aimants, constituant la partie visible du capteur, rapidement oxydés, ont par la suite été emballés dans des petits cylindres en P.V.C.

II.1.2.2. Principe de mesures

L'appareil utilise un type de capteur original. La mesure se fait entre un aimant déplacé lors des mouvements valvaires et un détecteur à Effet Hall noyé dans la résine du support.

Une vis en Nylon est ajustée à la valve libre de la moule (photo 4). Elle transmet les mouvements valvaires à une lame dont le soulèvement entraîne, par déplacement de l'aimant, une modification du champ magnétique au niveau du capteur (fig. 17). Un convertisseur analogique/numérique permet la numérisation des mesures.

Dans la disposition actuelle, le capteur est linéaire pour un déplacement du capteur de 4,5 mm environ soit des écartements valvaires de 7 mm maximum (fig. 18). L'ajustement initial de la vis et de l'aimant et la taille des mollusques influencent largement le respect de cette linéarité des mesures.

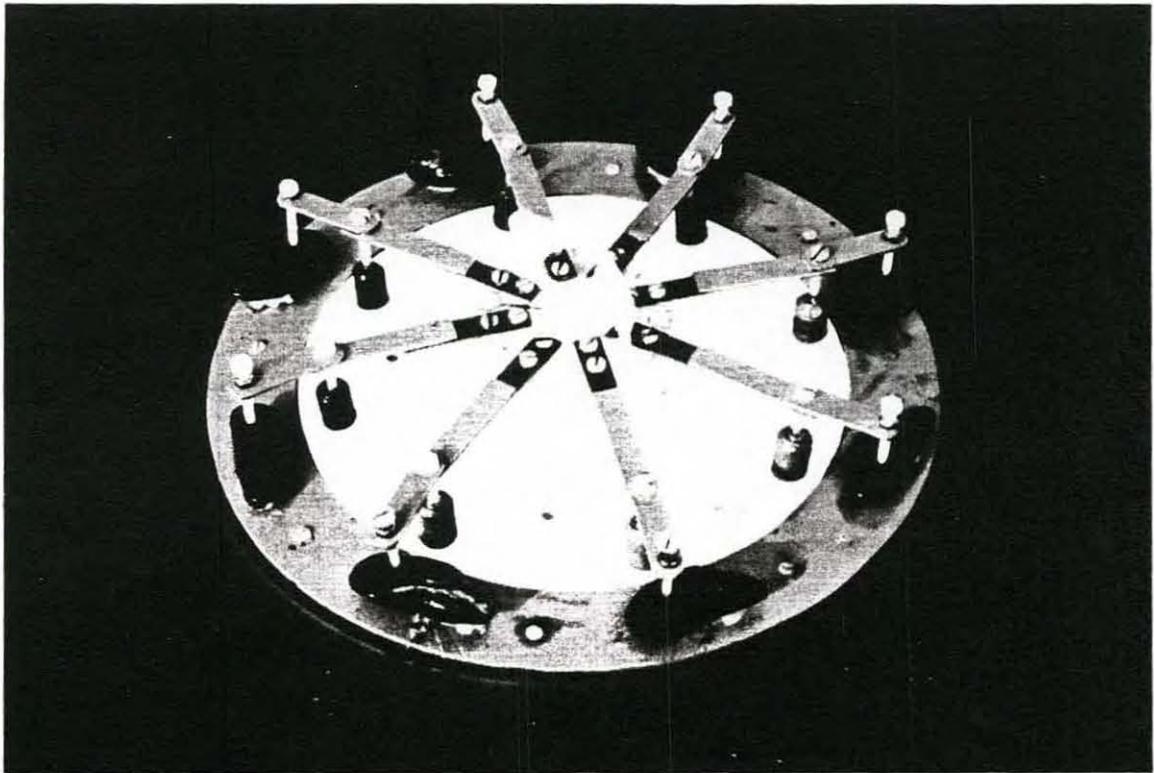


photo 3 : le "valvometre" Itremer-Micrel : vue d'ensemble

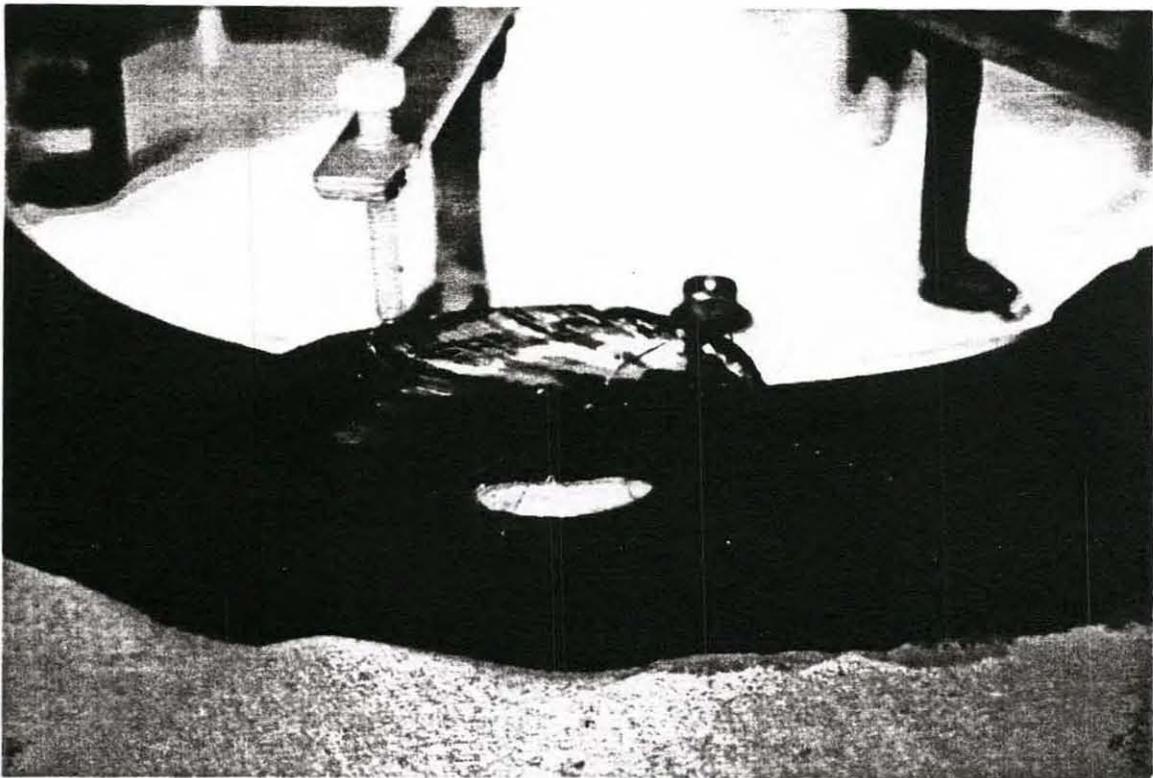
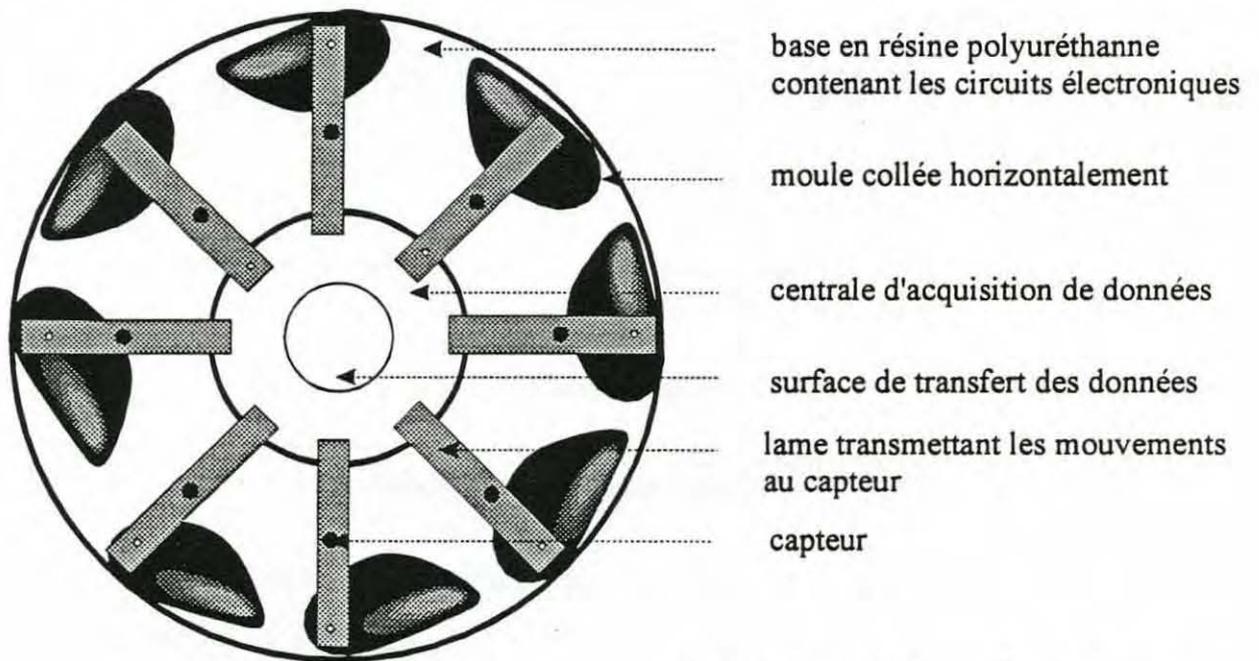
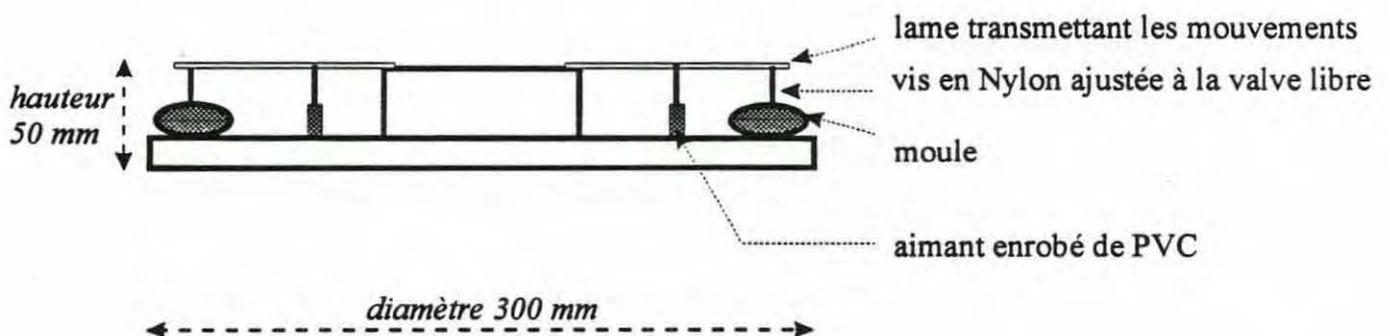


photo 4 : détail du système de mesure





**figure 16 : valvomètre Ifremer
vue de dessus**



**figure 17 : coupe transversale
du valvomètre Ifremer**

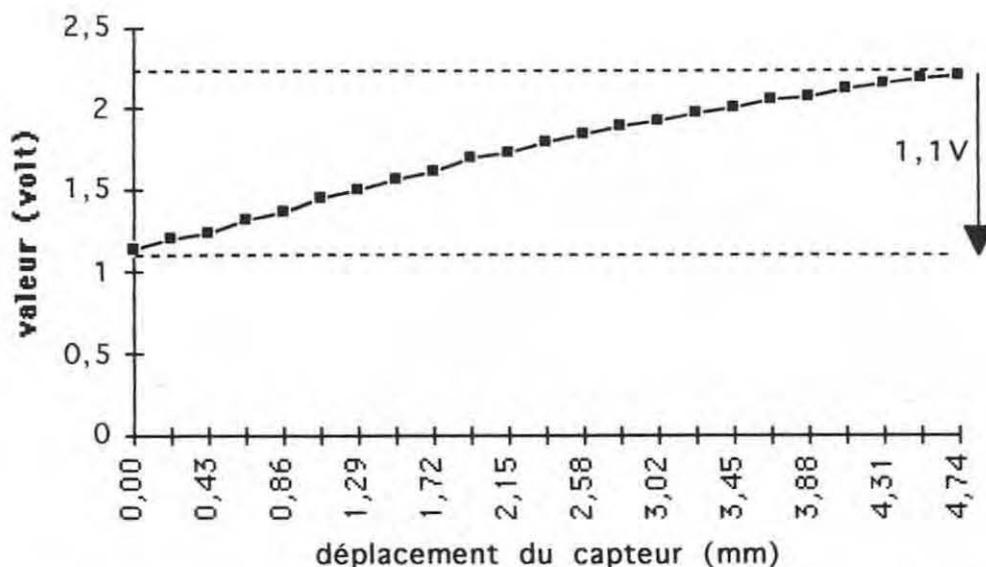


figure 18 : courbe d'étalonnage d'un capteur du valvomètre Ifremer-Micrel (déplacement au niveau du capteur)

1.1.2.3. Acquisition, stockage et traitement des mesures

Les mesures sont mémorisées dans une micro-centrale d'acquisition de données intégrée à l'appareil, autonome en énergie pour une durée pouvant aller jusqu'à dix ans et dotée d'une mémoire de 32Ko, extensible par compression de données (pour des signaux de faible amplitude). Les valeurs peuvent être stockées jusqu'au remplissage complet de la mémoire, ou, en boucle, venir écraser les plus anciennes. Le déclenchement des enregistrements s'effectue manuellement ou automatiquement (en différé ou lors de franchissement d'un seuil préprogrammé).

L'absence de connexion constitue un point fort de l'appareil puisqu'il laisse une parfaite liberté à son utilisateur quant au choix du lieu d'installation (immersion au large ou sur le littoral sans nécessité d'un abri pour le terminal, pas de risque de panne due à une corrosion du connecteur ou à une fuite).

Les valeurs enregistrées dans la centrale sont collectées périodiquement et transmises à un micro-ordinateur type PC, par induction sans connexion, au moyen d'une sonde étanche (raccordée à l'ordinateur) que l'on approche de l'extrémité supérieure de l'appareil. La transmission s'opère instantanément.

Pour l'instant, l'appareil n'enregistre que les valeurs brutes correspondant aux écartements valvaires. Un logiciel d'analyse du signal et de détection d'alarmes est en cours de conception.

Le logiciel "MEMO" du constructeur MICREL permet la communication entre l'appareil et l'utilisateur pour configurer la centrale, lancer l'enregistrement, récupérer les valeurs, tracer les signaux valvaires et enfin exporter des fichiers de mesures sous forme ASCII, exploitable par informatique.

1.1.2.4. Mode d'emploi

- installation des moules

Sa simplicité est un autre atout de l'appareil. Les moules sont collées horizontalement par une de leurs valves, sur la couronne périphérique du valvomètre. La fixation, allégé par rapport à l'appareil hollandais, ne nécessite qu'un point de colle, les capteurs étant ajustés à la coquille de la moule par la vis en Nylon. La position horizontale des moules est un avantage puisqu'elle annule les problèmes de gravité lors du collage. Celui-ci est donc beaucoup plus aisé et rapide (une demi-heure environ pour une heure et demie dans le cas précédent). Nous avons utilisé de la colle dentaire non toxique à prise rapide UNIFAST GC.

Avant collage, les coquilles sont nettoyées, débarrassées des balanes et fragments de byssus, puis poncées dans la zone de collage et séchées. La couronne de PVC est également dégraissée.

Une vis en Nylon est ensuite ajustée à la valve libre de chaque moule. Elle transmet les mouvements valvaires au capteur via la lame. Une grande attention doit être consacrée à cette installation dont dépend toute la qualité des enregistrements (si la vis n'est pas ajustée, les petites abductions ne seront pas transmises au capteur, si elle appuie trop sur la valve, elle exerce une contrainte sur l'ouverture valvaire et soulève l'aimant alors que les valves sont encore fermées).

- immersion de l'appareil

Au laboratoire, l'appareil peut être posé au fond d'un bac de faible volume en raison de sa compacité (5 cm de hauteur). Par contre, lors d'immersion sur site, un lestage et une protection sont indispensables. Aucune garde ni système d'accrochage n'étant prévus initialement, nous avons utilisé pour nos expérimentations sur site, un casier en PVC ajouré muni d'un couvercle (50 cm de long, 45 cm de large et 30 cm de haut) (fig. 19). Le fond a été lesté par du ciment (30 Kg environ). L'appareil est ensuite fixé par deux tiges métalliques sur le ciment. Le casier peut ensuite être immergé, suspendu à un bateau ou un flotteur, ou arrimé sur le fond (table ostréicole).

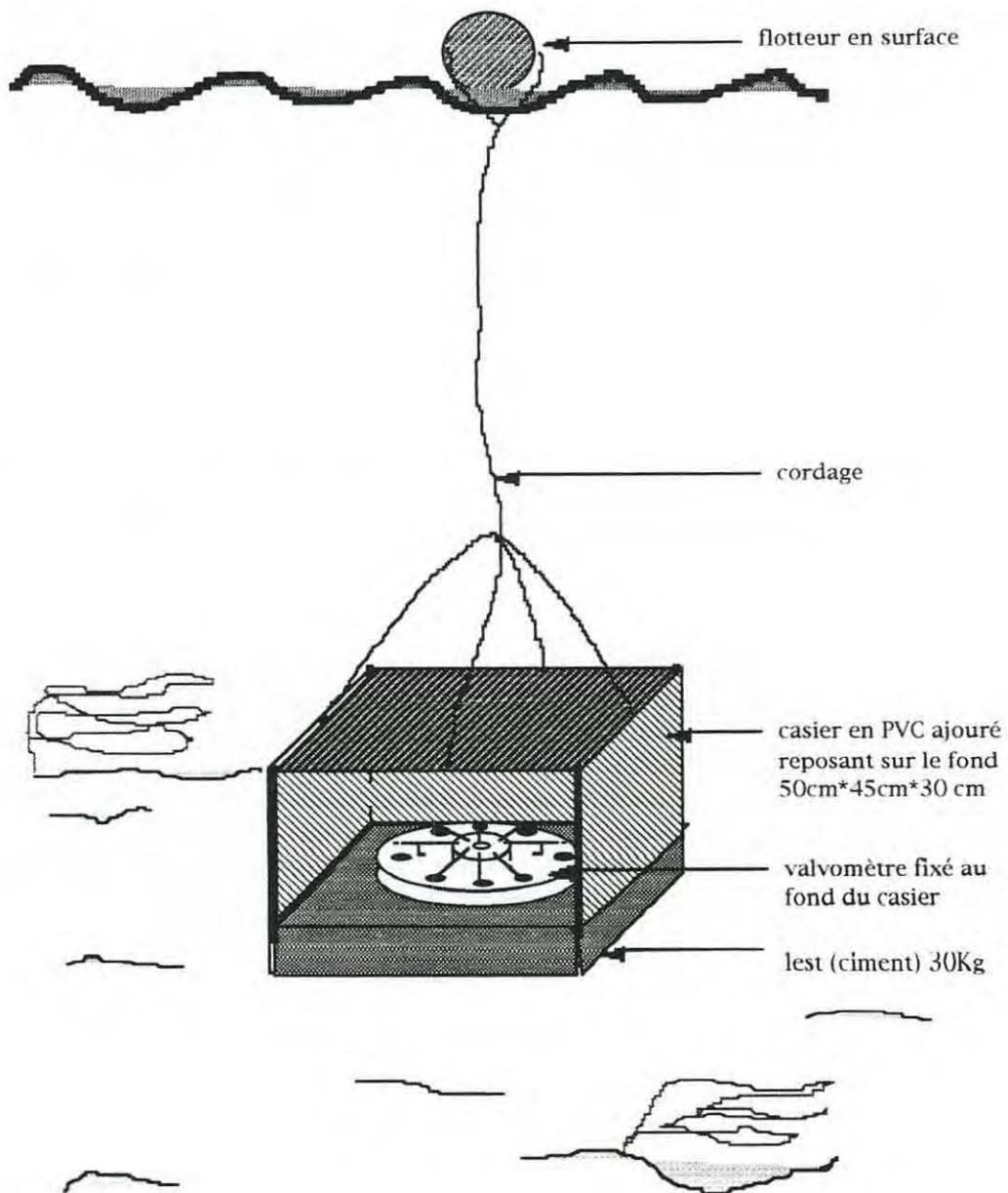


figure 19 : casier permettant l'immersion du valvomètre sur site

II.2. PREMIERES UTILISATIONS EXPERIMENTALES DE CES BIO-CAPTEURS

II.2.1 Analyse des mouvements valvaires de bivalves marins

En premier lieu, il est indispensable de définir les différents mouvements valvaires existants en l'absence de stress. Ils seront la référence et la base du traitement de signal et de l'émission des alarmes.

II.2.1.1. Mouvements valvaires de moules *Mytilus galloprovincialis*

- matériel et méthodes

Les expériences ont eu lieu du 17 avril au 30 avril 93, en extérieur, en milieu contrôlé, dans un enclos de l'Ifremer de Brest situé sur le môle de St Anne du Portzic. Ce site a été retenu pour les facilités d'installation (grand bac, eau de mer brute à disposition, container technique avec alimentation électrique) et pour sa localisation en entrée de rade de Brest (zone à bon renouvellement).

Le valvomètre hollandais Mosselmonitor a été installé dans un bac de 3 m³, alimenté en eau de mer non filtrée, pompée dans le Goulet de Brest. Le bac dispose d'un trop-plein, l'eau est laissée en circuit ouvert en permanence. Le débit d'arrivée de l'eau est de 2 m³/h. Le temps écoulé entre le pompage de l'eau en mer et sa distribution dans le bac est très court (quelques minutes).

L'appareil est relié en permanence à un micro-ordinateur qui stocke toutes les valeurs d'écartements valvaires. Un oxymètre (Orbisphère) fonctionnant en continu, fournit la concentration en oxygène dissous directement enregistrée par un collecteur de données (Rustrak). Le matériel informatique et que les écrans des différentes sondes sont mis à l'abri dans un container à proximité du bac (fig. 20).

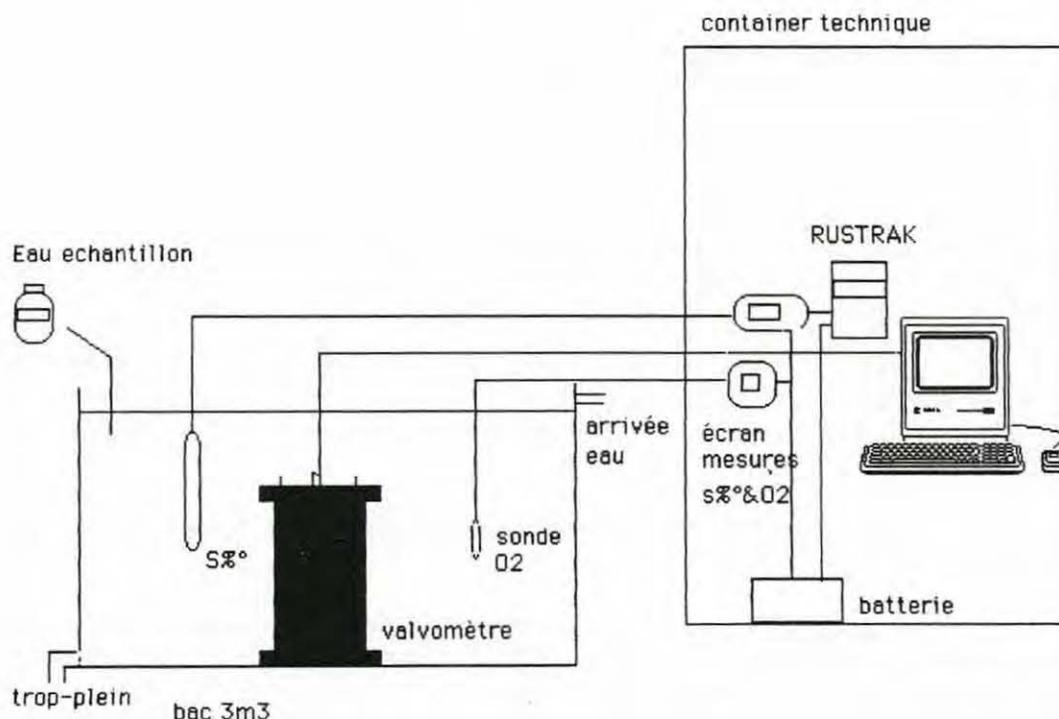


figure 20 : schéma du dispositif expérimental

Huit moules *M. galloprovincialis*, de deux ans, (56 +/-2 mm de longueur, 28 +/-2 mm de largeur et 19 +/-1 mm d'épaisseur) provenant de captage naturel de Groix puis élevées sur filières à Ouessant, sont utilisées pour cette expérience.

L'enregistrement des mouvements valvaires a débuté le 17 avril 93, après une période d'adaptation de 24 h, avec un pas de mesure de 2 minutes. Pendant la semaine du 26 au 30 avril 93, un prélèvement d'eau a été réalisé quotidiennement afin de doser la chlorophylle a et les phéopigments par spectrophotométrie (tableau 7 et fig. 35 résultats de la comparaison avec le site du Tinduff).

- Résultats

Les comportements valvaires des huit moules sont dans l'ensemble homogènes, comme le montre la superposition des signaux de trois moules (fig.21). Il existe cependant une sensibilité individuelle visualisée par les résultats statistiques sur les ouvertures valvaires (tableau 5). La moyenne d'ouverture varie entre 69 et 82 % et l'écart-type entre 22 et 10 %.

tableau 5 : statistiques sur les ouvertures valvaires physiologiques des moules

Enregistrement à Ste-Anne du Portzic du 19 au 22 avril 93 (cadence 2 min) moules <i>Mytilus galloprovincialis</i> d'Ouessant								
moule	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8
Nbre	2216	2216	2216	2216	2216	2216	2216	2216
moyenne	69,02	82,80	71,28	72,17	79,77	75,70	72,18	80,13
écart-type	21,64	9,87	15,38	14,32	15,18	16,51	15,62	10,28
activité>20% N ; (%)	61 (2,75)	62 (2,8)	50 (2,26)	38 (1,71)	52 (2,35)	71 (3,2)	100 (4,51)	44 (1,99)
fermeture>10% N ; (%)	9 (0,41)	3 (0,14)	8 (0,36)	8 (0,36)	25 (1,13)	58 (2,62)	15 (0,66)	4 (0,18)

Voici les caractéristiques du comportement valvaire physiologique des moules marines établies d'après les enregistrements réalisés.

1. Les mouvements valvaires sont gradués dans l'espace.

L'écartement intervalvaire est gradué entre la fermeture complète et une ouverture maximale (fig. 22). Les ouvertures peuvent être intermédiaires. Nous calculerons donc le pourcentage individuel d'ouverture relative en fonction des valeurs minimales et maximales enregistrées pendant chaque période d'évaluation.

Les bivalves passent la plus grande partie du temps largement ouverts, comme le montrent les moyennes d'ouvertures valvaires (entre 69 et 82% par rapport à l'ouverture maximale) et les histogrammes d'ouvertures valvaires de chaque moule (fig. 23).

2. L'analyse des signaux distingue plusieurs types de mouvements (visualisés sur la figure 24) :

a - une **activité** valvaire importante avec à des mouvements de faible amplitude, omniprésents en physiologie normale (fig.22). Ils correspondent à la filtration, la respiration et au réajustement du courant branchial (His, 1972 ; Galtsoff, 1964 ; Higgins, 1980). Ils peuvent être très resserrés (avec de faibles écarts entre deux valeurs successives) ou plus

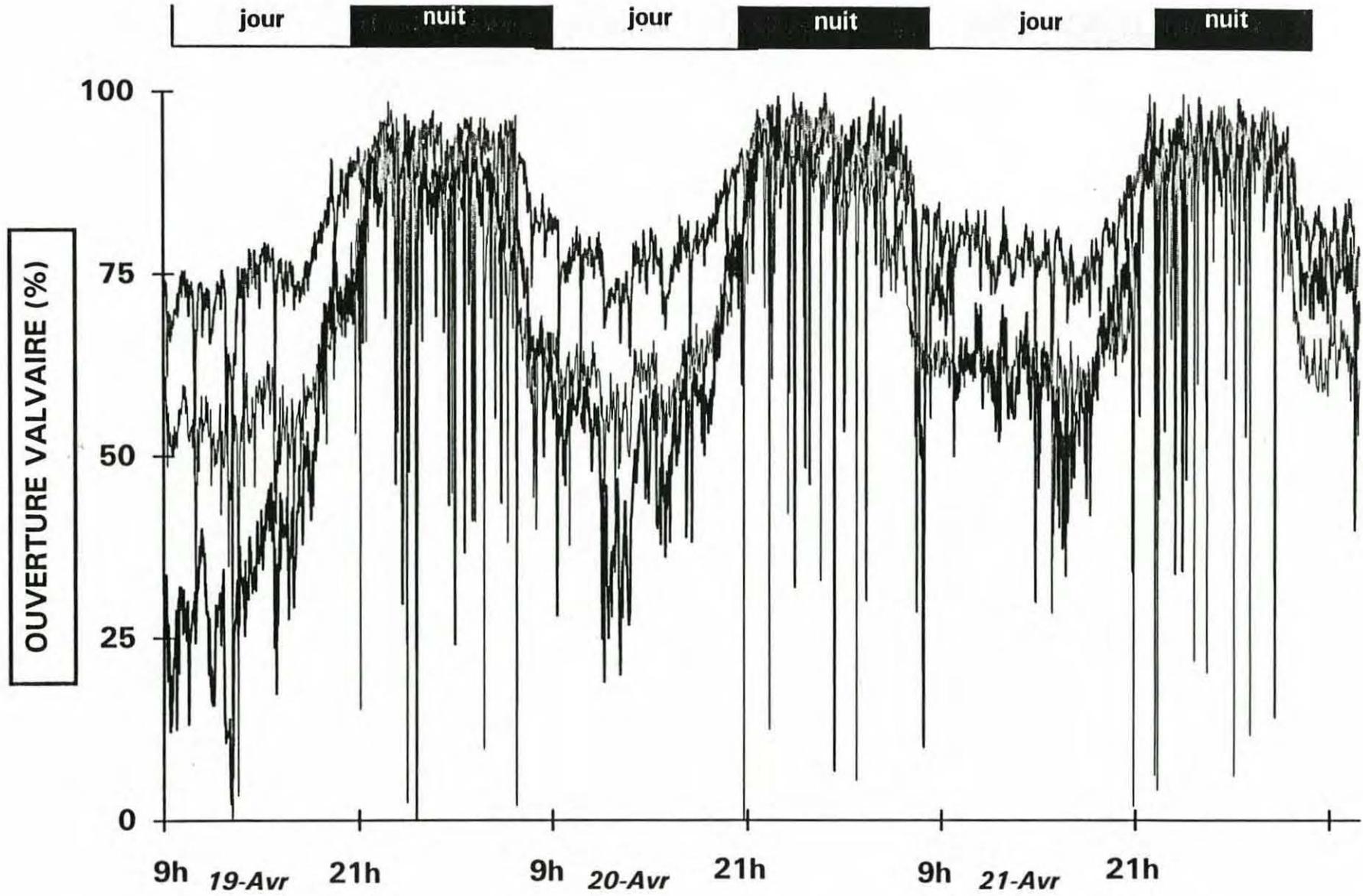


figure 21: signaux valvaires de trois moules (Ste-Anne du Portzic - Avril 93)

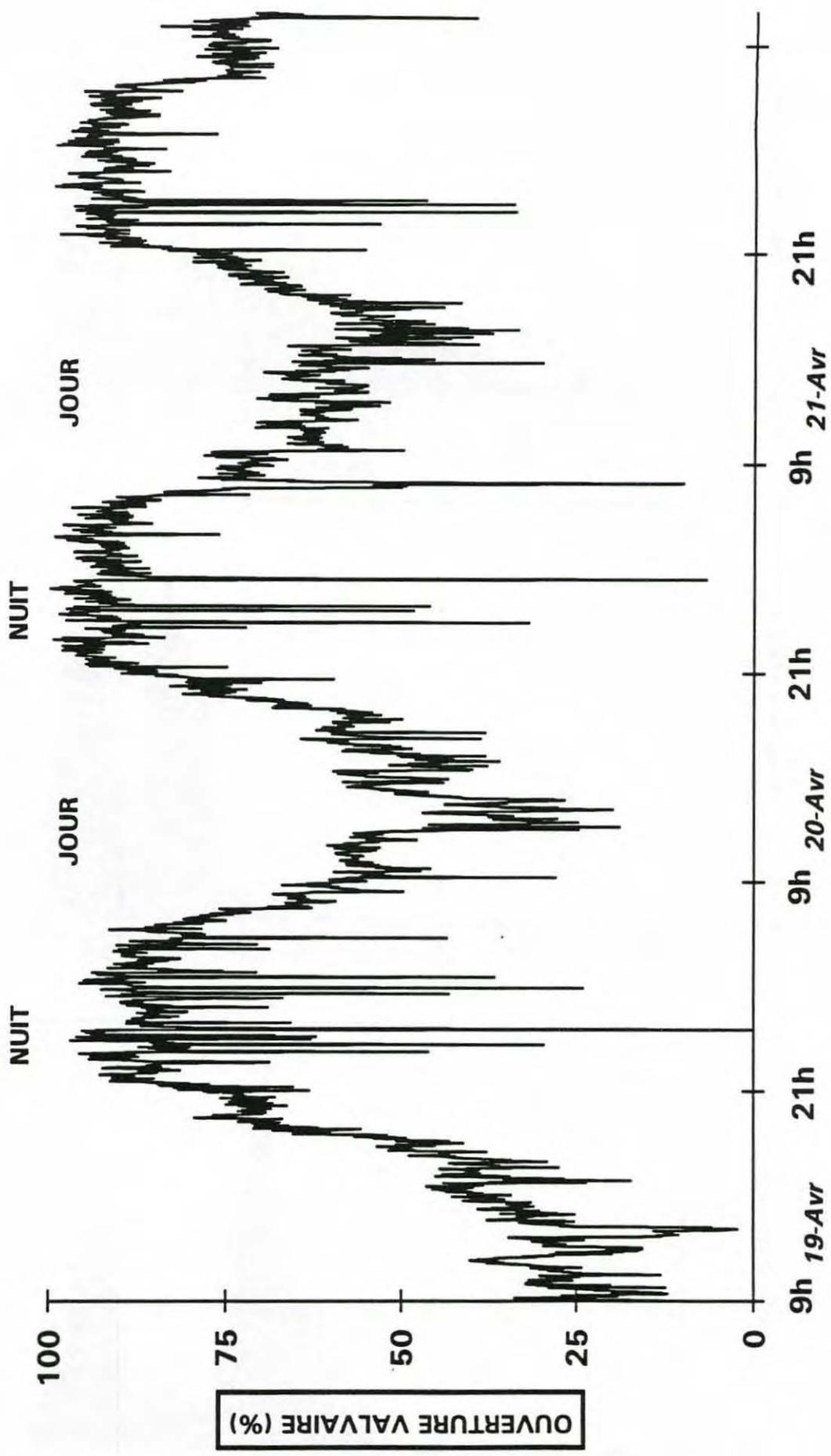


figure 22 : comportement valvaire d'une moule

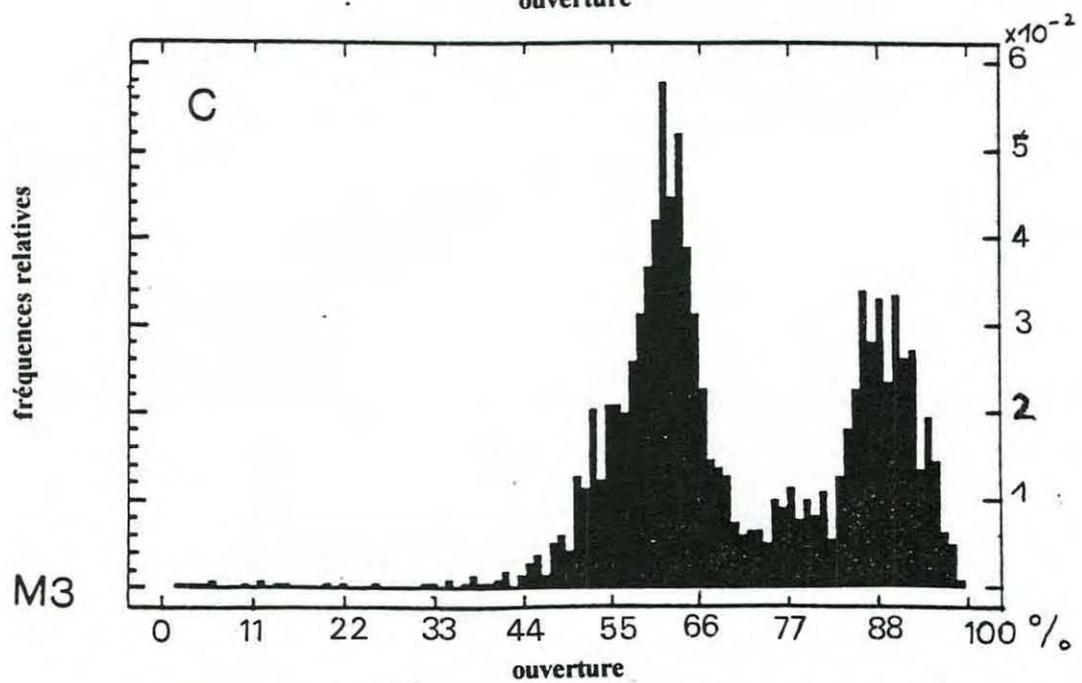
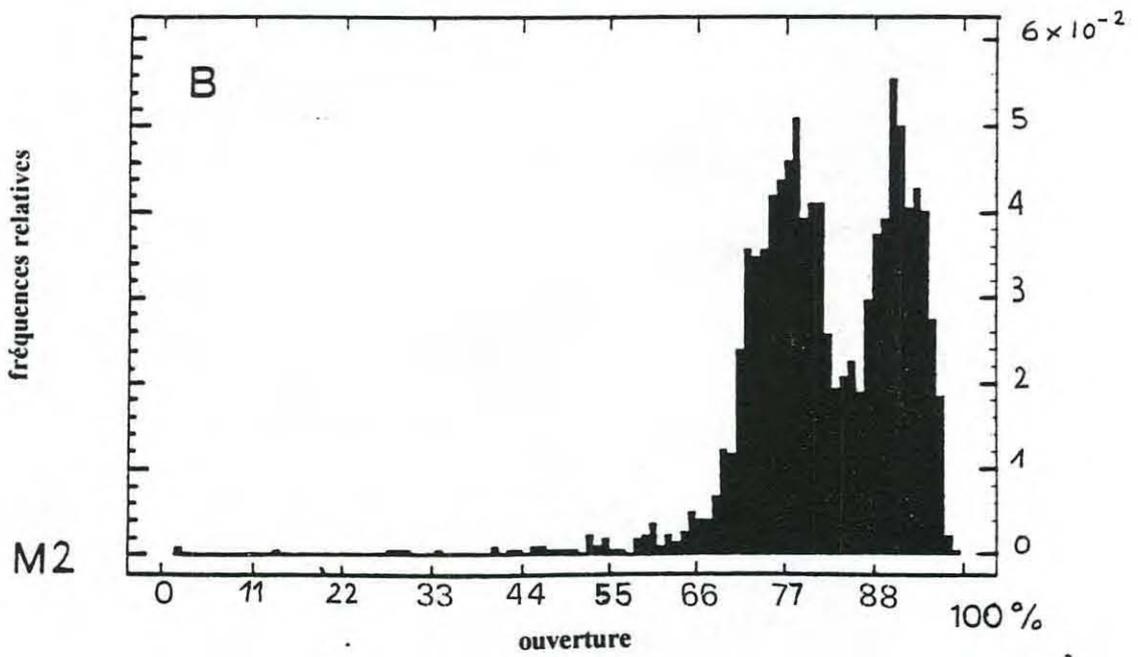
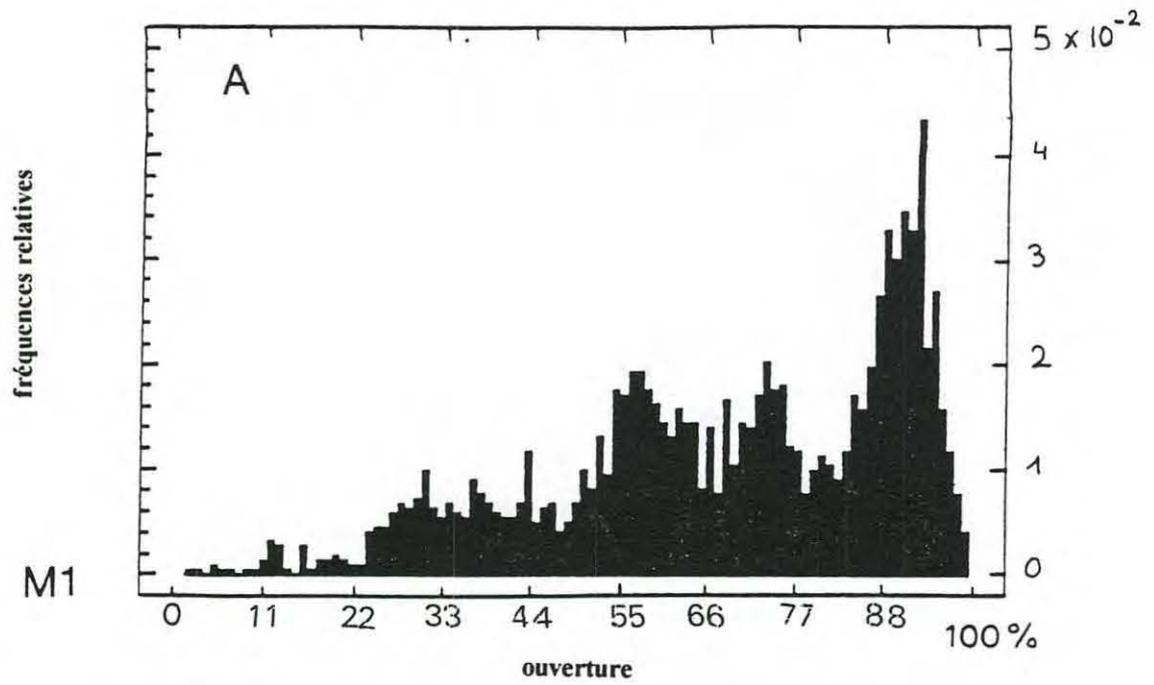


Figure 23 : répartition de fréquence des ouvertures valvaires (en %) des moules 1 (A), 2 (B) et 3 (C).

amples (forte amplitude entre deux valeurs successives) traduisant alors une "**hyperactivité**", souvent observée lors de pollutions comme celles aux hypochlorites et TBTO (Jenner *et al.*, 1989). Elle correspond à une augmentation de la circulation intrapalléale destinée au renouvellement et à l'épuration d'un milieu de mauvaise qualité. Ici, le nombre "d'activités" supérieures à 20% entre deux valeurs successives (que l'on peut considérer comme hyperactivité) est faible (<5% du nombre total de mesures)

b - des pics d'adductions plus importants, sans fermeture totale (fermeture à environ 50%), avec réouverture quasi-immédiate, réalisés périodiquement, par groupe, grâce à la contraction des fibres musculaires du muscle adducteur postérieur.

Ils peuvent être corrélés aux activités alimentaires : la création d'un courant d'eau sur les branchies (Hopkins, 1933 ; Foster-Smith, 1976) assure l'apport d'oxygène et de particules en suspension en plus grande quantité (augmentation de l'activité de la ciliature ctenidienne). L'émission des pseudofèces et fèces nécessite quant à elle une amplification du courant d'eau sortant. Lors des contractions des muscles adducteurs, il y a expulsion d'eau des chambres infra et suprabranchiales, respectivement par les siphons inhalants et exhalants (Morton, 1969). Des pics d'adduction se produisent également lors de la fixation du bivalve (retrait du pied et mise en tension du byssus)

c - quelques mouvements amples, d'adduction complète, courts (quelques minutes), isolés dans le temps, et très occasionnels, correspondant à l'élimination des fèces (Jenner, 1992). Le taux d'ouverture valvaire inférieure à 10% est très faible, inférieur à 0,7% pour 7 moules sur huit.

d - Parfois, les bivalves entrent dans une phase de quiescence, assez longue (plusieurs minutes à plusieurs heures), valves quasiment fermées (fig. 25), avec un espacement valvaire et des mouvements minimes correspondant à la respiration et au test de la composition de l'eau. Dans certains cas, cette quiescence intervient sans fermeture totale. En temps normal, ces phases de fermetures prolongées sont rares. Elles sont plus fréquentes lorsque la qualité de l'eau est altérée (rarefaction des particules alimentaires, présence de substances toxiques, augmentation importante de la température, hypoxie...)

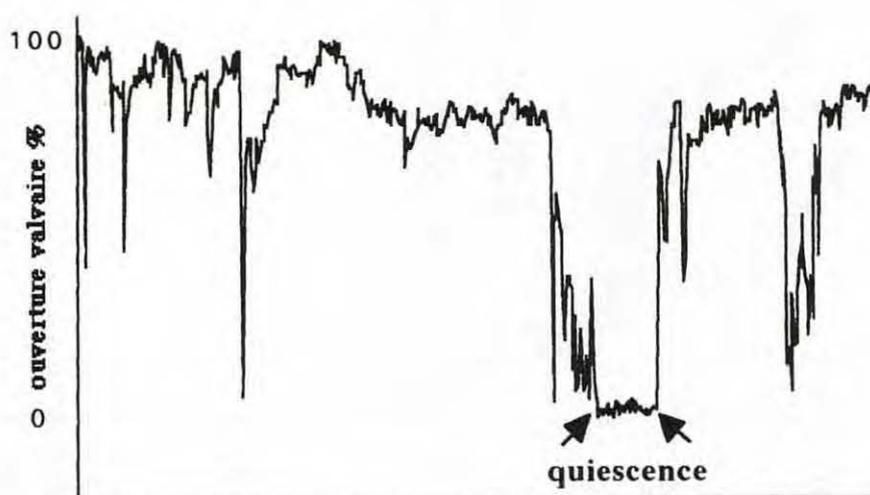


figure 25 : phase de quiescence

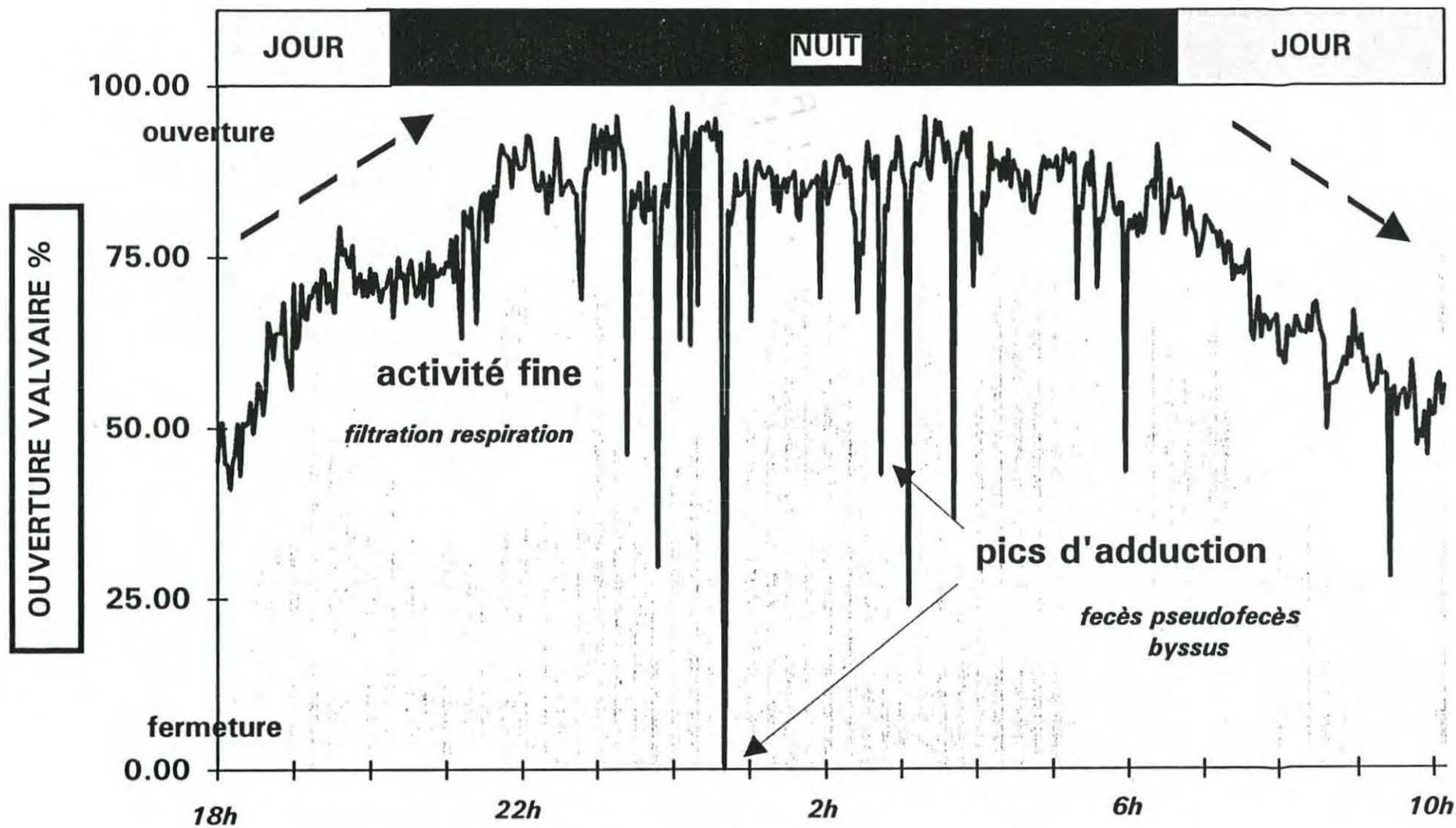


figure 24 : mouvements valvaires physiologiques de moules

3- existence d'une rythmicité nycthémérale :

L'observation des signaux souligne l'existence d'une rythmicité qui semble liée aux variations lumineuses entre le jour et la nuit (fig. 21 et 22). Elle se traduit par une allure générale des graphes en "vagues", avec une augmentation progressive de l'ouverture valvaire à la tombée du jour, un maintien de l'abduction maximale la nuit et des pics d'adduction beaucoup plus fréquents. Le jour, l'ouverture diminue et l'activité est plus fine. Ces deux phases se retrouvent sur les histogrammes (allure bimodale). Les ouvertures minimales interviennent vers 13 h.

II.2.1.2 Signaux valvaires d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*

Un enregistrement a été réalisé en janvier 1994 au laboratoire, en eau brute, avec des huîtres creuses *Crassostrea gigas* de 18 mois provenant de la Baie de Quiberon, collées sur le valvomètre Ifremer. Le pas de mesure est d'une minute.

Les différents types de mouvements, définis chez la moule se retrouvent également chez l'huître : ouverture, activité, fermeture, pics d'adductions et quiescence (fig. 26).

Toutefois, les signaux présentent des différences que nous souhaitons évoquer. L'huître alterne les phases d'activité avec ouvertures maximales et les quiescences, plus nombreuses et durables que chez les moules dans les mêmes conditions. Il n'y a pas, dans les enregistrements effectués, d'ouverture intermédiaire. De même, aucune rythmicité nycthémérale n'est visible.

Le taux d'activités supérieures à 20% est plus faible que chez *Mytilus*. En revanche, le pourcentage de fermetures supérieures à 10% est nettement plus important de 10 à 63% (tableau 6).

tableau 6 : statistiques sur les ouvertures valvaires d'huîtres creuses

signaux valvaires d'huîtres creuses <i>Crassostrea gigas</i> (cadence 1 min)								
HUITRES	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8
Nbre mesures	6635	6635	6635	6635	6635	6635	6635	6635
moyenne	78,93	29,39	49,03	75,19	37,24	63,86	68,71	69,35
écart-type	27,61	36,87	38,03	27,05	36,01	33,86	30,81	35,42
Activité > 20%	56	31	72	113	32	113	85	71
Nbre (%)	(0,84)	(0,47)	(1,09)	(1,70)	(0,48)	(1,70)	(1,28)	(1,07)
fermeture > 10%	661	4172	2779	709	3454	1406	1043	1212
Nbre (%)	(9,96)	(62,88)	(41,88)	(10,69)	(52,06)	(21,19)	(15,72)	(18,27)

Le tableau 5 confirme plusieurs types de comportements, observés sur les tracés. Certaines huîtres sont plus souvent fermées qu'ouvertes (huîtres 2, 3, 5), d'autres sont largement béantes et présentant une activité importante avec de nombreux pics d'adduction (huîtres 4, 6 et 7), d'autres enfin sont très ouvertes la plupart du temps et réalisent une activité de faible amplitude (huître 1). Ces différences se retrouvent également sur les histogrammes représentant les fréquences d'ouverture (fig. 27).

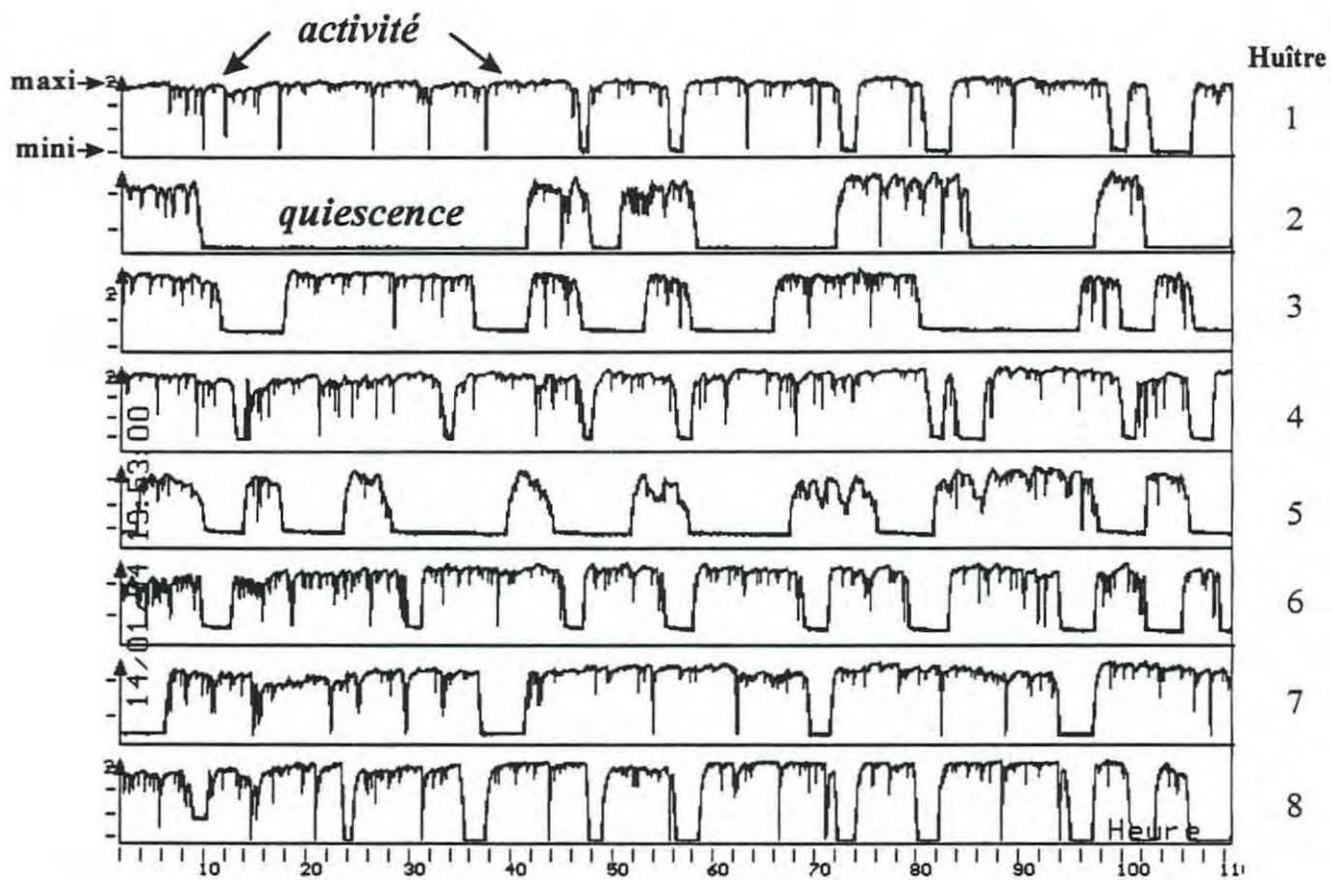


figure 26 : mouvements valvaires d'huîtres *Crassostrea gigas*

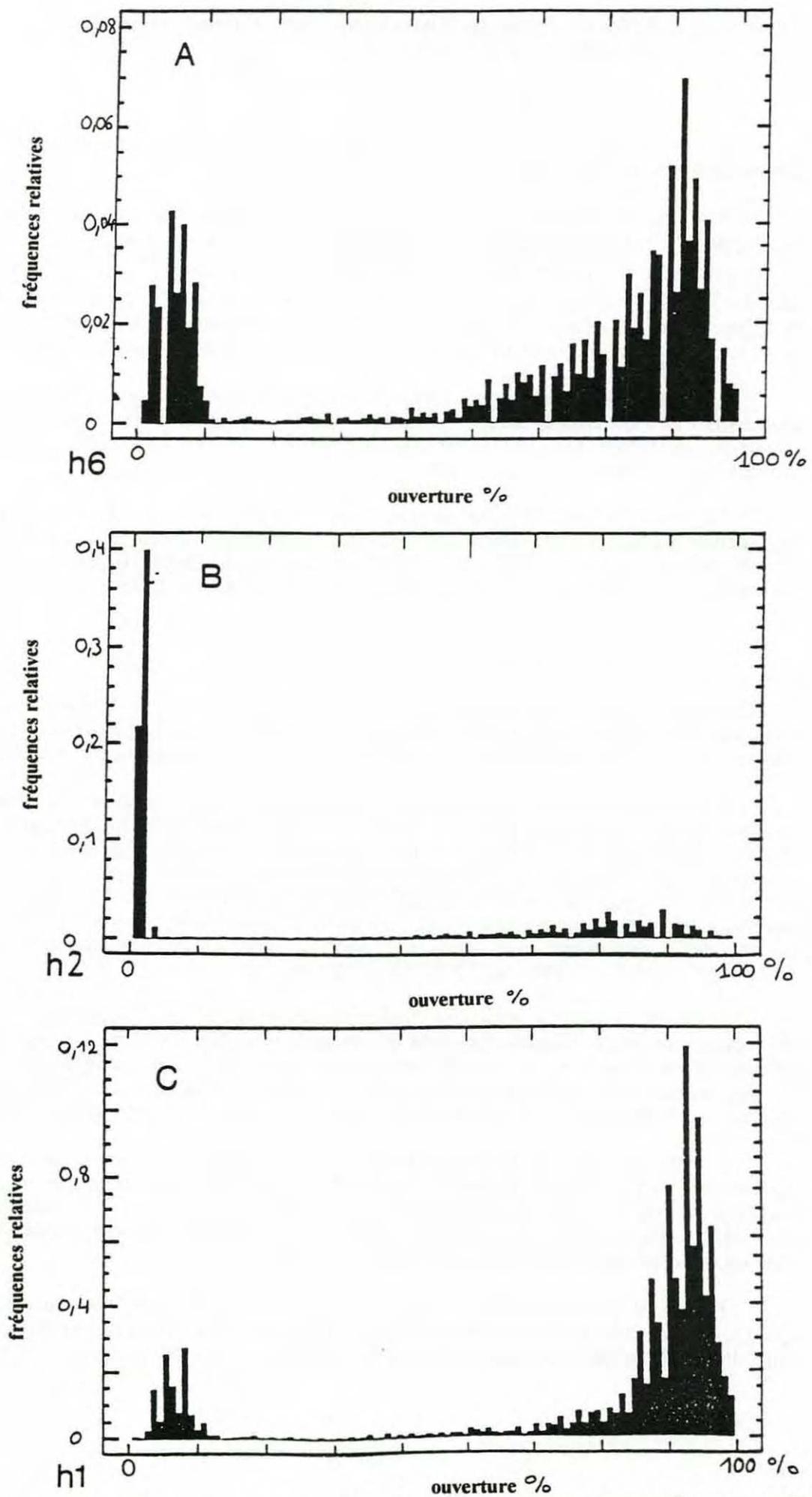


figure 27 : répartition de fréquence relative des ouvertures d'huîtres *Crassostrea gigas*
 (A : huître 6, B : huître 2, C : huître 1)

II.2.2. Effet de l'apport d'eau brute sur le comportement de moules à jeûn

II.2.2.1. Matériel et méthodes :

Les expériences ont eu lieu du 17 au 25 novembre 1993, en intérieur, dans le hall d'aquaculture de la station Ifremer de la Trinité-sur-mer.

Après avoir été laissées à jeûn (eau filtrée), au labo, pendant quinze jours, des moules du "Lac" de La Trinité-sur-mer (longueur : $54,7^{+/-}2,4$ mm, largeur : $24,4^{+/-}1,8$ mm, épaisseur : $19,7^{+/-}1,3$ mm) sont collées sur un valvomètre "Ifremer-Micrel", puis immergées dans un bac d'eau de mer de 2 m³ fonctionnant en circuit fermé (eau recirculant sur filtre biologique et oxygénée par bullage). Les moules sont acclimatées au bac pendant deux jours avant le début de l'enregistrement. L'eau est à 8°C le 20/11/93 avec une salinité de 32 g/l.

Après enregistrement des mouvements valvaires des moules à jeûn pendant 72 heures à la cadence de 1 mesure par minute, le bac est remis en circuit ouvert avec apport d'eau de mer brute (non filtrée) pompée dans la baie de la Trinité-sur-mer. Les écartements valvaires sont mesurés pendant 54 heures environ.

En plus de l'observation des signaux et le calcul des statistiques de base, la notion de **fermeture valvaire** est approchée quantitativement par évaluation du pourcentage d'écartement intervalvaire inférieur à 10% (F). La notion d'**activité** est évaluée par le pourcentage de valeurs successives différant en amplitude de plus de 20%.

II.2.2.2. Résultats

Chez les moules à jeûn laissées en eau filtrée, les périodes de fermeture complète, d'une durée de deux à vingt heures, alternent avec des phases de large ouverture. Les pics d'adduction correspondant à l'émission de fèces sont peu fréquents (fig. 28 et tableau 7).

Les comportements varient suivant les individus, tant par les types de mouvements observés que par leur amplitude et leur durée. Ainsi, la moule 2 présente une succession de phases de quiescence (F=54,24%) où les valves sont totalement fermées et d'ouvertures maximales, avec des pics d'adduction très fréquents comme le montre le pourcentage d'activité (1,92%). La moule 5 alterne également les fermetures totales (F=35,83%) avec des ouvertures maximales mais avec une activité de faible amplitude (A=0,5%). Pour d'autres moules, (6, 7 et 8) les phases de quiescence sont de courte durée (F comprise entre 1,49 et 3,02%) et l'activité est faible (de 0,5 à 0,69%) (tableau 7).

Le rétablissement de la circulation d'eau brute se traduit immédiatement, chez toutes les moules par une augmentation de la moyenne d'ouverture valvaire. Les valves restent béantes (le coefficient de variation diminue considérablement). Les histogrammes montrent une augmentation de la fréquence des larges ouvertures valvaires, avec déplacement des répartitions de fréquences vers les maxima et resserrement de la répartition (fig. 29).

Durant les deux jours d'alimentation en eau brute, les phases de quiescence disparaissent, les fermetures complètes sont ponctuelles et se présentent sous la forme de pics d'adduction correspondant principalement à l'émission de fèces et éventuellement de pseudofèces. Le taux de fermeture est nettement plus faible. Par ailleurs, l'activité valvaire reprend, en corrélation de la filtration et de la ventilation.

Pour sept moules sur huit, l'apport d'eau brute entraîne également une reprise du cycle jour-nuit dans les mouvements valvaires (ouverture plus ample la nuit et activité plus importante). Pendant la première partie de l'expérience, en présence d'eau filtrée, aucun

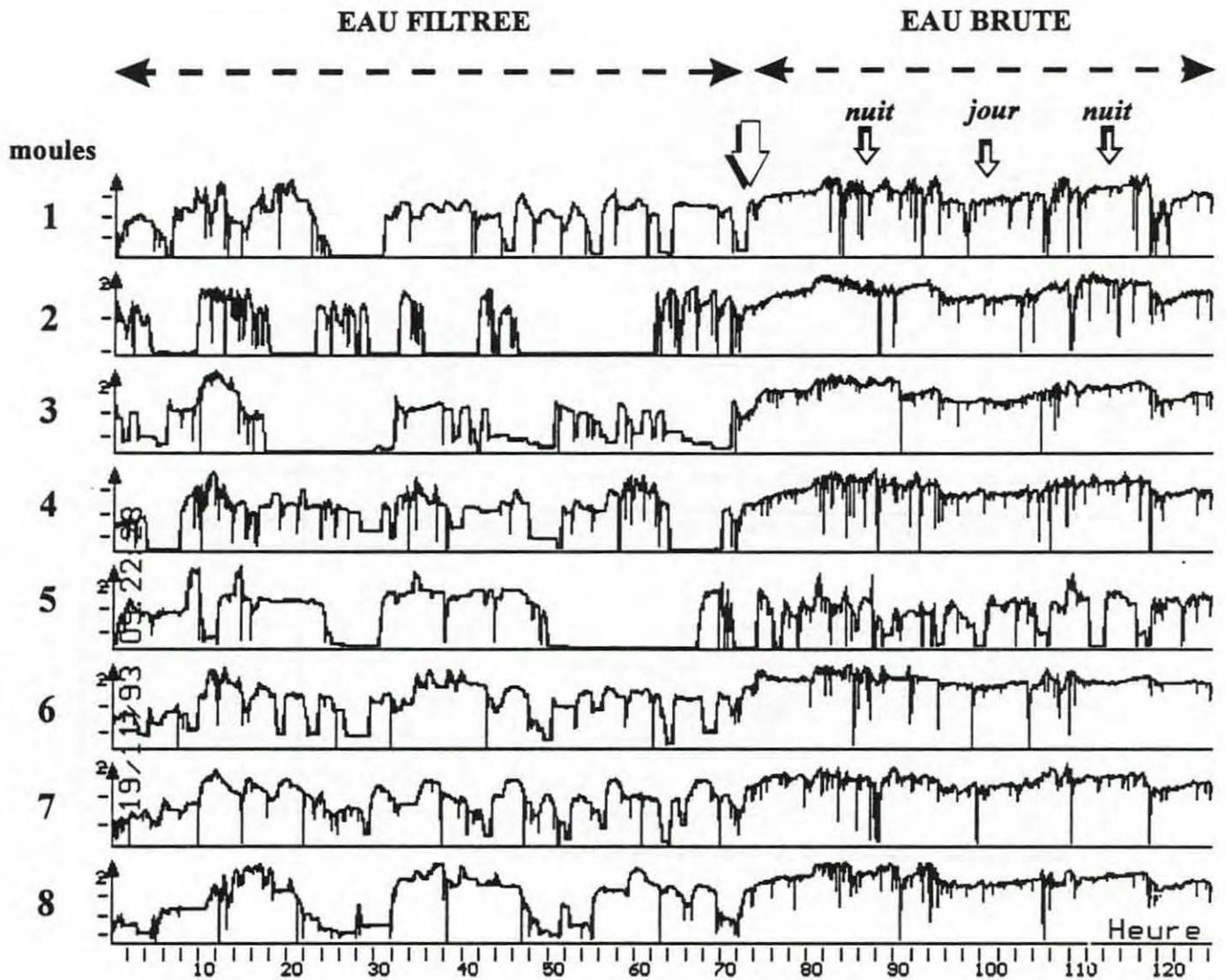


figure 28 : signaux valvaires de moules à jeûn puis alimentées en eau brute

cycle n'est matérialisable. Par contre, avec l'apport d'eau brute, l'ouverture valvaire semble à nouveau influencée par le photopériodisme : les ouvertures valvaires et l'activité augmentent au coucher du soleil et diminuent le matin.

Le maintien des moules dans l'obscurité par bâchage du bac puis réexposition à la lumière naturelle n'a pas produit de résultats nets. Mais les expérimentations avaient lieu en intérieur, dans un hall peu lumineux où les variations nyctémérales étaient amorties, à une période de mauvais temps, avec, en plus, des risques d'artéfacts provoqués par l'apport intempestif de lumière artificielle. La situation expérimentale ne rassemblait donc pas toutes les conditions pour une exposition lumineuse normale, avec respect du photopériodisme normal.

tableau 7 : statistiques sur les ouvertures valvaires des moules durant l'expérimentation
***Mytilus edulis* à jeûn eau filtrée au labo (cadence de mesure 1 min)**

statistiques	moule 1	moule 2	moule 3	moule 4	moule 5	moule 6	moule 7	moule 8
Nbre mesures	4371							
moyenne	44,99	25,89	29,1	44,89	37,41	52,38	53,02	50,8
écart-type	23,83	28,87	24,84	22,96	29,26	21,35	19,32	25,42
mini	0	0	0	0	0,72	0	0	0
maxi	93,89	83,72	100	96,17	100	96,85	93,29	97,08
coef. variation	52,96	111,51	85,34	51,13	78,22	40,76	36,43	50,02
Activité %	0,75	1,92	0,64	1,28%	0,50	0,69	0,57	0,55
Fermeture %	18,02	54,24	29,18	15,46	35,83	1,76	3,02	1,49

mêmes moules alimentées en eau brute (cadence de mesure 1 min)								
Nbre mesures	3244							
moyenne	72,96	75,21	73,2	75,58	41,45	80,65	77,3	78,04
écart-type	14,97	12,04	10,43	10,4	21,22	8,26	10,26	9,86
mini	0,64	2,09	0,76	3,3	0	0,79	3,27	4,56
maxi	100	100	95,6	100	90,78	100	100	100
coef. variation	20,53	16,01	14,25	13,76	51,2	10,24	13,27	12,63
Activité %	1,85	1,05	0,56	2,03	1,17	1,23	0,89	1,45
Fermeture %	1,08	0,43	0,09	0,19	15,42	0,12%	0,31	0,19

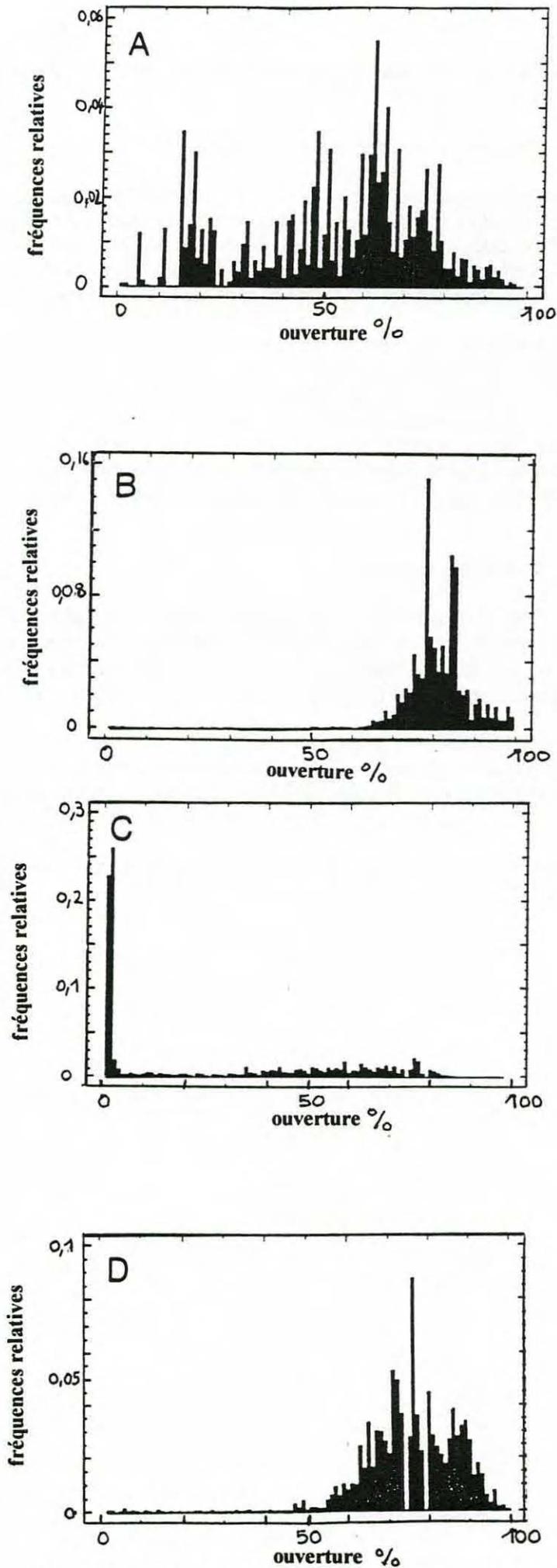


figure 29 : évolution des répartitions de fréquence relative entre moules à jeûn (A et C) et moules alimentées (B et D)(A et B moule 6 ; C et D moule 2)

II.2.3. Comparaison des signaux valvaires de moules dans deux sites de la rade de Brest

II.2.3.1. Première comparaison au printemps 93

A la suite de la campagne de mesure réalisée en avril 93 à Sainte-Anne du Portzic (cf. II.2.1.), le valvomètre hollandais Delta-Consult a été installé la semaine suivante au Tinduff dans la Presqu'île de Plougastel, dans l'enceinte de l'écloserie de coquilles Saint-Jacques du Comité Local des Pêches Maritimes (fig. 30). L'objectif était de comparer les comportements valvaires de mêmes moules dans ces deux sites de la rade de BREST très différents.

Tandis que Sainte-Anne du Portzic se situe en sortie de rade, dans une zone océanique bien renouvelée, le Tinduff, en fond de rade, est exposé aux eaux de ruissellement des cultures maraîchères de Plougastel. De fortes concentrations d'engrais ou de pesticides pourraient causer d'importants préjudices aux gisements de coquilles Saint-Jacques et à l'écloserie. L'élevage larvaire de coquilles Saint-Jacques est, de surcroît relativement délicat et dépend principalement de la qualité de l'eau utilisée dans l'exploitation, tant pour la culture de phytoplancton en salle d'algues, que pour l'alimentation des bacs d'élevage.

- Matériel et méthodes :

Sans changer les moules utilisées à Sainte-Anne du Portzic durant les quinze jours précédents, le valvomètre et les sondes (oxymètre WTW et thermomètre-salinomètre Suber) ont été immergés dans un bac de 2 m³ situé en extérieur, et alimenté en continu en eau non filtrée provenant d'un bassin renouvelé en eau plusieurs fois par jour (six fois environ à cette époque).

Un prélèvement d'eau du bac a été effectué quotidiennement. Les échantillons d'eau (500 ml) ont été filtrés sur des filtres Wathman GF/F bruts pour analyse de la chlorophylle par spectrophotométrie.

Les expérimentations ont eu lieu du 30 avril au 7 mai 93, avec une mesure toutes les deux minutes (fig. 31).

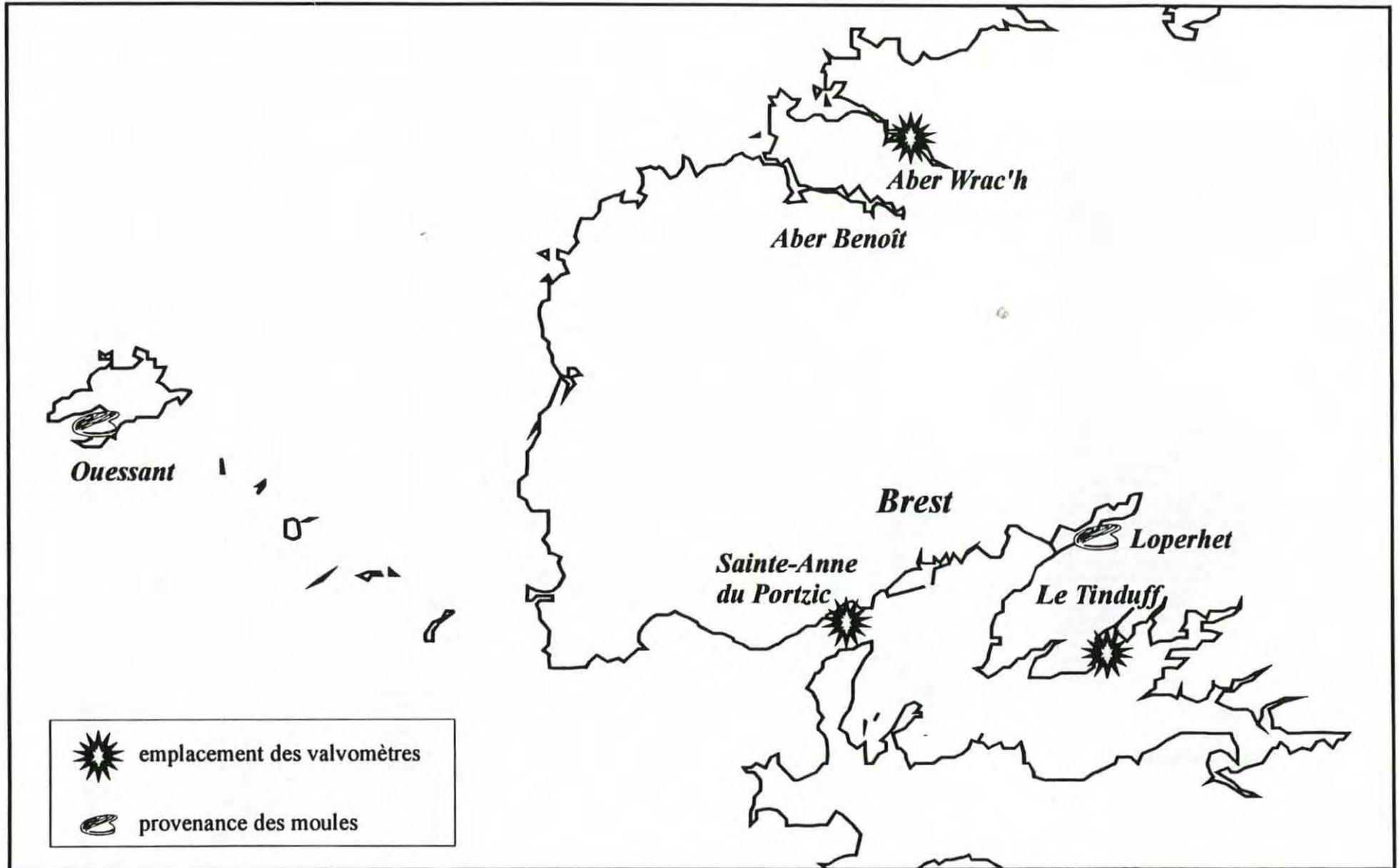


figure 30 : localisation des sites

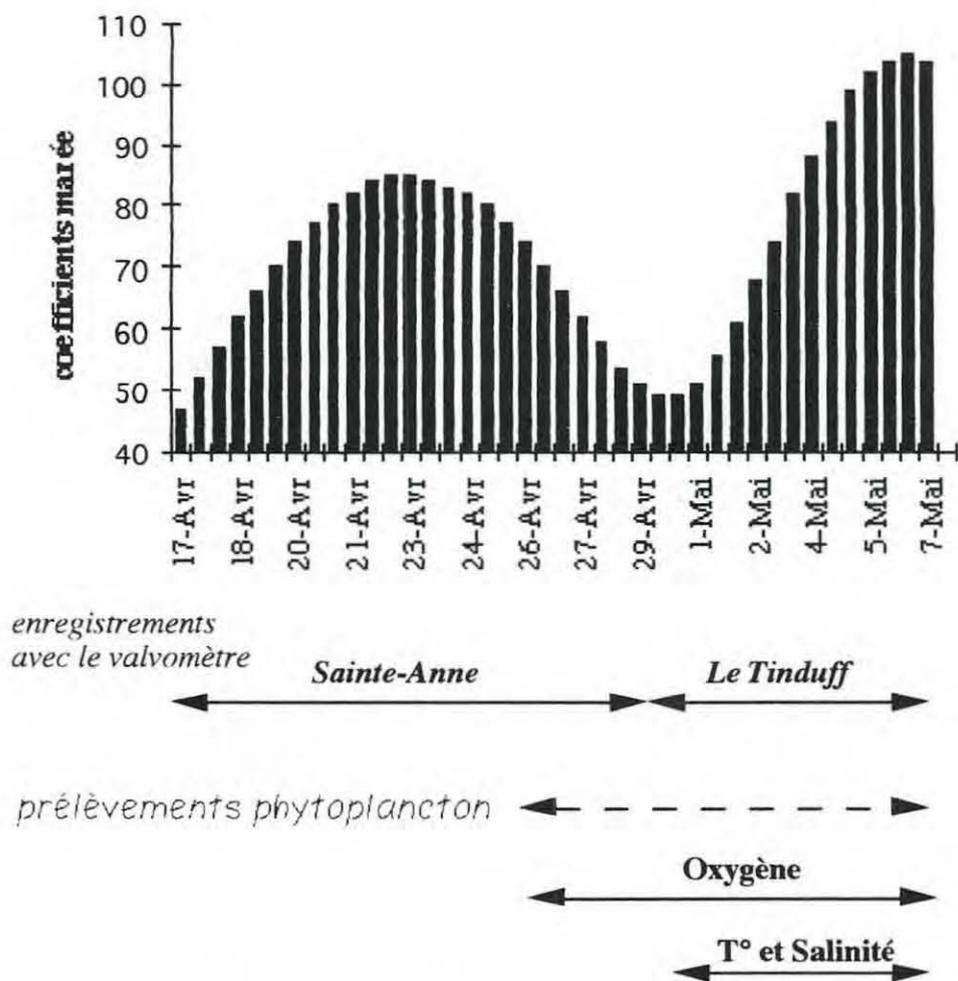


figure 31 : calendrier des expérimentations

- Résultats

La comparaison porte sur les enregistrements réalisés durant la semaine du 26 au 30 avril 93 à St Anne du Portzic puis du 30 avril au 7 mai 93 au Tinduff, avec les mêmes moules. Les dispositifs expérimentaux sont semblables, seule change les conditions d'alimentation en eau des bacs et naturellement, les coefficients de marées puisque les mesures sont réalisées à la suite. La semaine d'évaluation au Tinduff correspond à une vive eaux avec forts coefficients.

- taux d'oxygène de l'eau :

La teneur en oxygène de l'eau oscille entre 8,2 et 9,5 mg/l à Ste-Anne du portzic, valeurs proche de la saturation (fig. 32), et entre 6,5 et 9,5 mg/l au Tinduff (fig. 33). Les valeurs augmentent avec la lumière du jour en relation avec l'activité photosynthétique du phytoplancton.

- température et salinité :

Les valeurs enregistrées au cours de la semaine d'expérimentation à Ste-Anne n'ont pu être exploitées en raison d'une défaillance de la sonde utilisée.

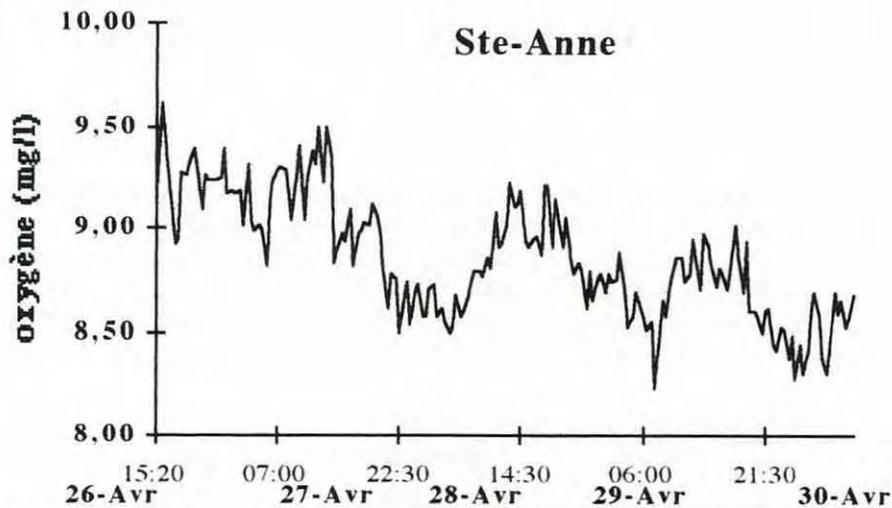


figure 32 : concentrations en oxygène dissous à Ste-Anne du Portzic (26 au 30/4/93)

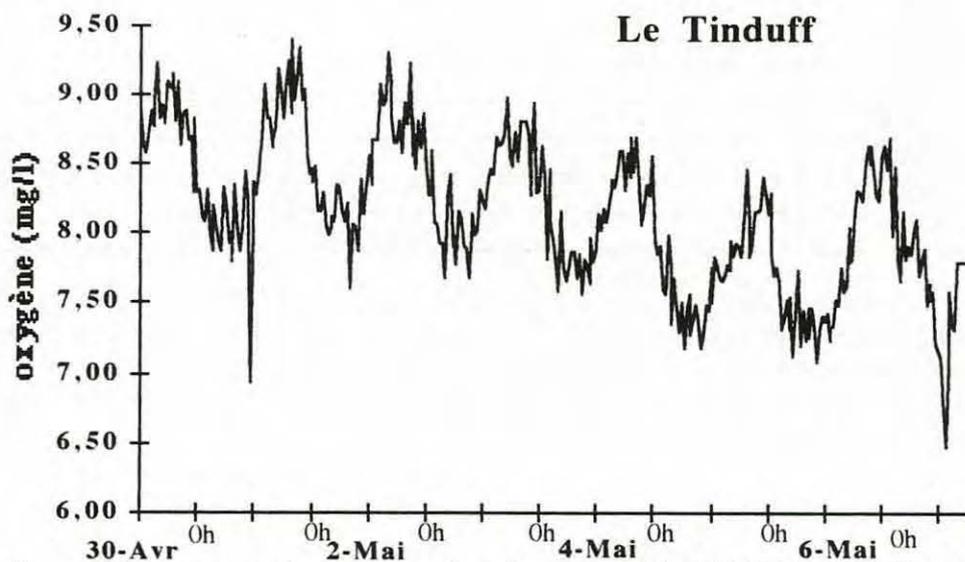


figure 33 : concentrations en oxygène dissous au Tinduff (30/4 au 7/5/93)

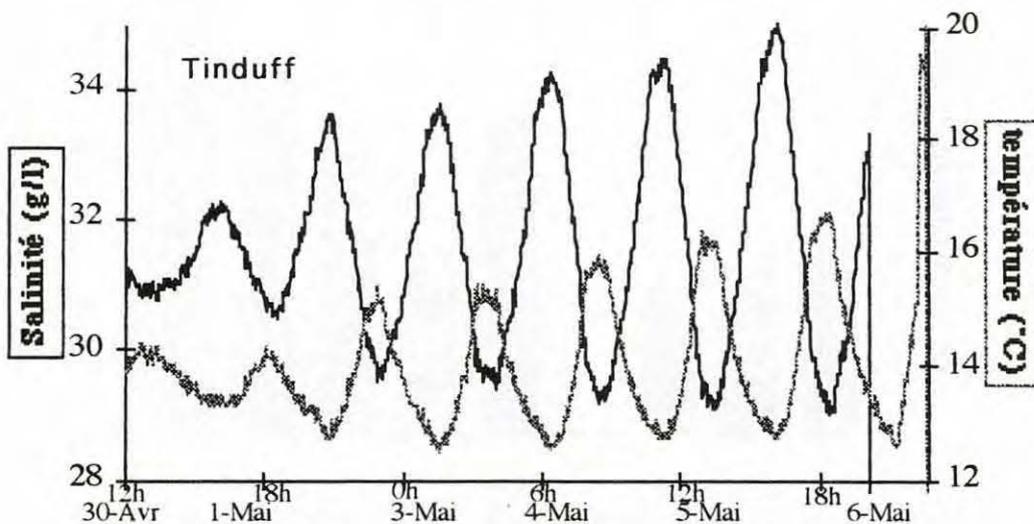


figure 34 : température et salinité au Tinduff (30/4 au 7/5/93)

Au Tinduff, la température a varié entre 13 et 16°C, suivant un cycle journalier opposé à celui de la salinité. La salinité oscille entre 29 et 35 g/l, valeurs normales, avec des cycles quotidiens, et une amplitude augmentant avec les coefficients de marée (fig. 34)

- charge phytoplanctonique :

La concentration de l'eau en phytoplancton est plus importante durant la semaine d'observation au Tinduff (tableau 8 et fig. 35). Ceci peut être attribué à la localisation de fond de rade, mais également au fait que la seconde semaine correspond à des vives eaux. La charge de la réserve d'eau en matières en suspension était telle qu'elle a nécessité son nettoyage le 7 mai car les filtres de l'écloserie étaient totalement colmatés (selon le personnel de l'écloserie, ce fut le seul apport important de phytoplancton jusqu'au mois d'octobre 93).

tableau 8 : concentrations en chlorophylle a et en phéopigments

date	lieu	chlorophylle a ($\mu\text{g/l}$)	phéo ($\mu\text{g/l}$)	phéopigments (%)
26 avril 93	Ste-Anne	2,7	1	28%
27 avril	St A	2,5	0	0%
28 avril	St A	2,2	0,4	17%
29 avril	St A	0,1	4,6	97%
30 avril	Tinduff	4,7	0,6	11%
3 mai	T	2,7	0,3	11%
4 mai	T	4,5	0,7	14%
5 mai	T	5,4	1,5	21%
6 mai	T	6,6	1,3	16%

L'analyse du 29/4/93 est douteuse (dégradation de la chlorophylle a en phéopigments). Le rythme quotidien d'échantillonnage est insuffisant pour traduire réellement de la qualité de l'eau du site. L'idéal serait d'utiliser un fluorimètre en continu afin de corrélérer réellement les mouvements valvaires aux concentrations phytoplanctoniques mesurées en direct.

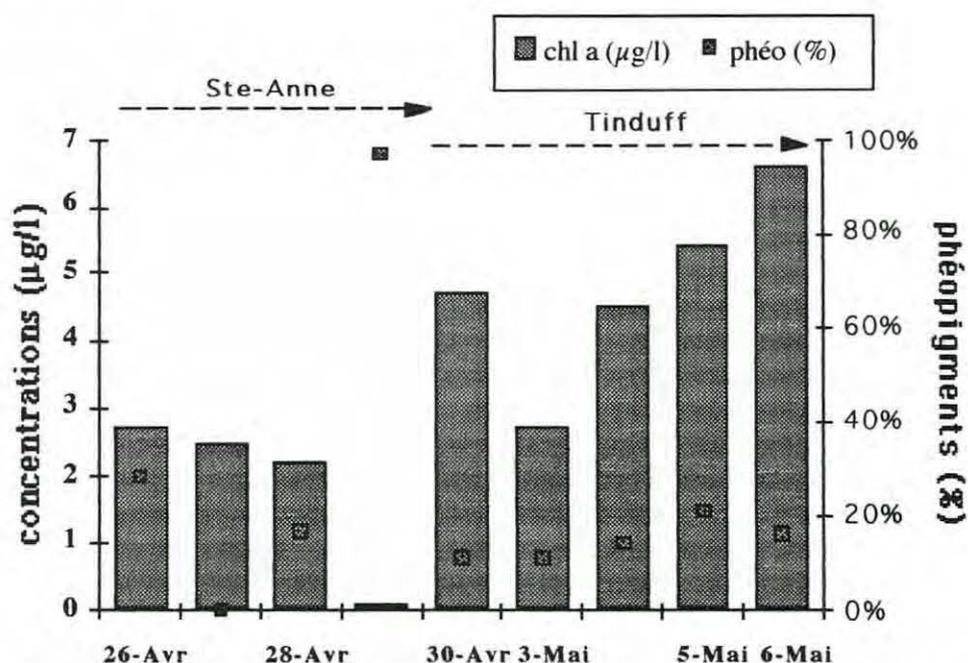


figure 35 : évolution des concentrations en chlorophylle a et en phéopigments - enregistrements valvaires :

Les figures 36 à 39 représentent les comportements valvaires des moules 1, 2, 3 et 6 à Ste Anne puis au Tinduff.

Les signaux valvaires du Tinduff montrent, pour cinq moules sur huit, une augmentation nette de l'activité surtout à partir du 2 mai 93 (mouvements amples et resserrés avec des pics d'adduction complets et incomplets très fréquents, de jour comme de nuit). Ceci peut être rapproché de l'augmentation de la charge phytoplanctonique survenue au Tinduff à cette période. Les mouvements d'adduction sont liés à une activité alimentaire importante, les pics correspondant à l'excrétion de fèces et de pseudofèces en grande quantité (étant donné les concentrations en seston la capacité d'ingestion est saturée, une partie des particules est rejetée sans être avalée). Les phases de quiescence, de courte durée, interviennent après une forte activité valvaire. Elles peuvent correspondre à une phase de digestion ou à l'isolement par rapport à un milieu trop chargé.

Pour 5 moules sur 8, l'activité (définie comme la fréquence des mesures successives différant d'au moins 20%) est presque doublée au Tinduff. Une analyse de variance monofactorielle a été réalisée afin de tester l'influence du site sur cette activité. Au seuil de risque de 5%, les deux séries de valeurs ne sont toutefois pas significativement différentes.

Une appréciation de la fermeture a également été faite en recherchant la fréquence d'ouvertures inférieures à 10%. Au seuil de risque de 5%, les deux séries de mesures (Ste-Anne - Le Tinduff) sont significativement différentes (test par analyse de variance).

tableau 9 : statistiques sur les ouvertures valvaires des moules à Ste-Anne puis au Tinduff

enregistrement à Ste-Anne du Portzic 26-30/4/93 (cadence 2 min)								
<i>Mytilus galloprovincialis</i> d'Ouessant								
	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8
moyenne	75,09	84,84	72,84	64,46	70,91	68,38	75,13	78,16
écart-type	11,01	0,33	16,97	4,21	0,78	8,26	0,89	0,47
Activité>20%	166	97	132	204	244	146	101	68
N (%)	(5,81)	(3,4)	(4,62)	(7,14)	(8,54)	(5,11)	(3,54)	(2,38)
fermeture<10%	68	31	62	70	99	183	44	42
N (%)	(2,38)	(1,08)	(2,17)	(2,45)	(3,47)	(6,41)	(1,54)	(1,74)

enregistrement au Tinduff 30/4 au 7/5/93 (cadence 2min)								
<i>Mytilus galloprovincialis</i> d'Ouessant								
Tinduff	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8
moyenne	72,09	70,65	63,84	60,16	71,97	61,49	62,08	72,19
écart-type	16,98	20,31	19,23	16,88	14,89	17,90	15,33	13,18
activité>20%	315	308	349	294	268	186	285	257
N (%)	(7,2)	(7,04)	(7,98)	(6,72)	(6,13)	(4,25)	(6,52)	(5,88)
fermeture>10%	8	89	128	95	1	10	50	2
N (%)	(0,18)	(2,04)	(2,93)	(2,17)	(0,023)	(0,23)	(1,14)	(0,046)

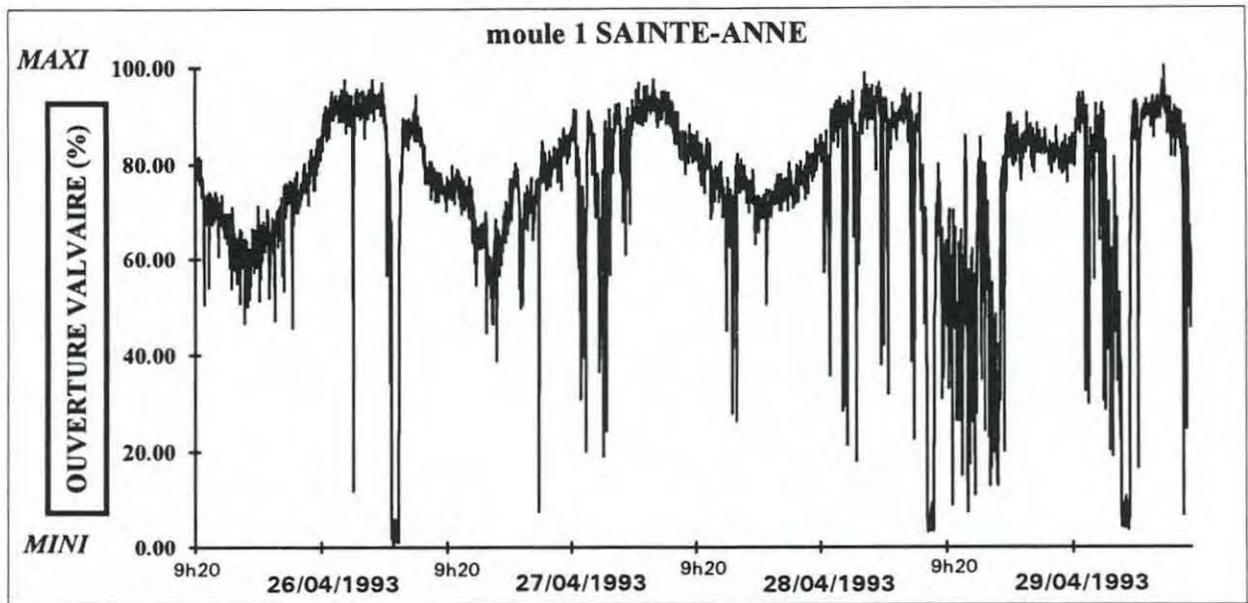
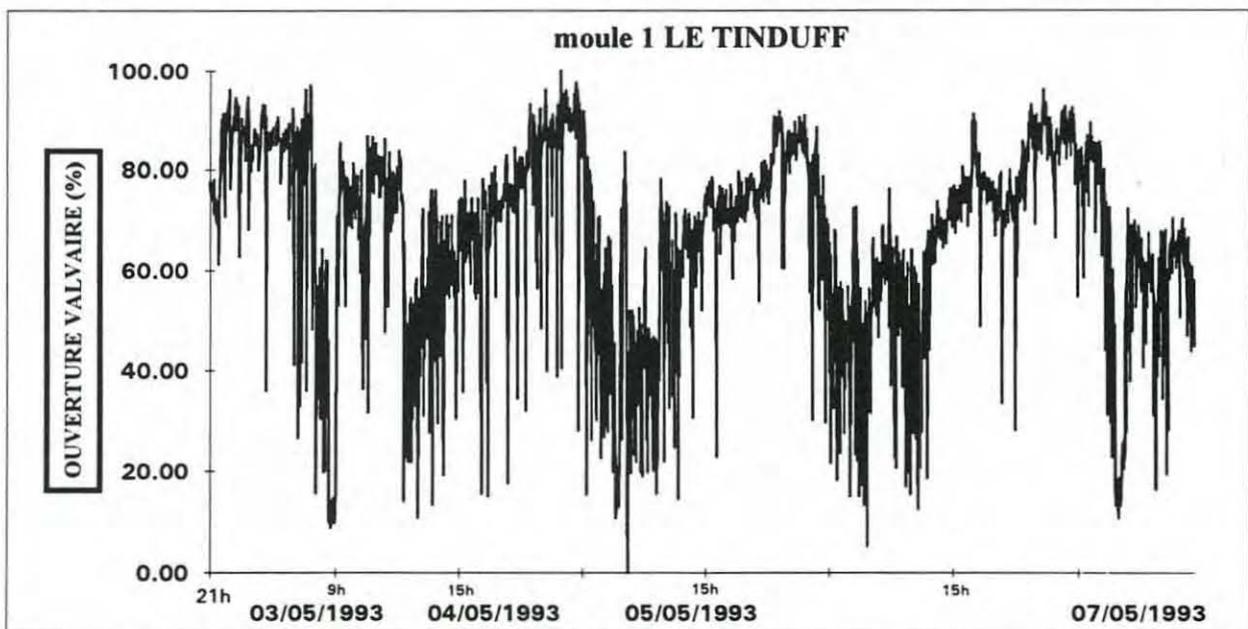


figure 36 : comportement valvaire de la moule 1 à SAINTE-ANNE puis au TINDUFF Avril-Mai 1993



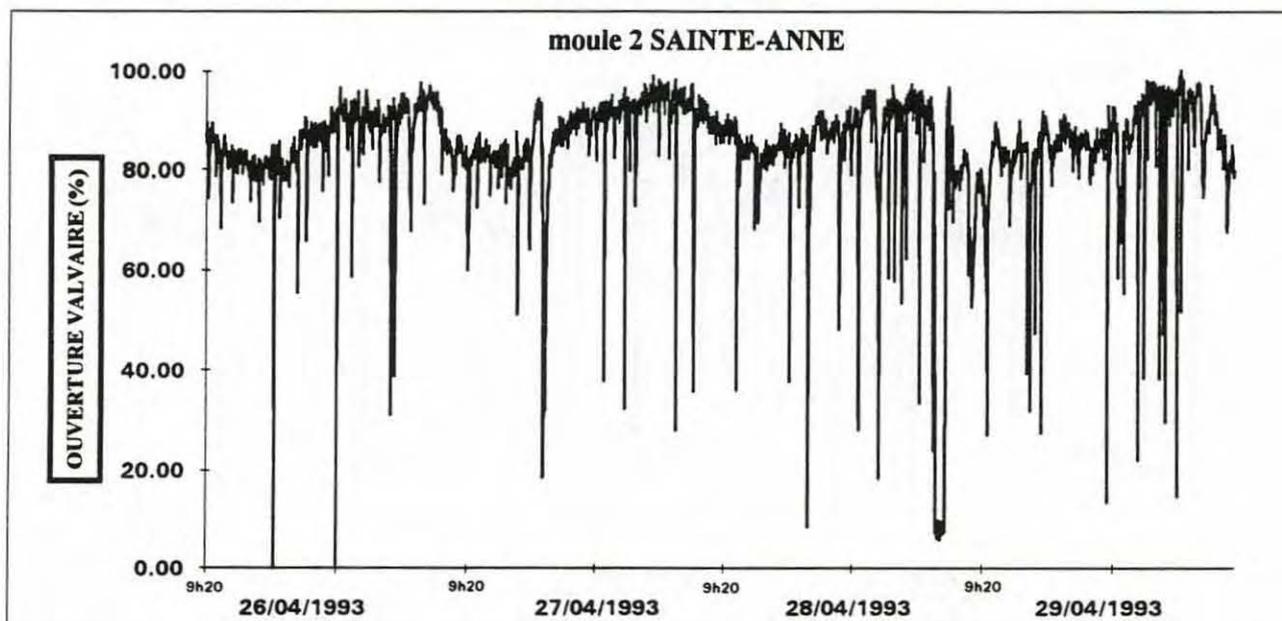
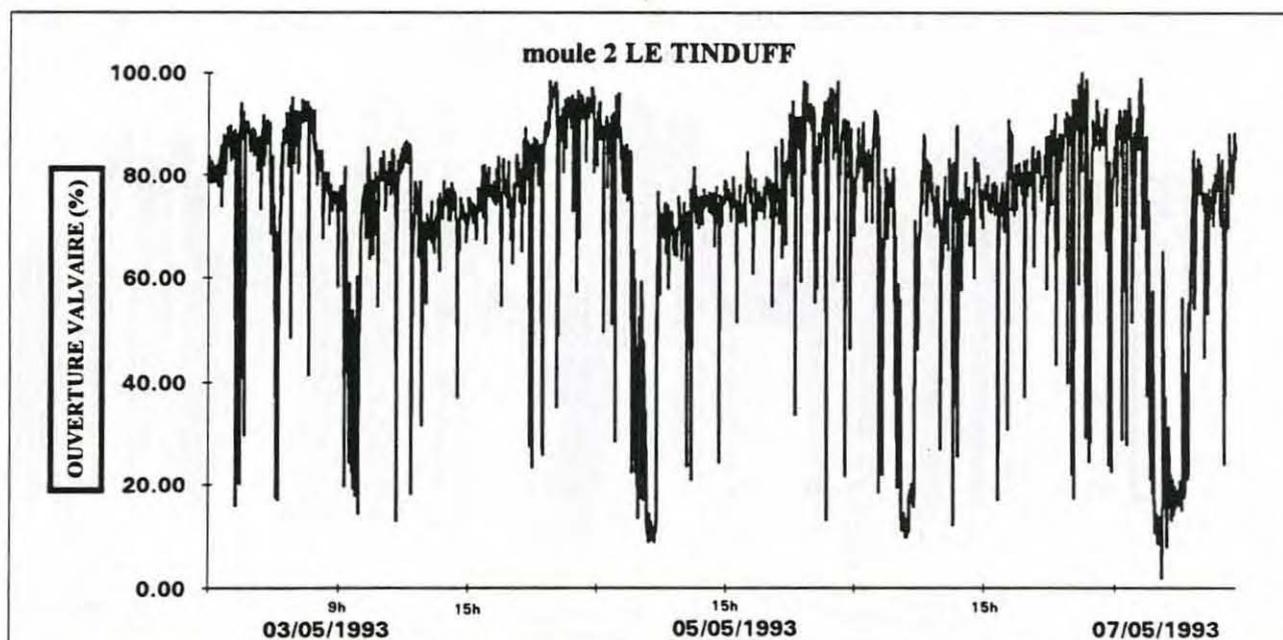


figure 37 : comportement valvaire de la moule 2 à SAINTE-ANNE puis au TINDUFF Avril-Mai 1993



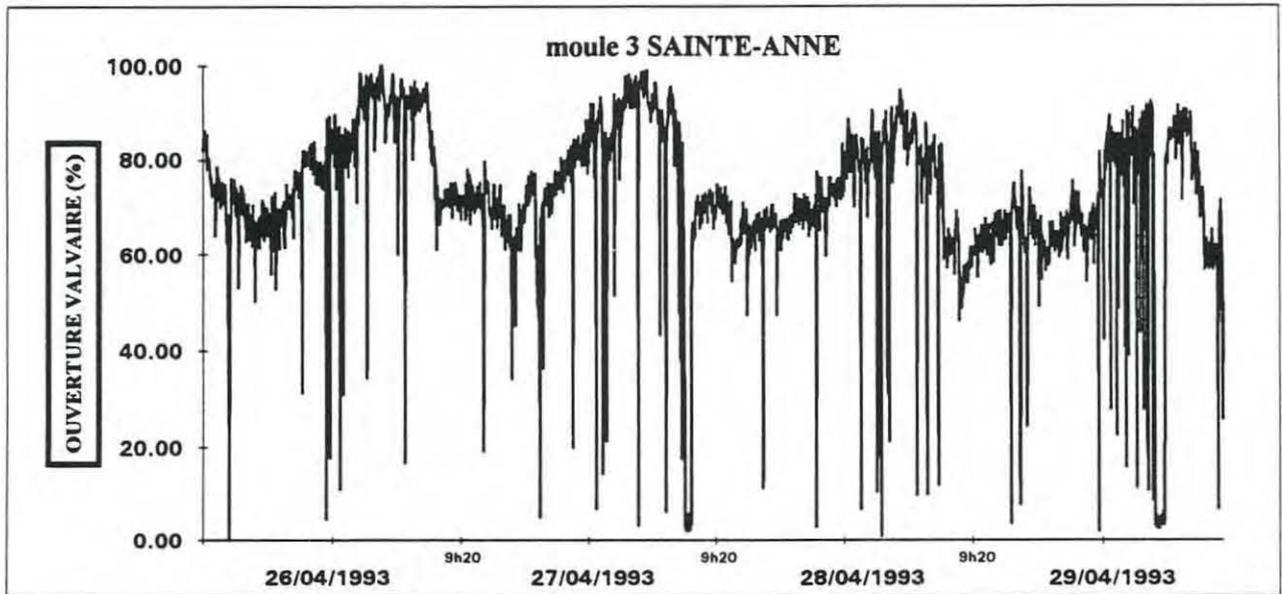
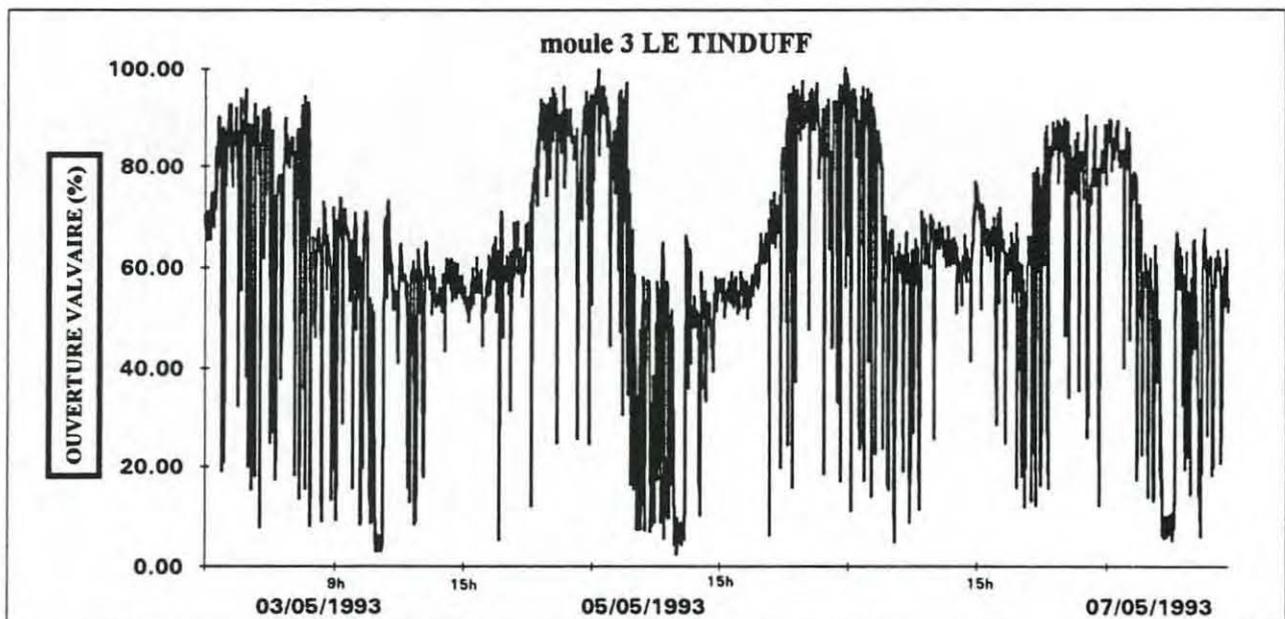


figure 38 : comportement valvaire de la moule 3 à SAINTE-ANNE puis au TINDUFF Avril-Mai 1993



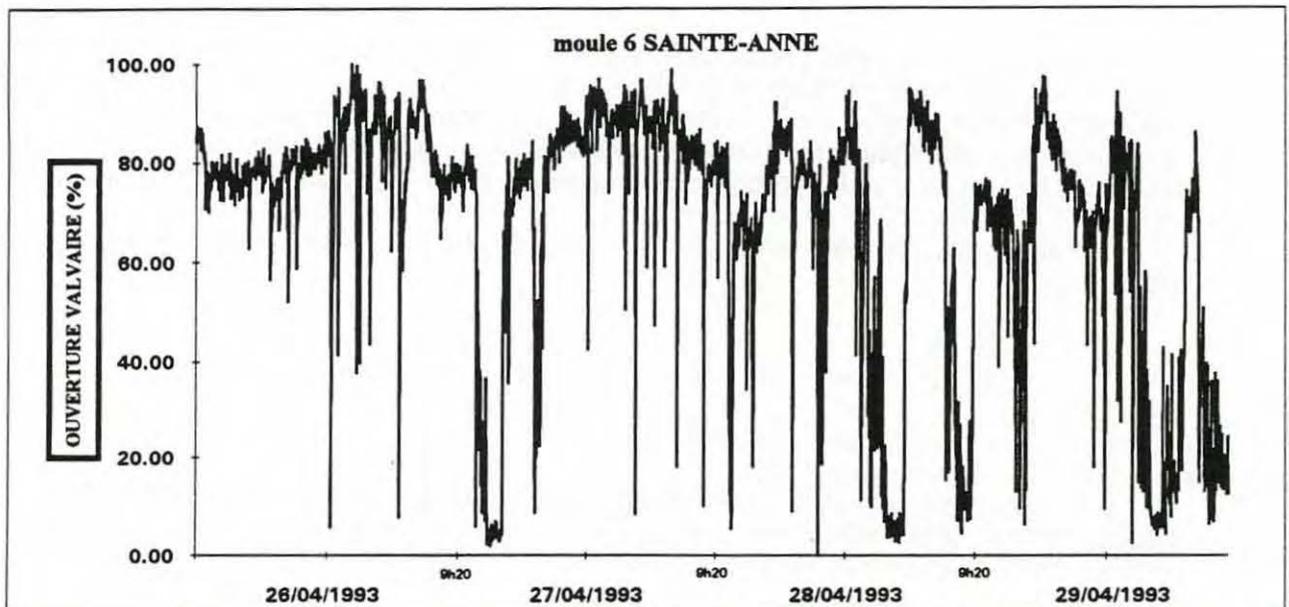
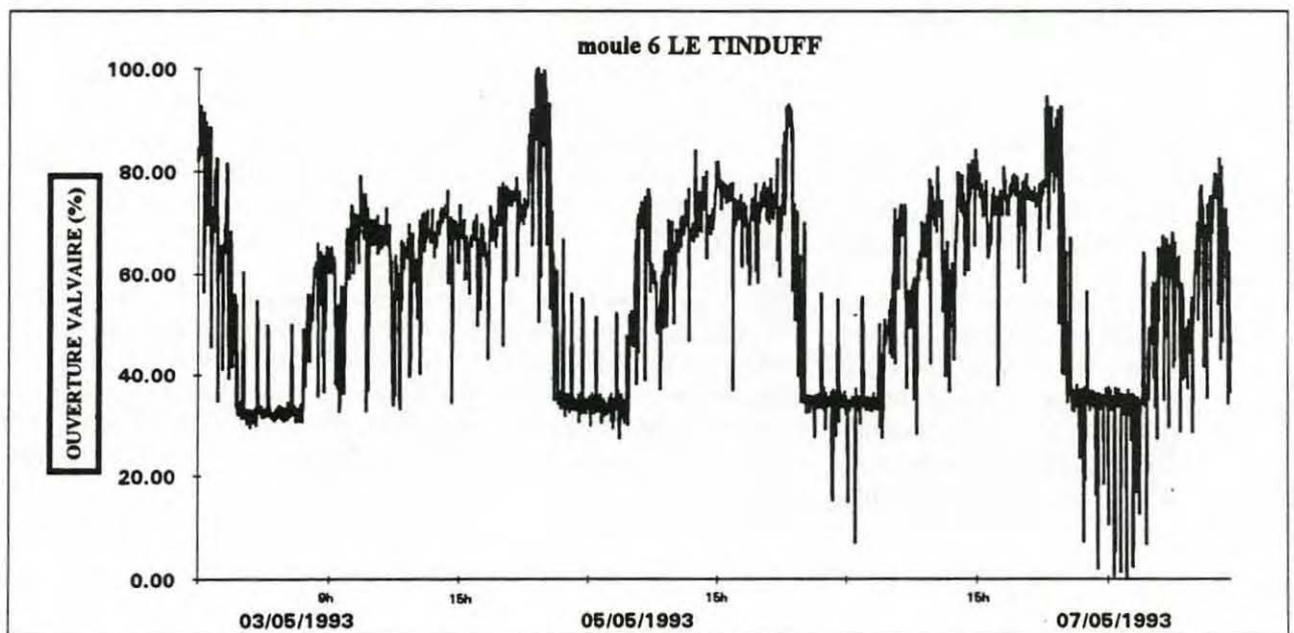


figure 39 : comportement valvaire de la moule 6 à SAINTE-ANNE puis au TINDUFF Avril-Mai 1993



Cette première comparaison des mouvements valvaires de moules a été réalisée au printemps, période de multiplication du phytoplancton. La différence de comportement entre ces deux sites est nette et semble corrélée à la charge sestonique de l'eau. Il convient cependant de rappeler que les conditions d'alimentation en eau étaient différentes (pompage continu à Ste-Anne et discontinu au Tinduff). De plus, les enregistrements ont été réalisés l'un à la suite de l'autre : les moules n'ont donc pas bénéficié des mêmes marées ni des mêmes conditions météorologiques.

Toutefois, les premiers résultats soulignent la validité des mouvements valvaires et de ce type de capteur pour évaluer les qualités d'eau de différents sites. C'est une application envisageable en expertise conchylicole. Ce type de mesures pourrait venir compléter les informations fournies par certains réseaux de suivi mis en place par l'Ifremer, notamment le réseau REMORA qui étudie la croissance des huîtres creuses en différents points du littoral.

Une seconde série de mesures a été réalisée, à l'automne, en parallèle sur les deux sites.

II.2.3.2. deuxième comparaison en parallèle à l'automne 93

- matériel et méthodes :

Les mouvements valvaires des moules ont été mesurés en mer, par deux valvomètres Ifremer-Micrel, à la cadence de 2 minutes. Les fichiers de mesures ont été récupérés régulièrement (une fois par semaine environ).

Un casier a été immergé au TINDUFF, en face de l'écloserie du Comité Local des Pêches Maritimes, à proximité de la pompe immergée alimentant l'écloserie en eau de mer. Elle reflète donc bien la qualité de l'eau utilisée pour l'élevage des larves de coquilles Saint-Jacques. Le point est non découvrant à marée basse, hormis par forts coefficients. Le casier repose sur le fond sableux. Le deuxième valvomètre a été immergé dans la concession de l'Ifremer à Sainte-Anne du Portzic, sur un fond sableux, à proximité de la côte exposée au sud, dans une zone bien renouvelée et non découvrante.

Huit moules *Mytilus galloprovincialis* provenant de filières d'Ouessant (longueur 64,5+/-4,5 mm ; largeur : 30,8+/-1,9 mm ; épaisseur : 21,4+/-1,9 mm) ont été collées sur chacun des deux valvomètres. Après une période d'adaptation de 3 jours au laboratoire, les appareils sont installés en mer le 20 septembre 93. Pour des raisons pratiques, le casier de Sainte-Anne a été relevé définitivement le 7 octobre 93, tandis que celui du Tinduff a fonctionné jusqu'au 25 octobre 93 (fig. 40).

Pendant les deux premières semaines, un prélèvement d'eau de mer a été réalisé quotidiennement sur chacun des sites, à partir de la côte, avant la basse mer. Les échantillons sont ensuite préfiltrés à 200 microns puis filtrés sur filtres Whatman GF/F. Les filtres destinés au dosage des matières en suspension sont rincés après filtration avec de l'eau distillée, afin d'éliminer le sel retenu. La mesure des matières en suspension est effectuée sur filtres brûlés, après passage à l'étuve à 55° (taux de matières organiques et minérales) puis à 450° (taux de matières minérales).

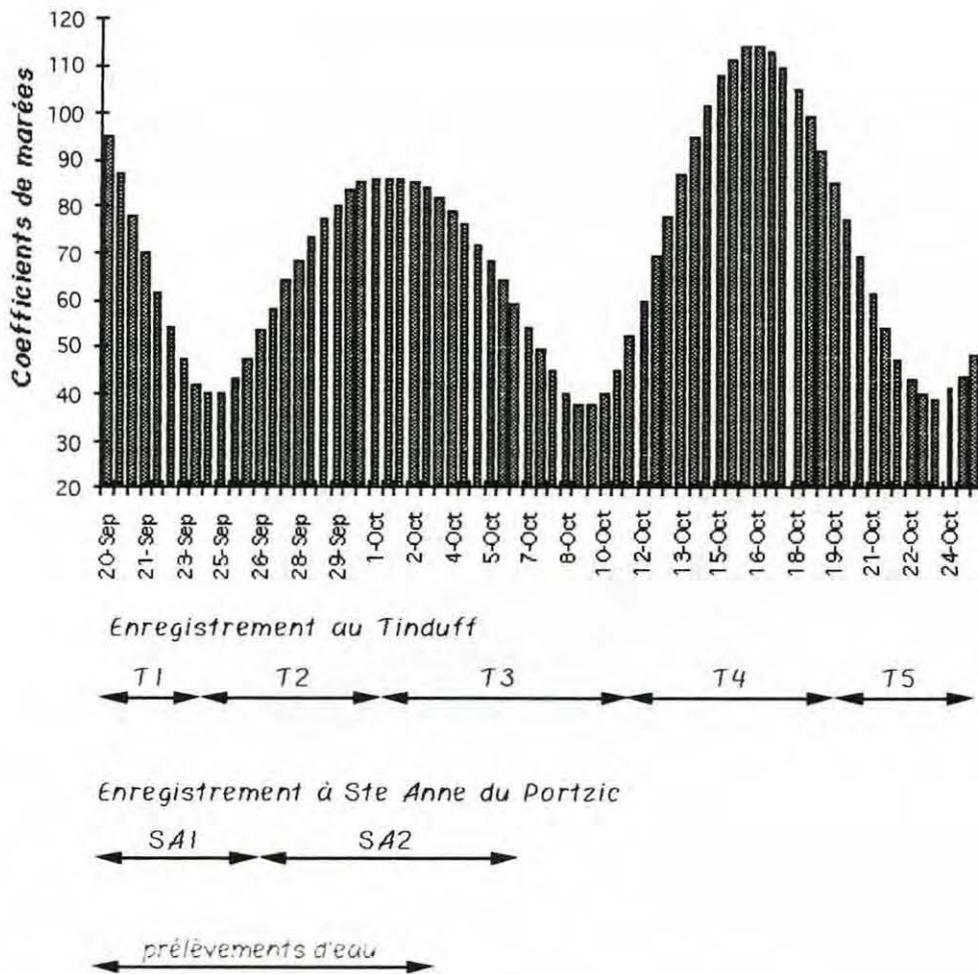


figure 40 : calendrier des expérimentations

- résultats

- conditions d'enregistrement :

Les mesures valvaires se sont déroulées sans problème au Tinduff, le casier reposait correctement sur le fond et les signaux sont parfaitement exploitables. Par contre, le valvomètre immergé à Saint-Anne a été recouvert de sable lors des deux essais d'enregistrement. Les conditions météorologiques étaient particulièrement défavorables, avec une tempête de sud-suroît et un fort ressac. Il est probable que le casier, proche de la côte, ait été malmené pour ces raisons. Les "cupules" creusées dans la résine de la base de l'appareil, en regard des capteurs, se sont remplies de sable alors que les aimants étaient soulevés. L'espace étant comblé, les aimants n'ont pas pu revenir à leur position initiale lors des fermetures valvaires. Les adductions ne sont pas visualisées sur les graphes qui sont donc "plats". Dans ces conditions, il est impossible de faire une comparaison des huit moules de chaque site.

Pendant le premier enregistrement à Ste Anne, deux signaux semblent utilisables. nous les avons donc comparés à ceux de deux moules du Tinduff. Par la suite, dans la seconde série, un seul capteur a fonctionné normalement à Sainte-Anne. Nous prendrons donc une moule de chaque site. En raison du faible effectif des échantillons, les résultats sont à appréhender avec circonspection.

- matières en suspension dans l'eau :

Le taux de matières en suspension (fig. 41 et 42) est relativement important, mais il est principalement constitué de matières minérales comme le montrent les résultats après passage des échantillons à 450°C (fig. 42). Ceci peut être amplifié par la méthode de prélèvement (en surface et à partir de la côte), surtout pendant les tempêtes.

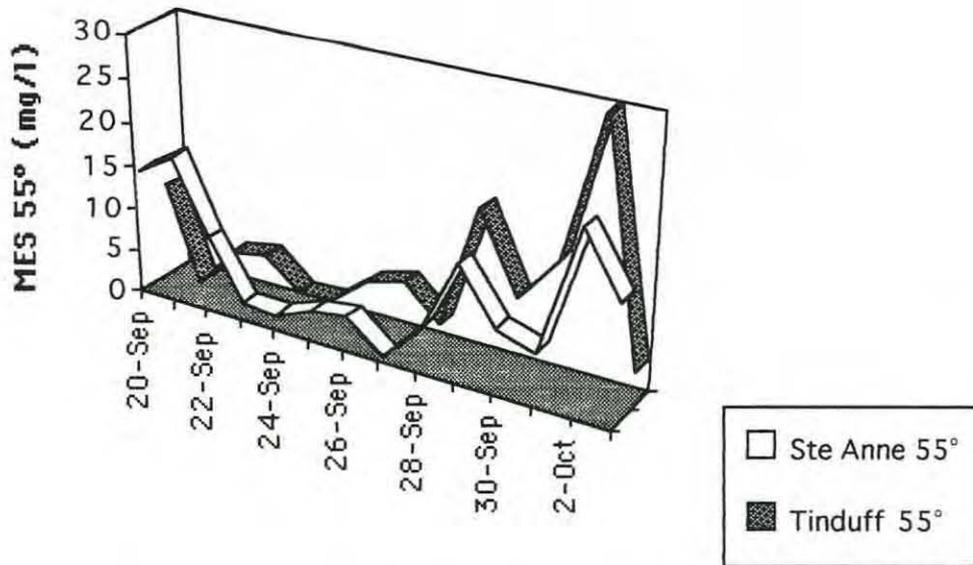


figure 41 : matières en suspension (après passage à l'étuve à 55°C)

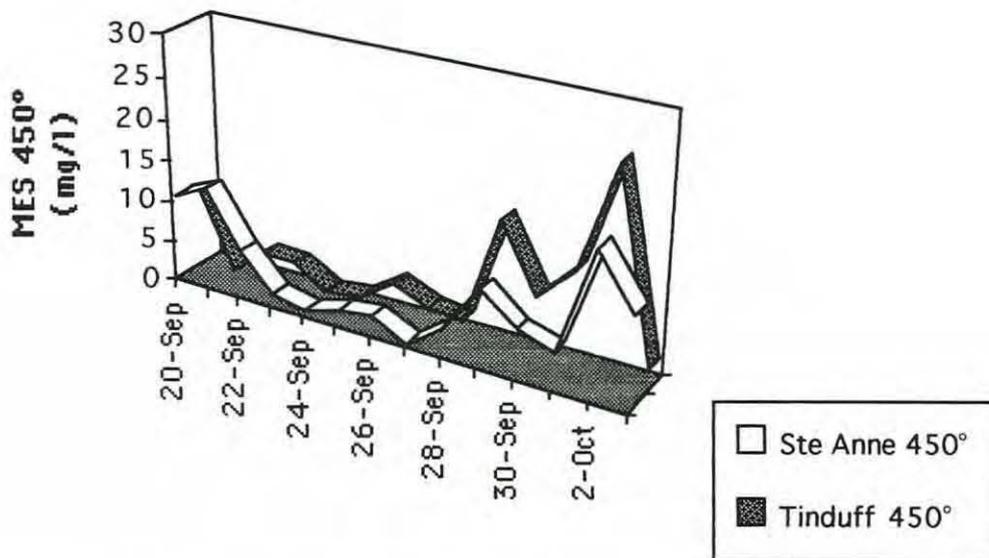
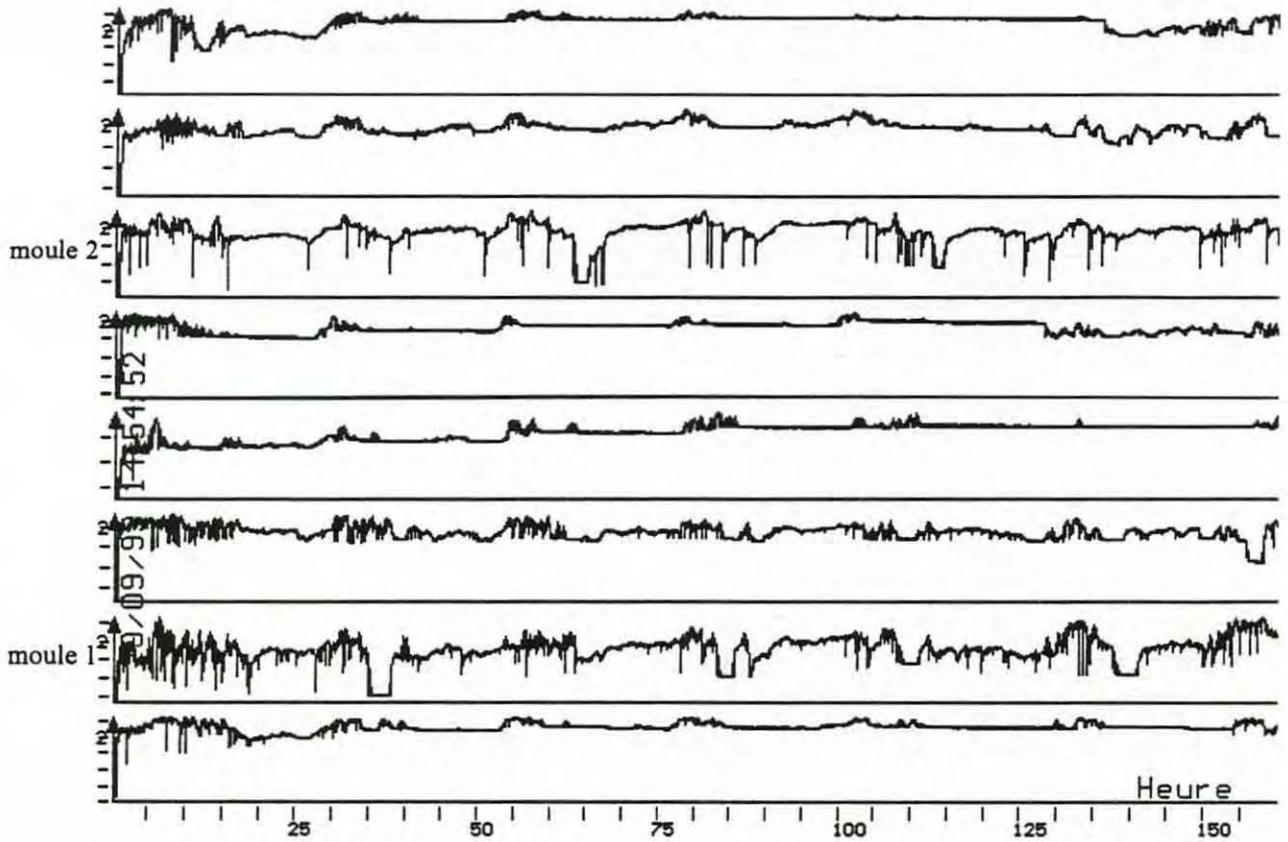


figure 42 : matières minérales (après passage à l'étuve à 450°C)

- mouvements valvaires:

Les signaux valvaires sont présentés sur les figures 43 et 44. La comparaison des comportements dans les deux sites ne montre pas de différence très nette. L'activité au

(A) : enregistrement à STE ANNE (20-27/9/93)



(B) : enregistrement au TINDUFF (20-24/9/93)

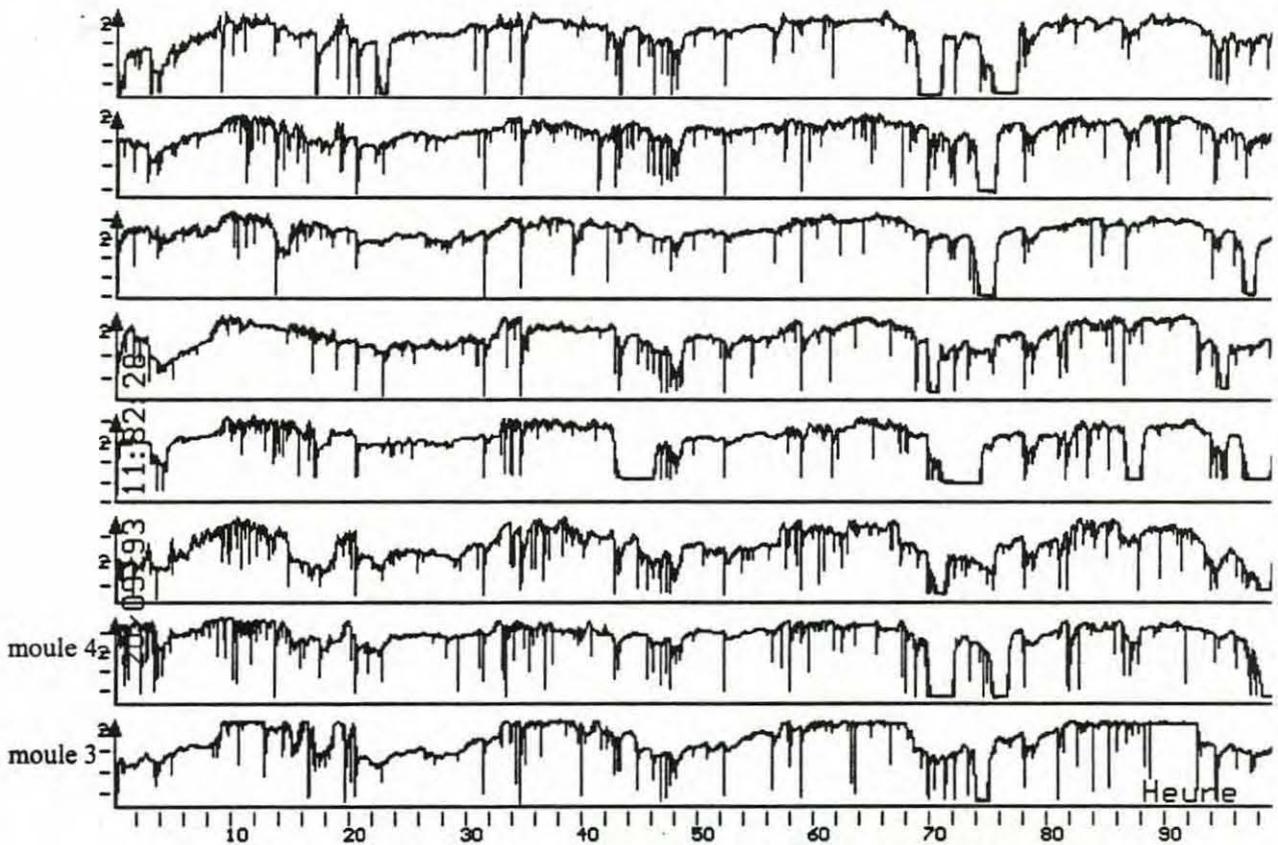


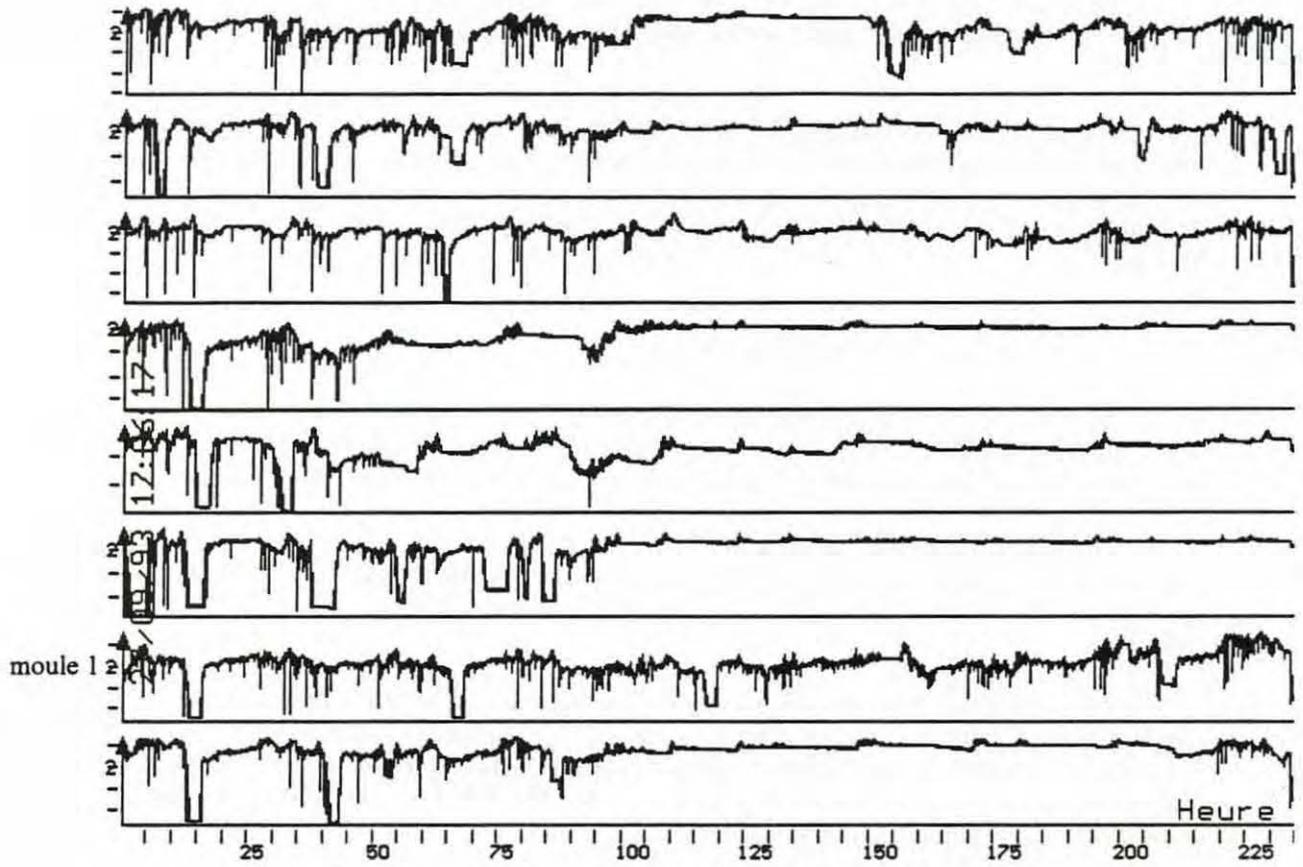
figure 43 : signaux valvaires à Ste-Anne et au Tinduff Septembre 93 (1ère période)
(A) : Ste-Anne ; (B) : Le Tinduff

Tinduff pourrait être plus importante, (hypothèse non confirmée par analyse de variance au seuil de risque de 5%). A partir du 27 septembre 93, les concentrations en seston augmentent et les moules au Tinduff ont une activité légèrement plus marquée (tableau 9). Il est cependant délicat de pousser plus loin les investigations vus les problèmes techniques rencontrés au cours des enregistrements à Sainte-Anne.

tableau 9 : statistiques sur les ouvertures valvaires dans les deux sites

mesures en parallèle à Ste-Anne et au Tinduff (cadence : 2 minutes)			
Ste-Anne du Portzic	Ste-A1 m1	Ste-A1 m 2	Ste-A2 m1
Nombre de mesures	5077	5077	2852
moyenne	61,64	74,93	61,46
écart-type	15,72	13,55	16,4
Activité >20% N (%)	104 (2,05)	67 (1,32)	45 (1,58)
Fermeture > 10% N (%)	111 (2,19)	20 (0,39)	161 (5,64)
période	20/9 - 27/9	20-27/9	27/9-1/10
Le Tinduff	T1 m3	T1 m 4	T2 m3
Nombre de mesures	1965	1965	5067
moyenne	73,64	78,68	74,66
écart-type	18,88	13,91	22,03
Activité >20% N (%)	76 (3,87)	120 (6,11)	184 (3,63)
Fermeture >10% N (%)	11 (0,56)	9 (0,46)	203 (4,01)
période	20/9-24/9	20/9-24/9	24/9-1/10

(C) enregistrement à STE ANNE (27/9-7/10/93)



(D) : enregistrement au TINDUFF (24/9-1/10/93)

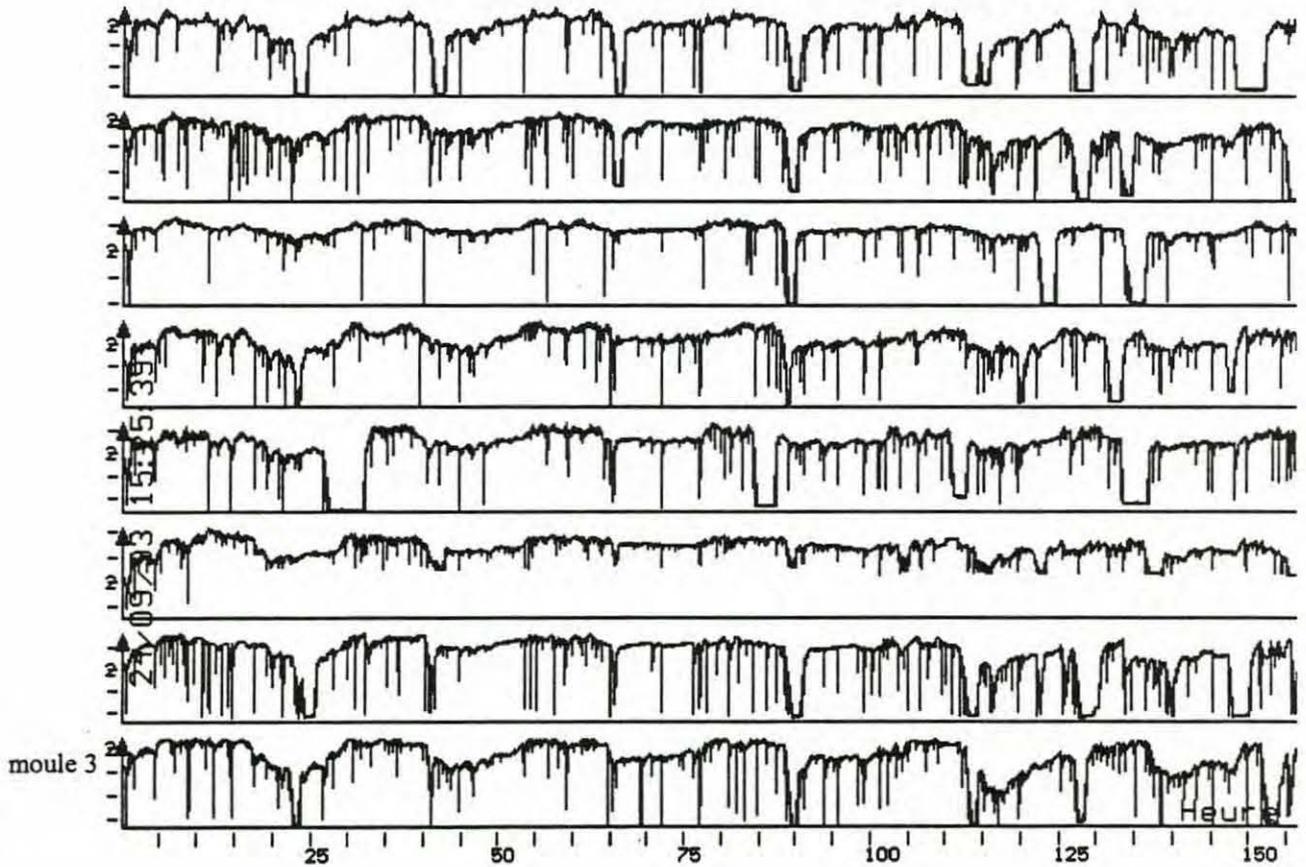


figure 44 : signaux valvaires à Ste-Anne et au Tinduff Septembre 93 (suite)

(C) : Ste-Anne ; (D) : Le Tinduff

II.2.4. Utilisation du valvomètre en situation d'alerte dans une zone conchylicole : Paluden dans l'Aber Wrac'h

A la suite de fortes mortalités d'huîtres creuses constatées subitement, en septembre 1993 sur certains parcs à huîtres du site de Paluden dans l'Aber Wrac'h (figure 45) et en complément des analyses histologiques mises en oeuvre immédiatement, un valvomètre "Ifremer-Micrel" a été installé sur site, afin de réaliser une évaluation biologique de la qualité de l'eau.

II.2.4.1. Matériel et méthodes

Les 8 moules (*Mytilus galloprovincialis*) utilisées sont issues de captage naturel de Groix et ont grandi sur des filières à Ouessant (site océanique). Après collecte, elles ont été maintenues plusieurs semaines au laboratoire, en eau de mer à 34‰ en circuit ouvert.

Une fois garni, le valvomètre a été fixé dans un casier immergé, à 1,5 m de profondeur, à la verticale d'un bateau ancré dans le chenal de Paluden, dans une zone non exondante. Hormis en basse mer de grande marée, le casier ne pouvait pas reposer sur le fond.

La cadence de mesures choisie est de 2 minutes. La période d'évaluation a débuté le 9 octobre 1993. Le suivi des mouvements valvaires des moules a duré jusqu'au 22 novembre (fig. 46), la centrale d'acquisition de données étant vidée périodiquement (tous les 7 à 10 jours environ). Les interruptions de mesure (27 au 28/10 et 7 au 12/11/93) sont dues à l'arrêt de la centrale lorsque la mémoire est saturée.

Une sonde SUBER, immergée elle aussi à la verticale du bateau, fournit température et salinité sur certaines périodes. Son pas d'enregistrement est de 2 minutes.

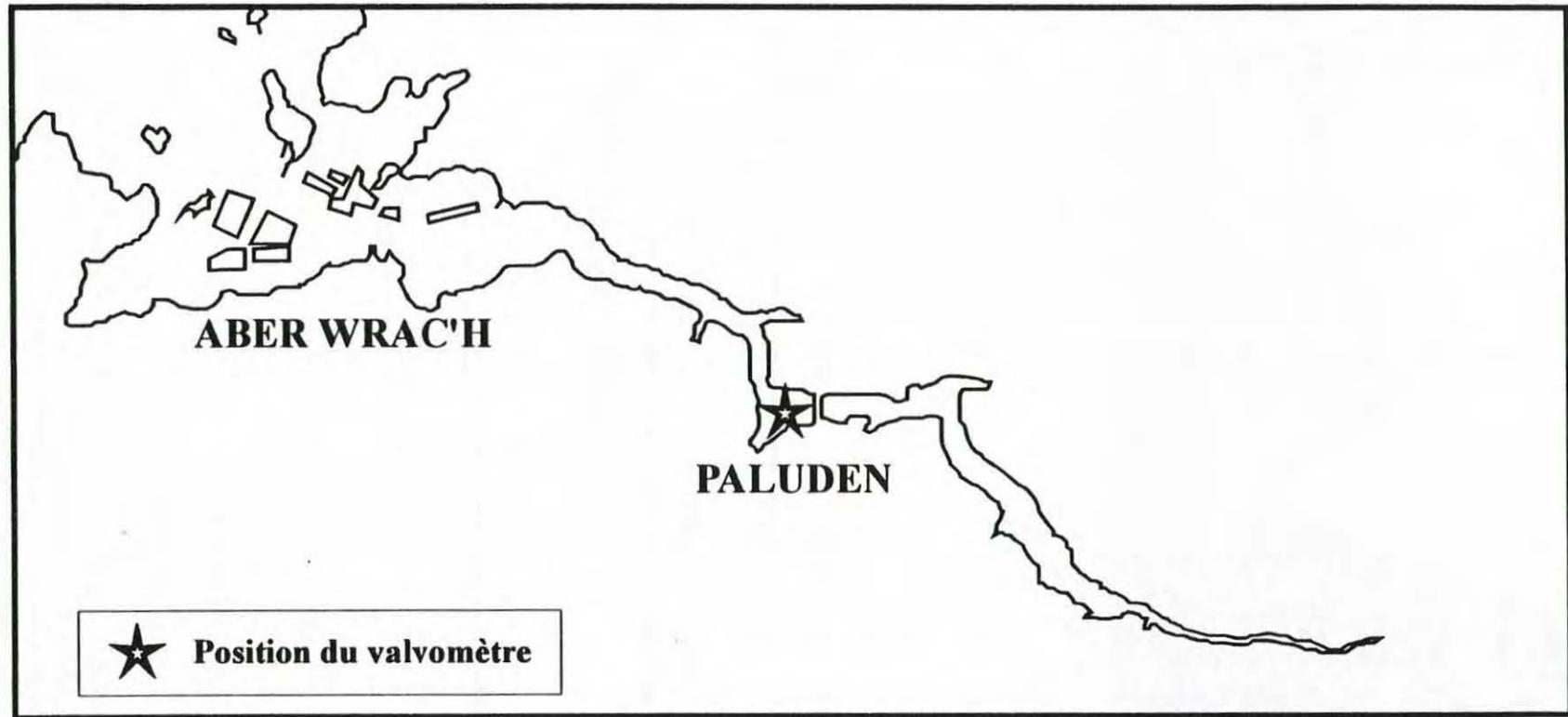


figure 45 : CARTE DE L'ABER WRAC'H

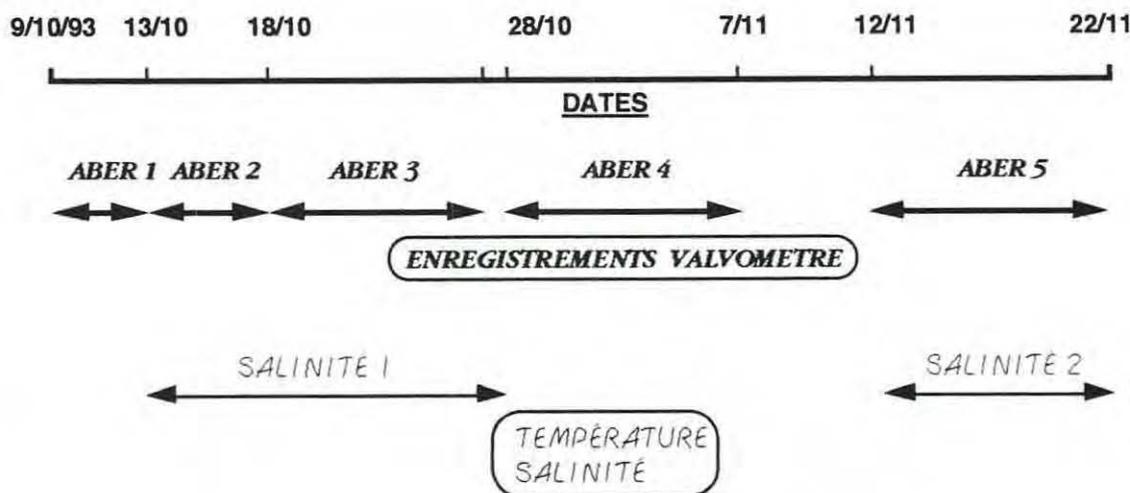
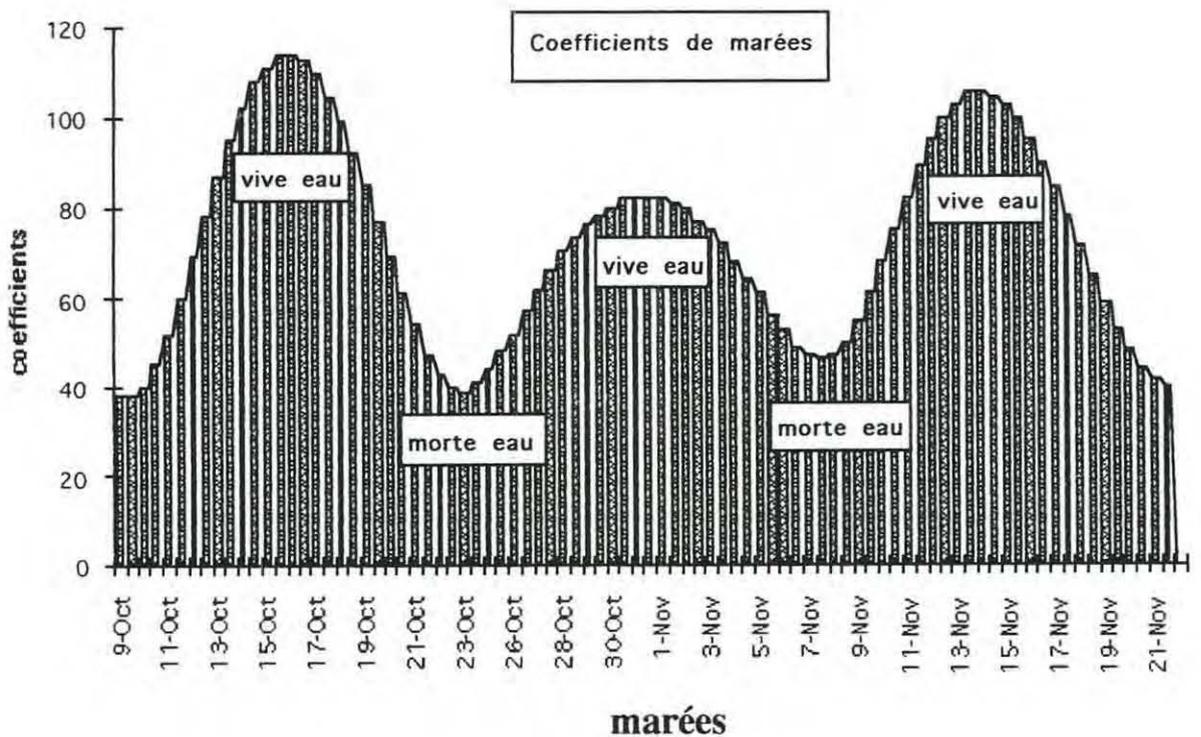


figure 46 : calendrier des expérimentations à Paluden

II.2.4.2. Résultats

- température et salinité :

Les températures se situent entre 14 et 10,5°C du 13 au 28/10/93, et entre 12,5 et 8,5°C du 12 au 22/11/93. Les valeurs suivent une oscillation tidale, avec maxima aux alentours de la pleine mer. La salinité varie également suivant le rythme des marées, avec des chutes de salinité à marée descendante. Ces dessalures peuvent être considérables en périodes de vives eaux (du 13 au 18 octobre et du 12 au 18 novembre), avec des minima atteignant jusqu'à 6 g/l le 17 octobre. En mortes eaux, l'amplitude de variation est plus faible et les valeurs comprises entre 30 à 34 g/l (cf. fig. 47 et 48).

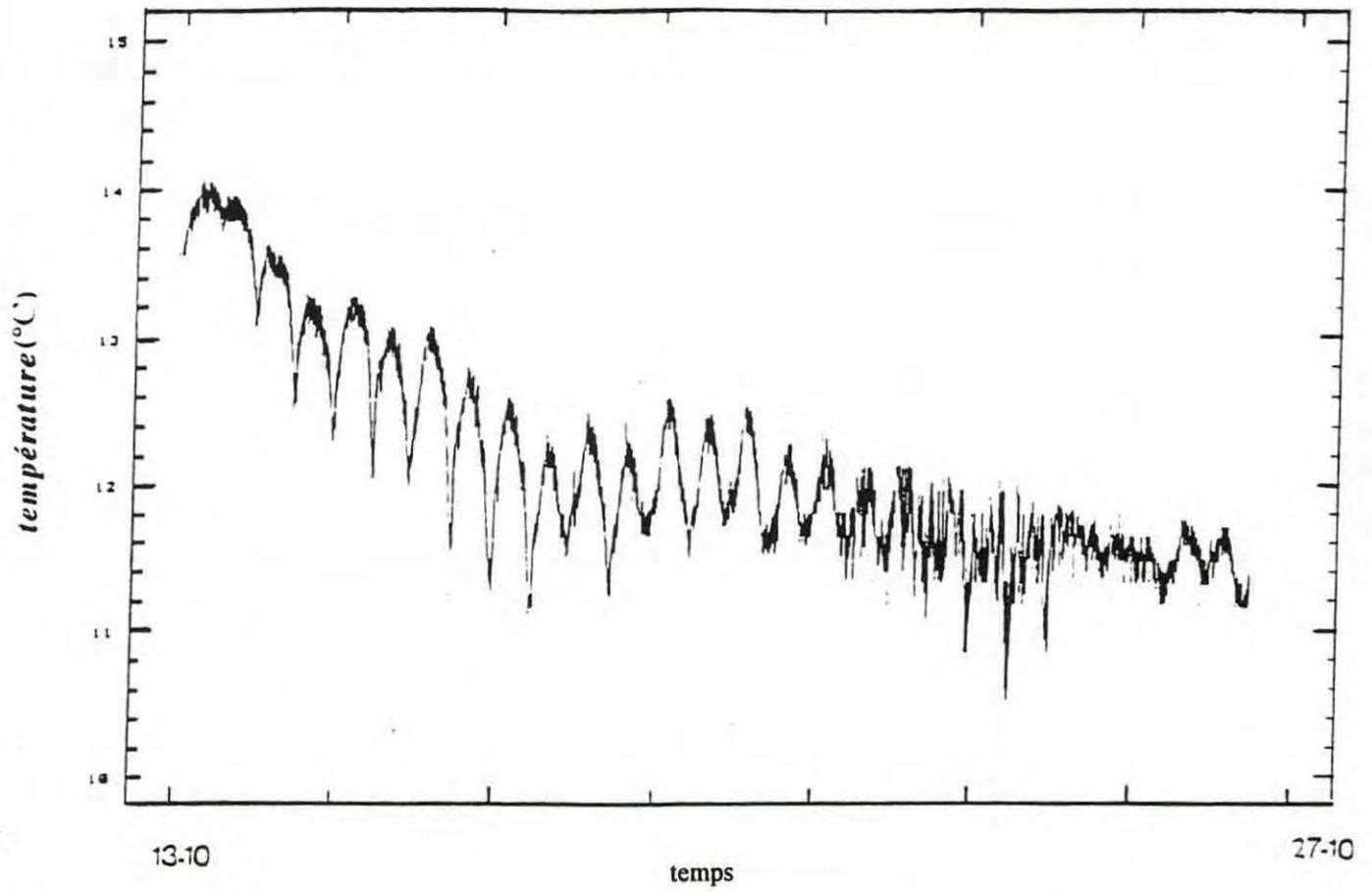
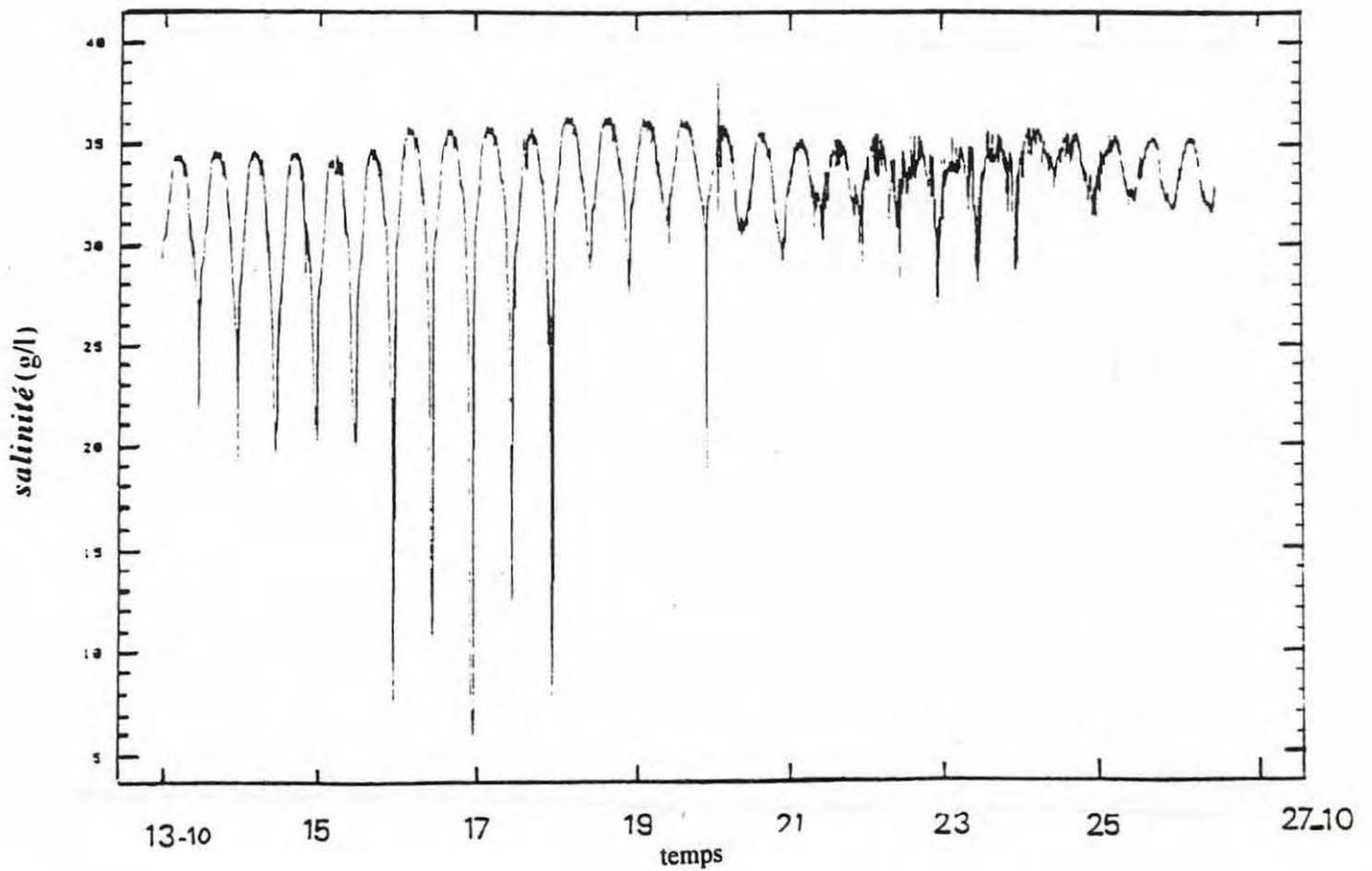


figure 47 : courbes de température et de salinité à Paluden du 13 au 27 octobre 93



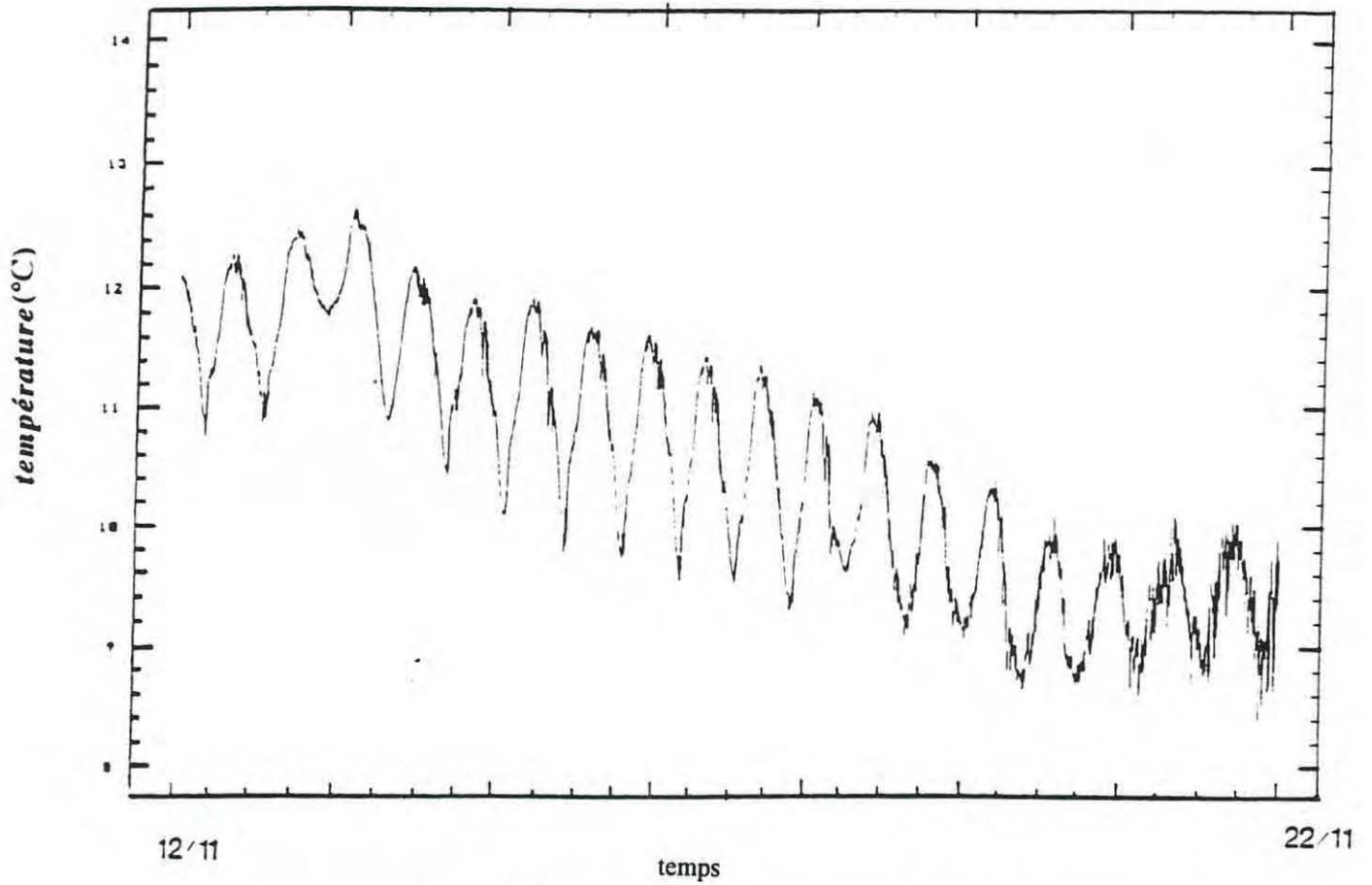
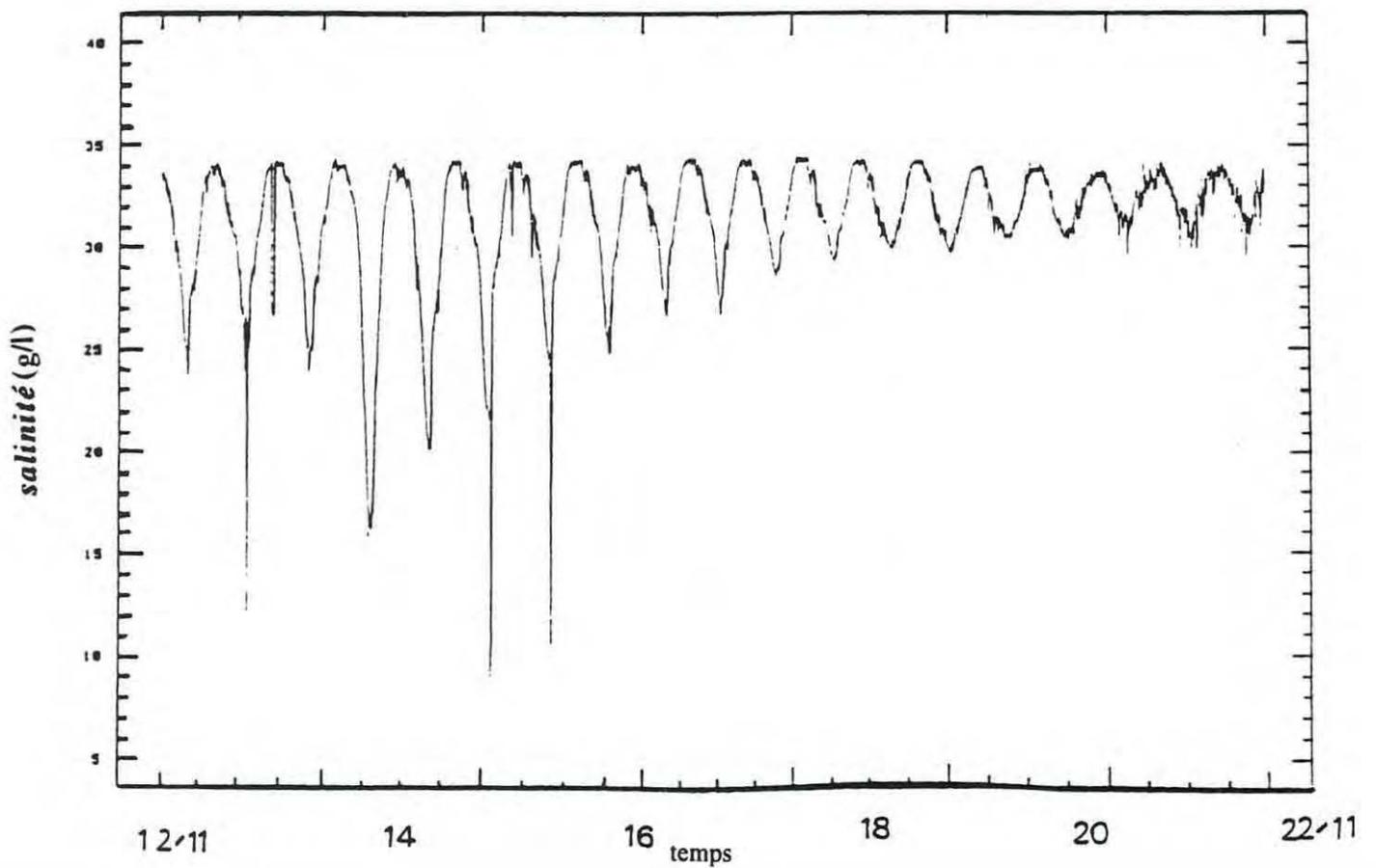


figure 48 : courbes de température et de salinité à Paluden du 12 au 22 novembre 93



- les différents types de mouvements valvaires :

Les signaux montrent une prédominance de périodes de large ouverture valvaire avec une activité fine omniprésente (fig. 49 à 55 : signaux valvaires et tableau 11 : traitement statistique des valeurs) ponctués de pics d'adduction très brefs et de phases de quiescence, plus ou moins prolongées (de 30 minutes à 2 heures).

Dans l'ensemble, les mouvements valvaires des moules sont homogènes. Toutefois, certaines différences existent, comme le comportement de la moule 7 présentant à partir du 26 octobre 93, une hyperactivité et corrélativement une diminution de l'ouverture moyenne (Aber 4 fig. 54).

Durant la première période de mesure (Aber 1 fig. 49), sept des huit moules montrent une **rythmicité** valvaire nyctémérale ; toutefois, celle-ci n'apparaît pas nettement dans les mesures suivantes, en raison des nombreuses phases de quiescence.

- les événements marquants :

réactions aux dessalures :

A certaines périodes (fig. 51 Aber 2 du 14 au 27/10/93 et fig. 55 Aber 5 du 13 au 16/11/93), interviennent des phases de fermetures synchrones d'une à deux heures, ou d'hyperactivité (mouvements amples resserrés avec fermeture totale brève). Ces événements se produisent généralement en périodes de vives eaux à basse mer.

Le casier n'est jamais exondé. Son échouage peut être envisagé lors de basses mers avec de très forts coefficients : le choc pourrait alors provoquer une fermeture simultanée et brutale de toutes les moules mais probablement pas pendant deux heures.

Les fermetures (quiescence ou hyperactivité) des moules semblent corrélées aux importantes dessalures intervenant à basse mer de grandes marées, comme le montre la superposition des signaux valvaires aux courbes de salinité (fig. 56 et 57). Ces mouvements seraient, au moins en partie, une réponse à ces chutes de salinité. Par cette réaction d'isolement vis à vis du milieu extérieur, l'organisme lutte contre la dilution de son milieu intérieur et assure le maintien de son équilibre ionique et osmotique, en dépit des conditions extérieures (Bayne, 1976 ; Davenport, 1979).

La réouverture valvaire intervient brusquement et se superpose à la ressalure. Les moules retrouvent alors une activité normale, avec ouverture importante. Le retour en mortes eaux coïncide avec une forte régression voire une disparition de ces fermetures prolongées et simultanées (Aber 3 et Aber 4). Il semble donc que les fermetures régulières intervenant à marée basse de grands coefficients soient déclenchées par les chutes de salinités, en deçà de 25‰ à 20‰.

- hyperactivités :

En outre, lors de la première série de mesures (Aber 1), nous observons une séquence d'hyperactivités synchrones pour les 8 moules, à marée haute et pendant 1h30 (fig. 50). Dans ce cas, Le passage de substances toxiques (phytoplancton toxique, polluants) ne peut être écarté. L'intérêt d'un déclenchement automatique d'un échantillonneur en cas d'alarme émise par le valvomètre prend ici toute son importance. Les analyses physico-chimiques permettent alors d'identifier (ou au moins de rechercher) les polluants en cause.

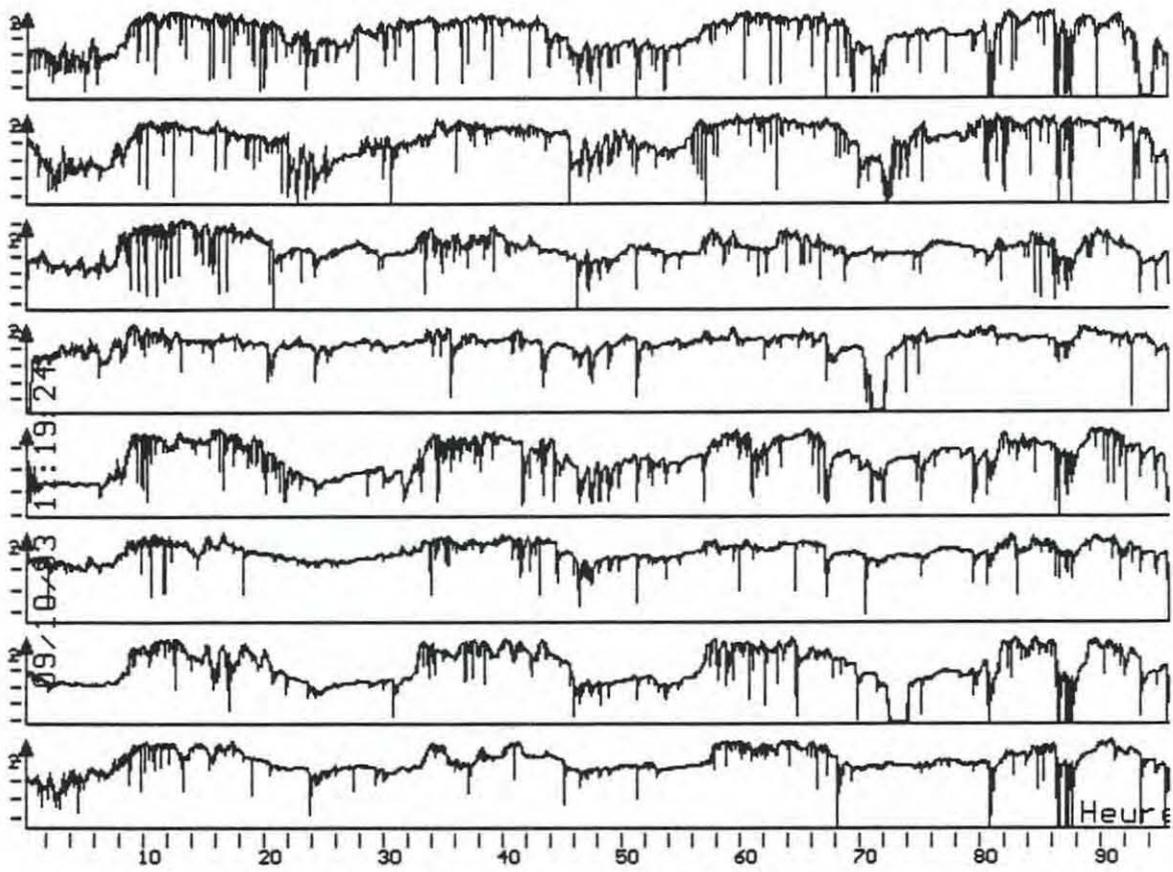


figure 49 : signaux valvaires à Paluden (Aber 1) du 9 au 13 octobre 1993

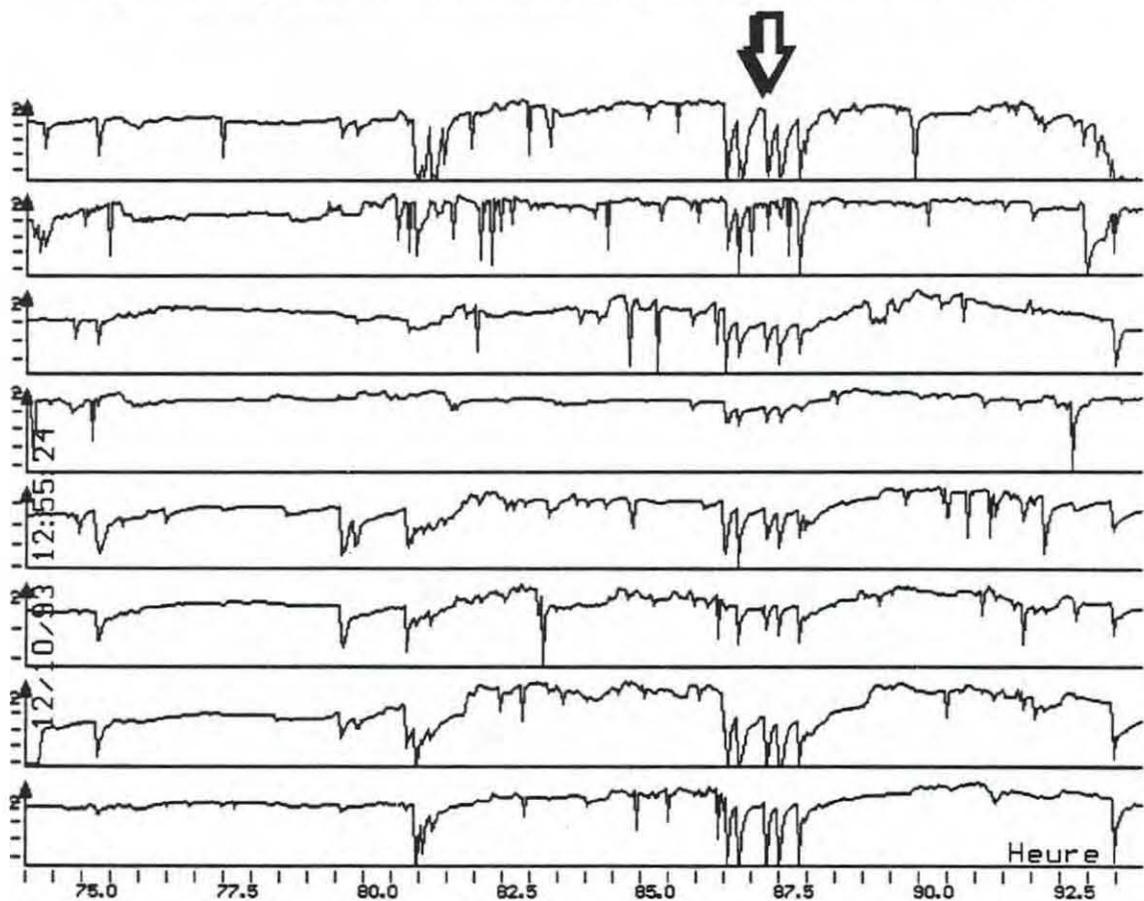


figure 50 : mouvements d'hyperactivité au cours de l'enregistrement "ABER 1"

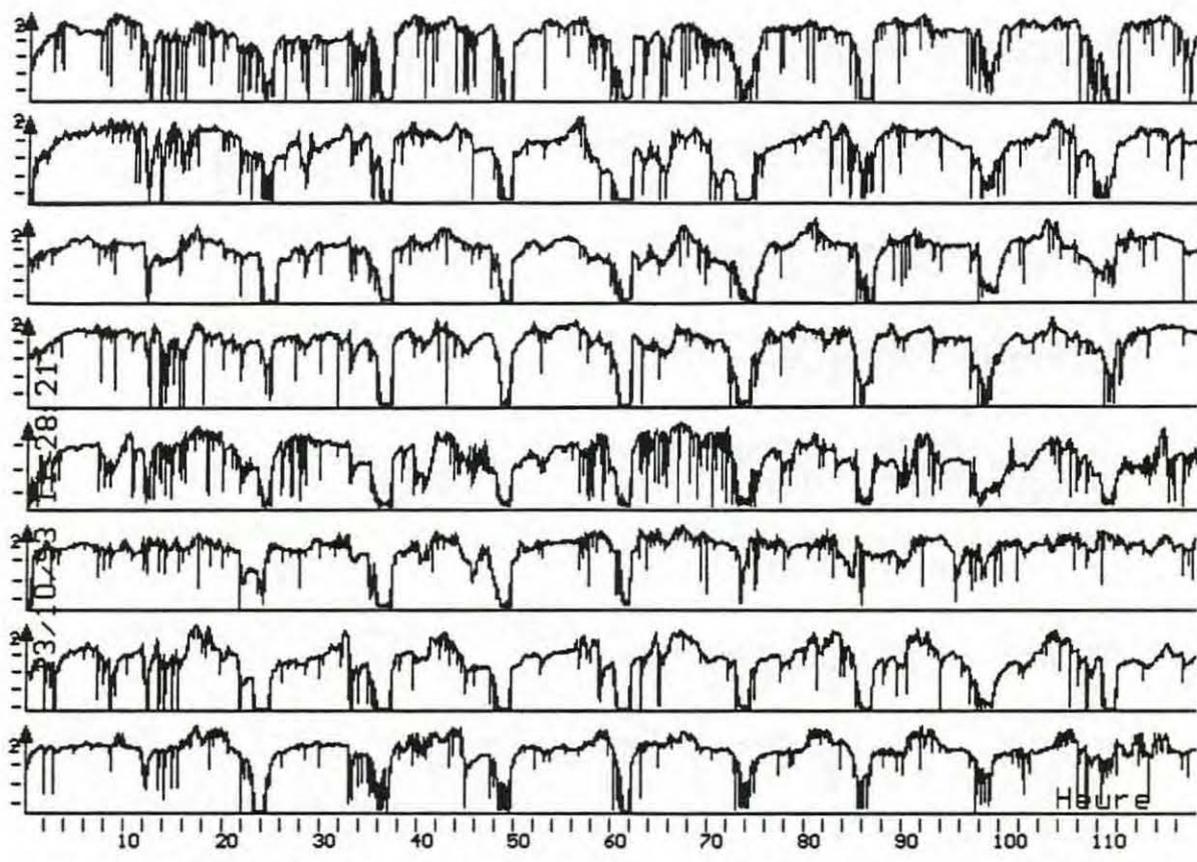


figure 51 : signaux valvaires à Paluden (Aber 2) du 13 au 18 octobre 93

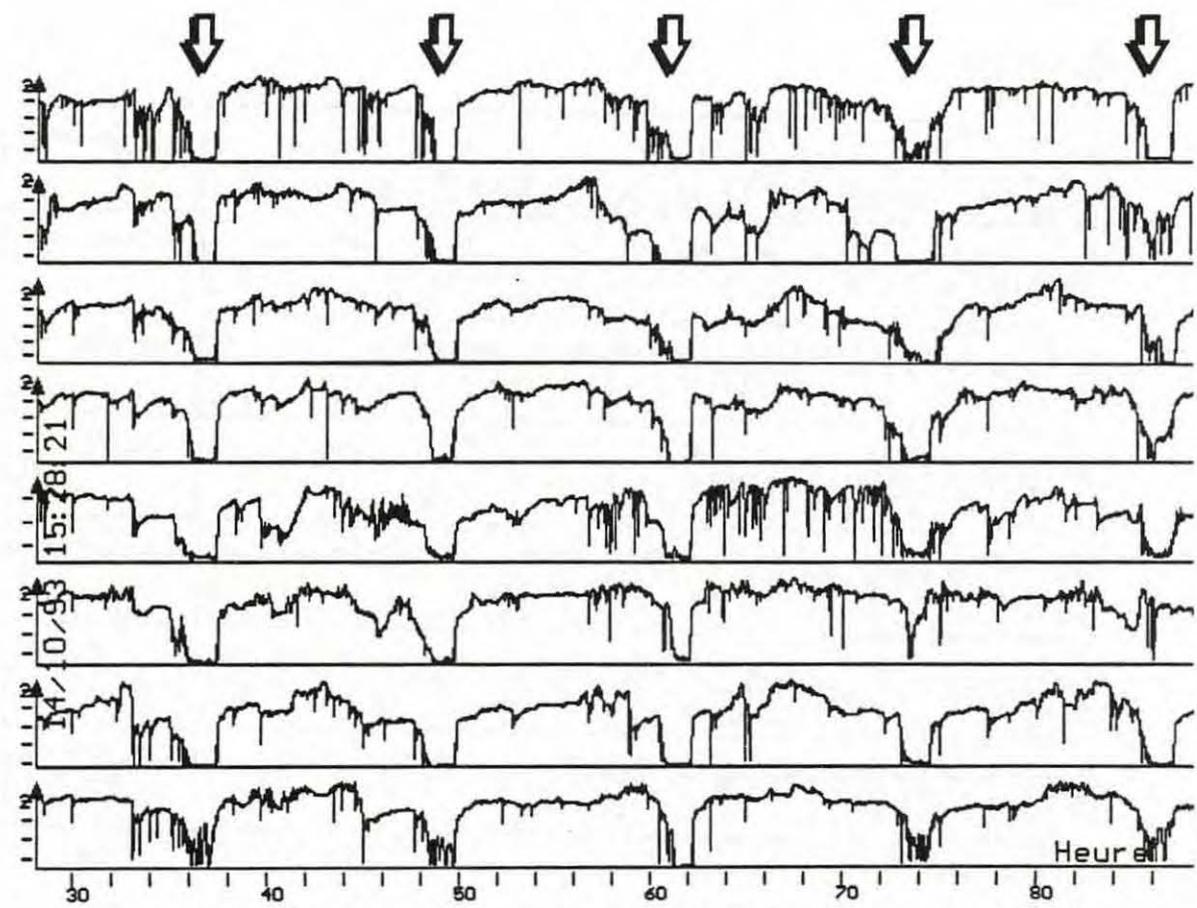


figure 52 : fermetures valvaires au cours de l'enregistrement ABER 2

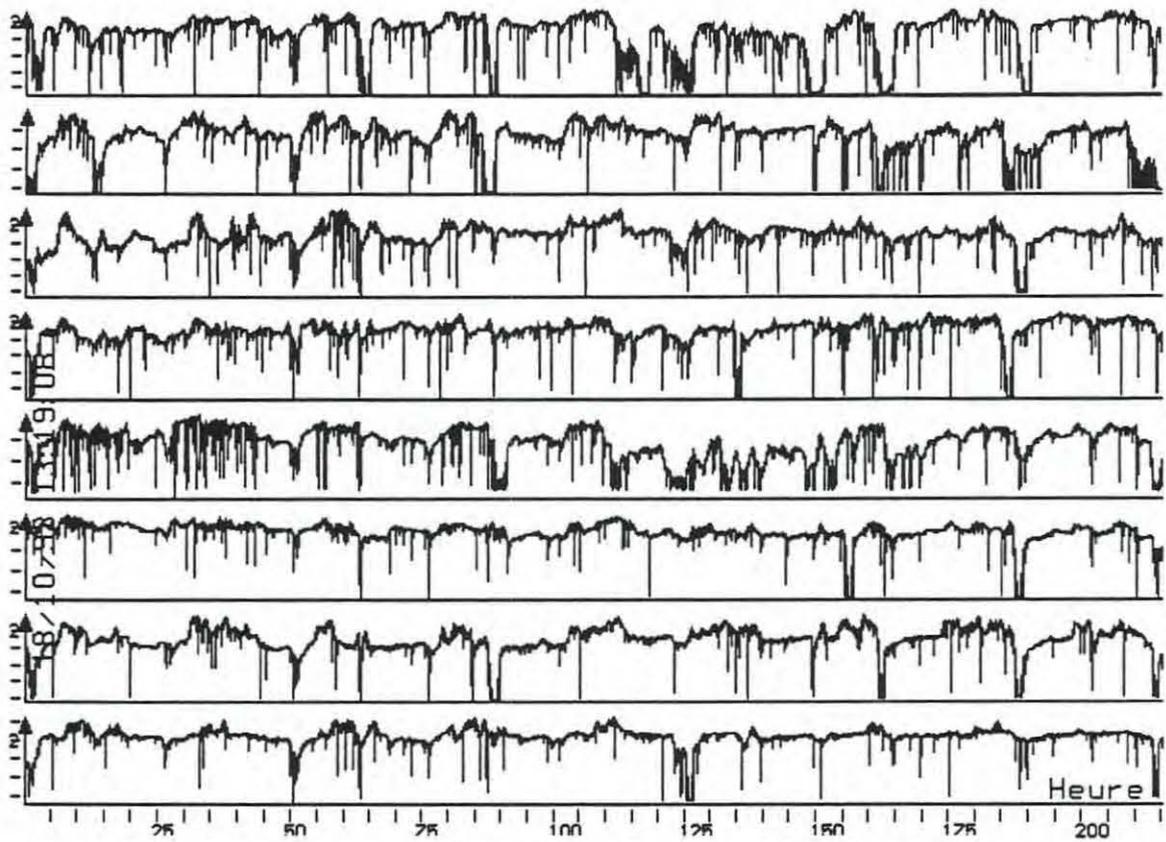


figure 53 : signaux valvaires à Paluden (Aber 3) du 18 au 27 octobre 93

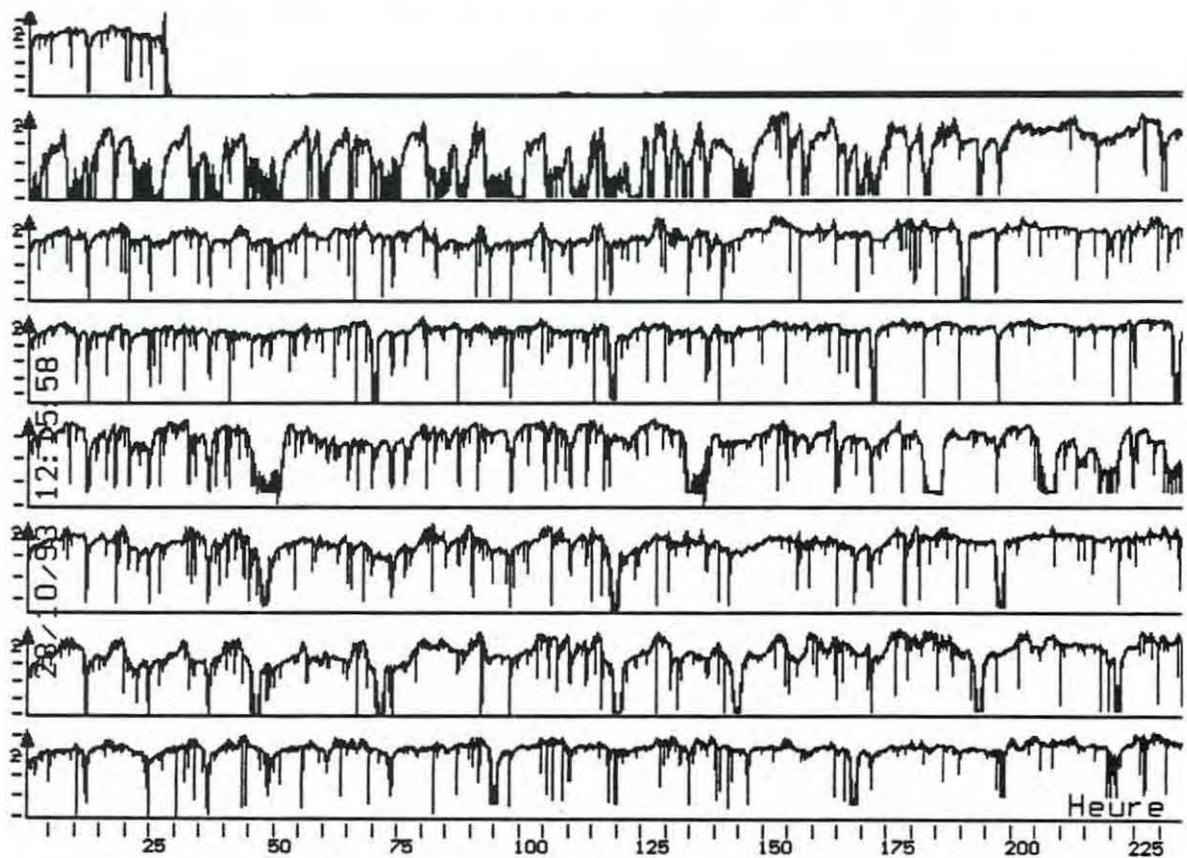


figure 54 : signaux valvaires à Paluden (Aber 4) du 28 octobre au 7 novembre 93

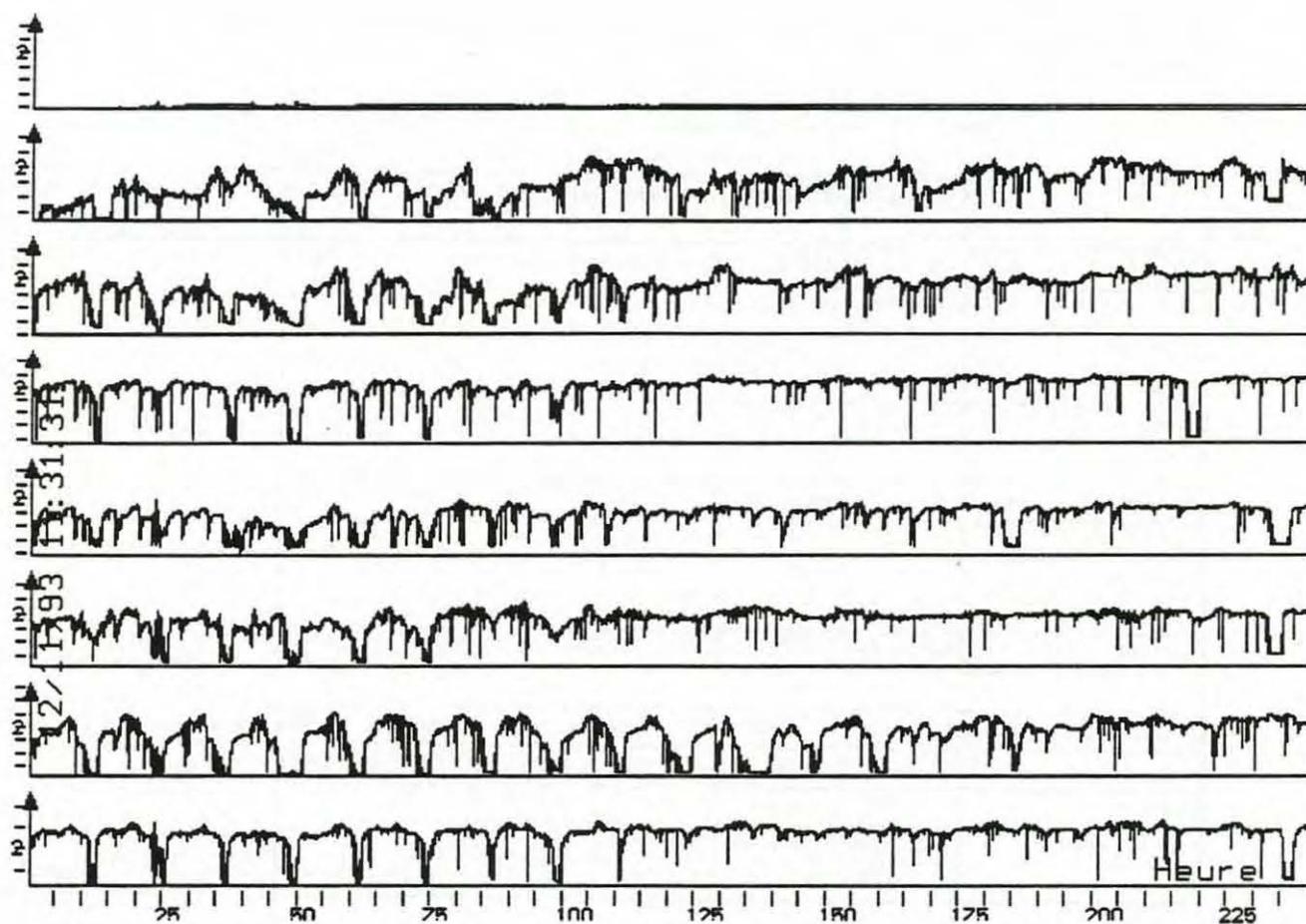


figure 55 : signaux valvaires à Paluden (Aber 5) du 12 au 22 novembre 93

L'investigation différée présente toutefois des limites sur l'explication des mortalités d'huîtres creuses survenues pendant l'été. Le valvomètre joue un rôle de détecteur précoce de pollution, or ici, il a été installé après coup. Un apport discret d'insecticides, évoqué dans ce cas, ne peut être repéré que s'il se produit pendant les mesures et non plusieurs semaines auparavant.

Tableau 11 : statistiques sur les écartements valvaires des moules (*Mytilus galloprovincialis*) enregistrés à Paluden

	moule 1	moule 2	moule 3	moule 4	moule 5	moule 6	moule 7	moule 8
ABER 1 - du 9 au 13 octobre 93 - nombre de mesures : 2851 - cadence 2851								
moyenne	74,77	64,4	77,24	64,81	77,17	67,43	70,28	70,54
écart type	10,93	21,28	10,58	20,14	13,61	12,78	20,29	20,99
Activité >20% N (%)	69 (2,42)	79 (2,77)	63 (2,21)	115 (4,03)	39 (1,37)	91 (3,19)	140 (4,91)	188 (6,59)
fermeture >10% N (%)	12 (0,42)	68 (2,39)	2 (0,07)	1 (0,04)	39 (1,37)	2 (0,07)	22 (0,77)	67 (2,35)
ABER 2 - du 13 au 18 octobre 93 - nombre de mesures : 3634 - cadence 2 min								
moyenne	68,85	54,23	70,04	55,56	70,05	58,2	63,11	67,14
écart type	19,5	23,38	18,51	23,29	21,51	21	24,57	26,31
Activité N (%)	135 (3,71)	112(3,08)	97 (2,67)	182 (5,01)	95 (2,61)	83 (2,28)	149 (4,1)	248 (6,82)
Fermeture N (%)	141 (3,88)	407 (11,2)	125 (3,44)	244 (6,71)	202 (5,56)	239 (6,58)	274 (7,54)	288 (7,93)
ABER 3 - du 18 au 27 octobre 93 - nombre de mesures : 6467 - cadence 2 min								
moyenne	76,71	70	77,79	64,85	77,33	68,59	67,29	72,22
écart type	12,21	16,63	12,86	20,95	14,14	13,46	21,36	24,57
Activité N (%)	102 (1,58)	104 (1,61)	96 (1,48)	364 (5,63)	151 (2,33)	151 (2,33)	183 (2,83)	258 (3,99)
Fermeture N (%)	73 (1,13)	183 (2,83)	96 (1,48)	23 (0,36)	85 (1,31)	63 (0,97)	363 (5,61)	418 (6,46)
ABER 4 - 28 octobre au 7 nov 93 - nombre de mesures : 7097 - cadence 2 min								
moyenne	79,05	69,01	76,57	72,27	82,09	74,98	48,22	*****
écart type	12,1	18,69	14,46	20,15	14,48	12,56	28,74	*****
Activité N (%)	129 (1,82)	140 (1,97)	161 (2,27)	144 (2,03)	138 (1,94)	173 (2,44)	206 (2,9)	*****
Fermeture N (%)	10 (0,14)	290 (4,09)	59 (0,83)	3 (0,04)	147 (2,07)	69 (0,97)	1351 (19,04)	*****
ABER 5 du 12 au 22 nov. 93 - nombre de mesures : 7184 - cadence 2 min								
moyenne	77,49	61,93	68,94	68,87	80,89	65,81	55,87	*****
écart type	17,93	28,04	18,84	21,19	18,24	19,78	24,4	*****
Activité N (%)	128 (1,78)	204 (2,84)	158 (2,2)	142 (1,98)	131 (1,82)	165 (2,3)	158 (2,2)	*****
Fermeture N (%)	235 (3,27)	934 (13)	247 (3,44)	6 (0,08)	244 (3,4)	30 (0,42)	470 (6,54)	*****

Au cours de ce suivi de près de deux mois, nous n'avons pas mis en évidence de "dégénérescence" de l'activité valvaire des huit moules utilisées. La mortalité des huîtres s'est produite en été : les dessalures à ce moment étaient plus faibles qu'en automne et ne peuvent à elles seules expliquer le phénomène. Mais il reste clair que ce type de milieu (estuarien) est particulièrement exposé à des variations importantes de qualité de l'eau tant naturelles qu'anthropiques. La forte densité d'élevage amplifie toutes les conséquences des stress, quels qu'ils soient.

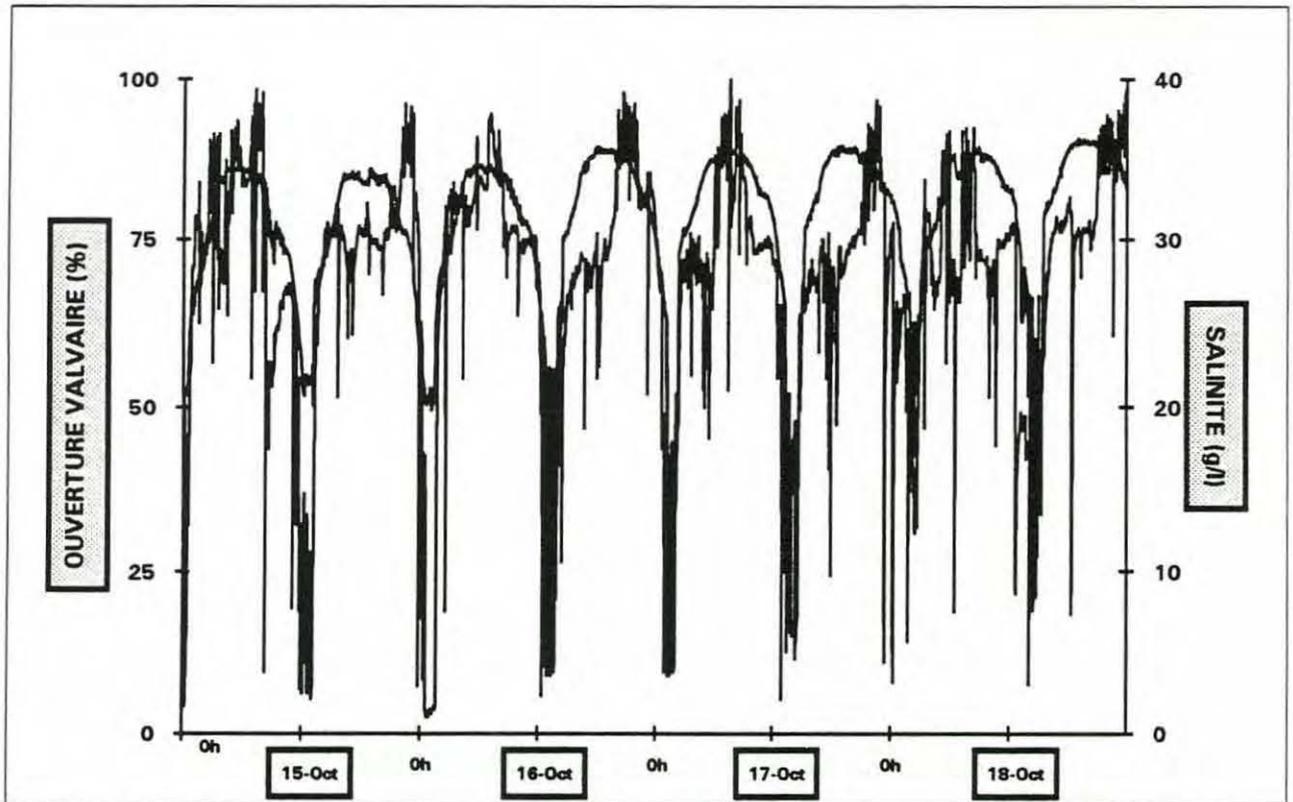


figure 56 : mouvements valvaires et salinité à Paluden en vives eaux - octobre 93

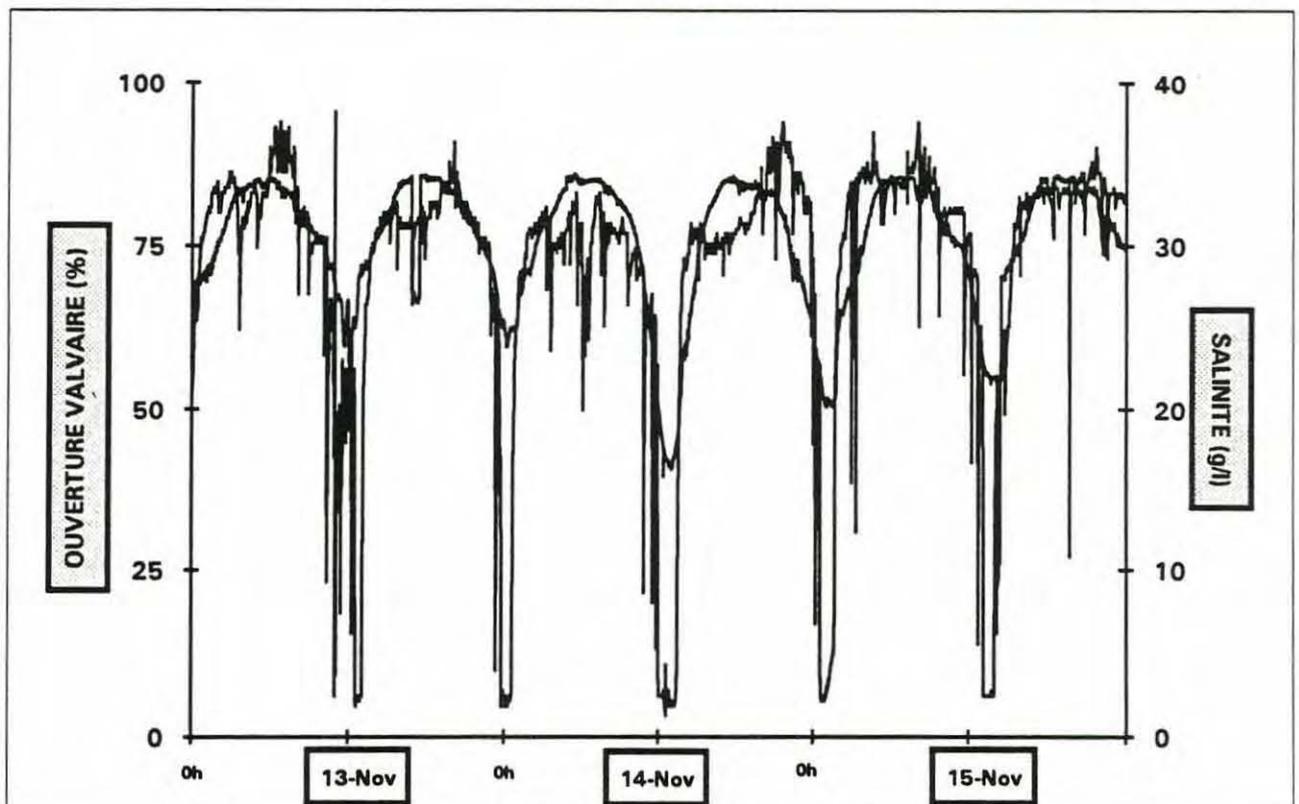


figure 57 : mouvements valvaires et salinité à Paluden en vives eaux - Novembre 93

II.2.5. Effets de dessalures expérimentales sur les mouvements valvaires de moules de différentes origines

Sur le littoral, la plupart des pollutions provenant de la terre est apportée par de l'eau douce (rejets d'une station d'épuration, nettoyage de cuves en industrie, pesticides ou nitrates apportés par les eaux de ruissellement). Les estuaires sont donc particulièrement exposés aux contaminations, or ils abritent souvent une activité conchylicole importante (Abers de Bretagne, Baie de Vilaine, Bassin de Marennes-Oléron...).

Dans le cadre de l'utilisation de valvomètres comme détecteurs précoces des pollutions, il est donc fondamental de connaître le comportement des moules lors de chutes de salinité, afin de voir s'il est possible de faire une distinction entre la réponse des moules à une dessalure seule ou cumulée à un apport de polluants. L'objectif de cette expérimentation est donc d'étudier la réaction de moules d'origines différentes (estuariennes donc exposées à des salinités variables ou océaniques donc soumises à une salinité forte et constante) face à différentes dessalures.

II.2.5.1. Dessalures isolées jusqu'à 20 et 10 ‰ de salinité

- matériel et méthodes

Ces expériences ont eu lieu en août et septembre 93, sur le môle de St Anne du Portzic, en extérieur, dans un enclos de l'Ifremer, avec deux valvomètres Ifremer-Micrel.

Dans un bac de 3 m³, est installé un bac tampon de 35 l servant au mélange eau de mer eau douce alimentant le bac d'expérience (100 l). Celui-ci contient les deux valvomètres et les sondes (pHmètre et Salinomètre WTW, oxymètre Orbisphère, thermomètre Micrel). Les expériences se déroulant en été, le grand bac est protégé du soleil par un toit et parcouru d'eau de mer en circuit ouvert afin de réaliser un tampon thermique (fig. 58). Température, pH, salinité et oxygène du bac d'expérience sont mesurés en continu. Les boîtiers de mesures des sondes de paramètres physico-chimiques sont abrités dans une structure mobile, alimentée en énergie solaire (Station d'Alarme Mollusques). Les mesures physico-chimiques sont stockées dans une centrale d'acquisition de données identique à celle du valvomètre (Micrel). Le pas de mesure des différents paramètres est de 20 secondes.

Afin d'étudier l'influence de l'historique (provenance) des mollusques sur les réponses valvaires, deux lots de moules provenant de zones différentes sont retenus pour cette étude :

- un lot de moules *Mytilus galloprovincialis* (longueur 60 +/- 2 mm ; largeur 31 +/- 1 mm ; épaisseur 20 +/- 1 mm) de captage de Groix et élevé **zone océanique** à Ouessant où la salinité est constante et élevée en permanence (35 g/l)

- un lot de moules *Mytilus edulis* (longueur 54 +/- 2 mm, largeur 25 +/- 1 mm, épaisseur 20 +/- 1 mm) de captage vendéen et élevé depuis plusieurs mois dans l'Elorn (lieu dit Penartrin en Loperhet), **zone estuarienne** où la salinité varie au gré des marées et des précipitations, avec possibilité d'exondation (cf. fig. 30 carte de la Rade de Brest).

Les valvomètres garnis de moules sont placés dans le bac d'expérimentation alimenté en continu en eau brute 24 heures avant chaque dessalure pour permettre leur adaptation et fixation (pose de byssus). Le lendemain, de l'eau douce du réseau de distribution est apportée dans le bac d'expérience, via le bac de mélange eau douce - eau de mer. Le débit d'arrivée des eaux salée et douce est modulé en fonction de la chute de salinité souhaitée.

Deux paramètres sont retenus pour ces dessalures :

- **le seuil de salinité atteint** : dans un cas 20 ‰ et dans l'autre 10 ‰

- **la pente de chute**, c'est à dire le temps mis pour passer de la salinité maximale (eau de St Anne : environ 34,5 ‰), au minima (20 ou 10 ‰ selon le cas) :

chute quasi-instantanée en 5 minutes environ
 chute intermédiaire en 30 minutes
 chute lente en 2 heures.

Une fois atteint, la salinité recherchée est maintenue pendant deux ou trois jours. Le bac d'expérience est alors en circuit fermé, alimenté en oxygène par bullage. La circulation d'eau de mer est ensuite rétablie en fin d'expérience, jusqu'à retrouver la salinité initiale. Les valeurs d'écartements valvaires sont récupérées par un micro-ordinateur portable. Les moules sont changées à chaque dessalure, afin d'éviter d'éventuelles accoutumances qui fausseraient les réponses.

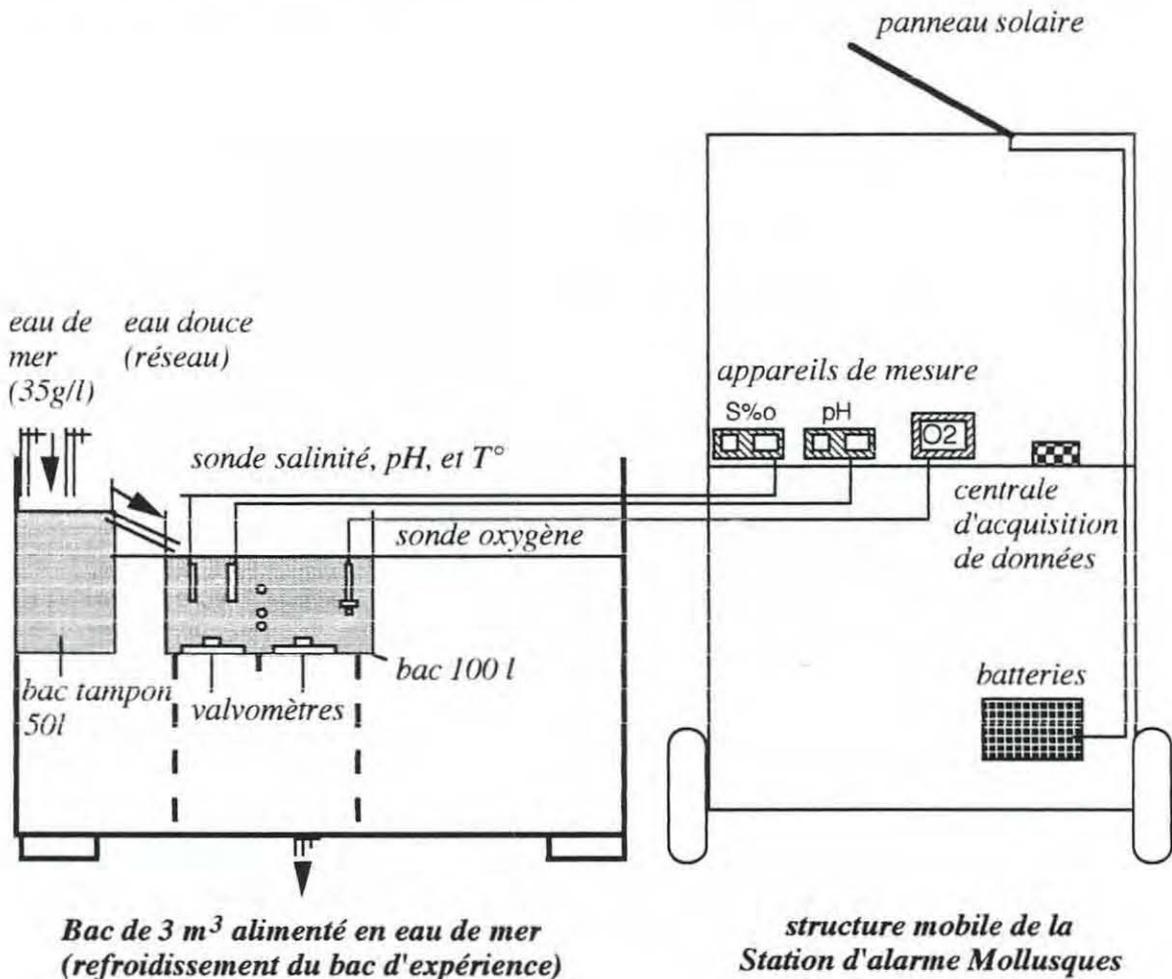
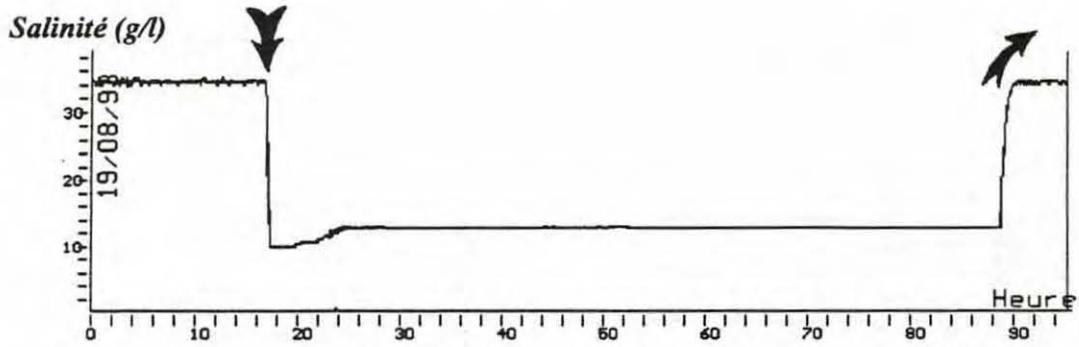


figure 58 : schéma du dispositif expérimental

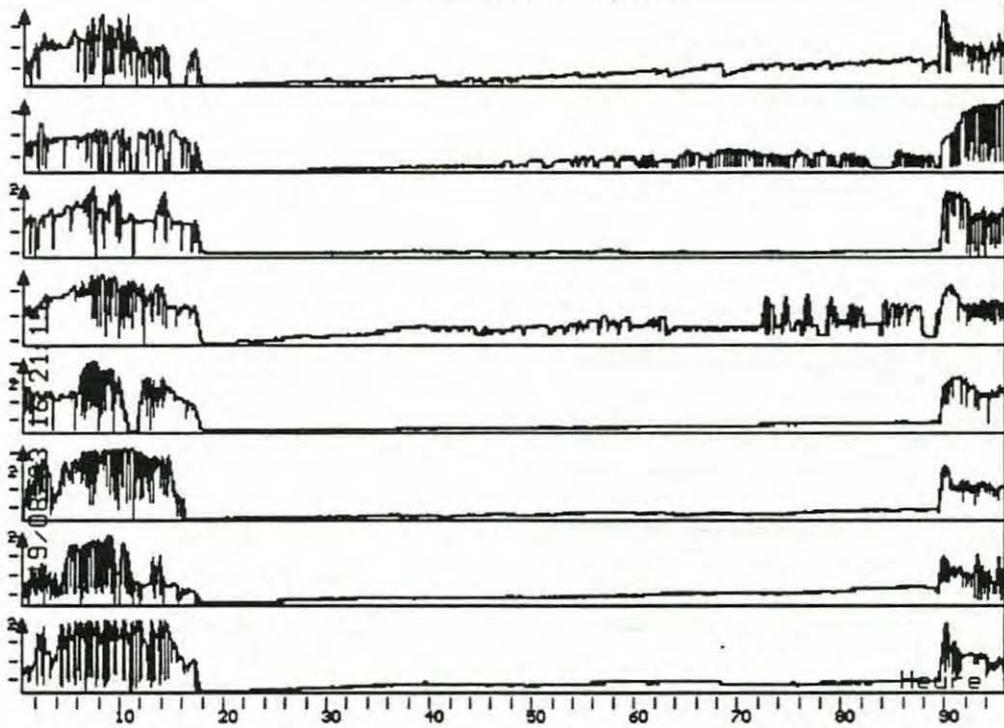
- résultats :

- Effets d'une dessalure à 10 ‰ :

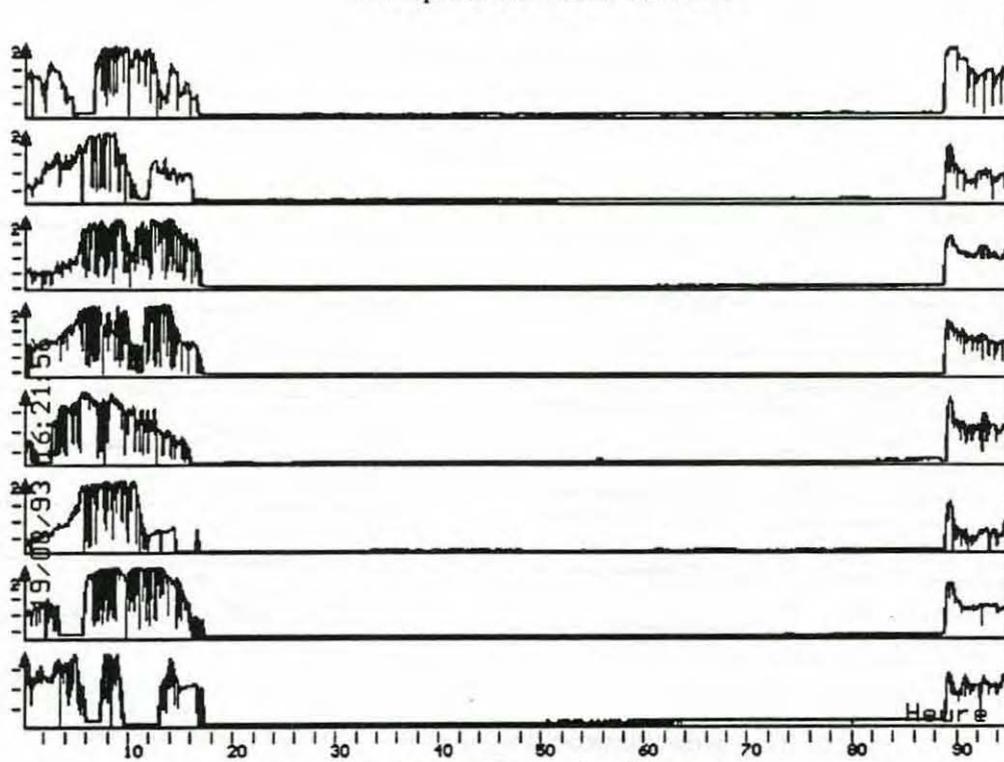
Quelle que soit la pente de dessalure, les moules des deux lots se ferment totalement lors de chutes de salinité à 10 ‰ (fig. 59). Cette fermeture complète intervient entre 15 et 21 ‰. Le mélange eau douce - eau de mer dans le bac d'expérience a posé quelques problèmes pour la mesure précise et instantanée de la salinité lors des dessalures rapides, il est donc



A : courbe de salinité

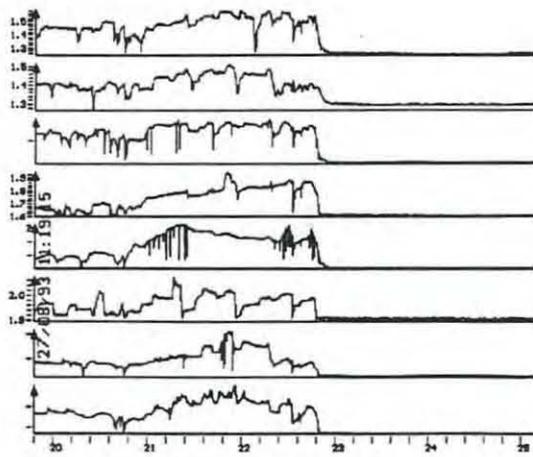


B : réponse des moules de l'Elorm

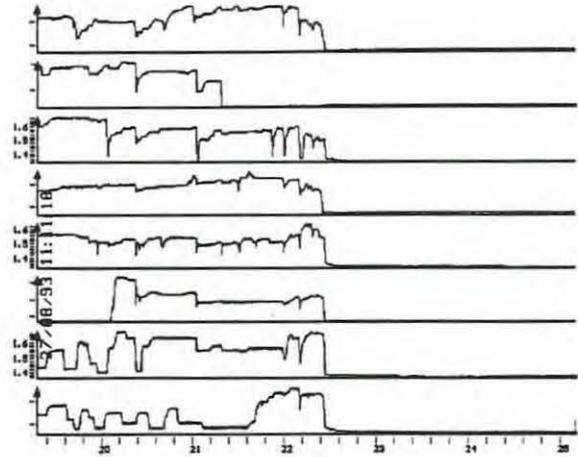


C : réponse des moules d'Ouessant

figure 59 : réponses valvaires lors de dessalure à 10 g/l en 30 minutes
 (A) courbe de salinité ; (B) moules de l'Elorm ; (C) moules d'Ouessant

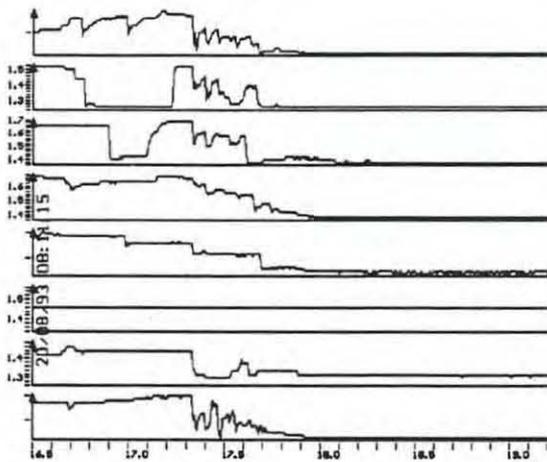


Moules de l'ELORN

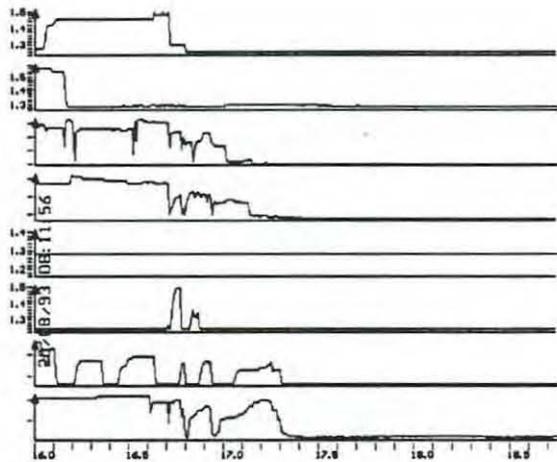


Moules d'OUESSANT

A : Fermetures valvaires sous l'effet d'une dessalure à 10g/l en 5 minutes

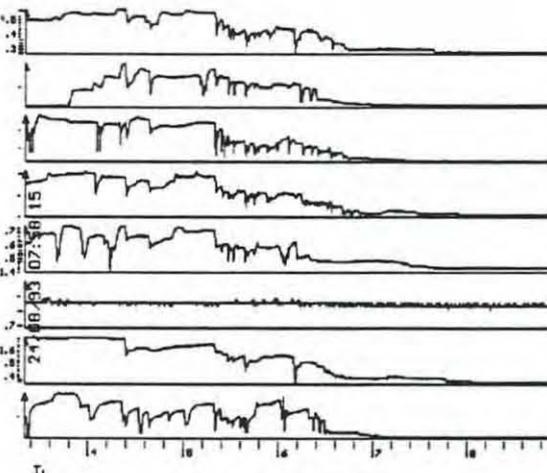


Moules de l'ELORN

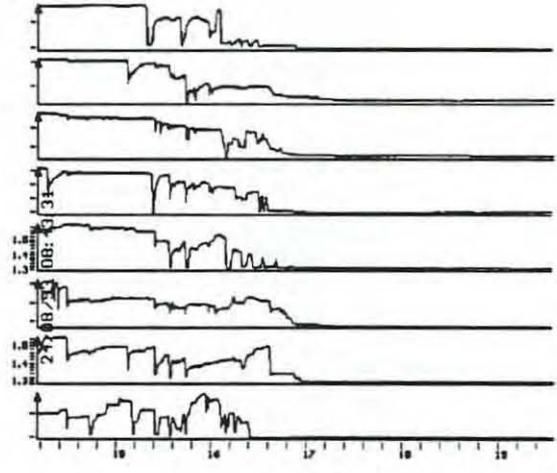


Moules d'OUESSANT

B : Fermetures valvaires sous l'effet d'une dessalure à 10g/l en 30 minutes



Moules de l'ELORN



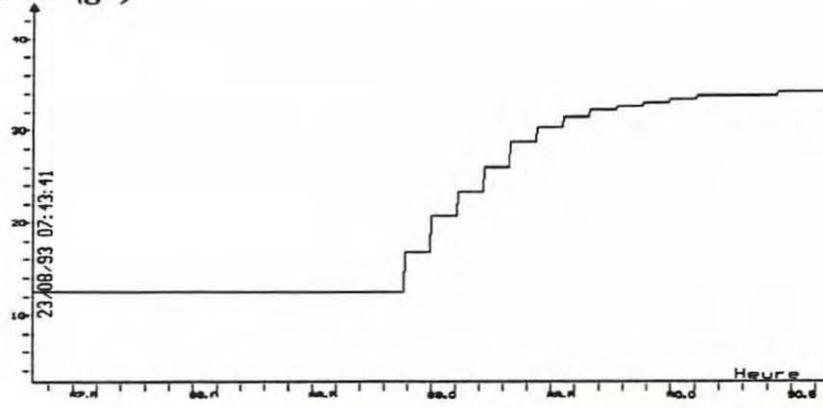
Moules d'OUESSANT

C : Fermetures valvaires sous l'effet d'une dessalure à 10g/l en 2 heures

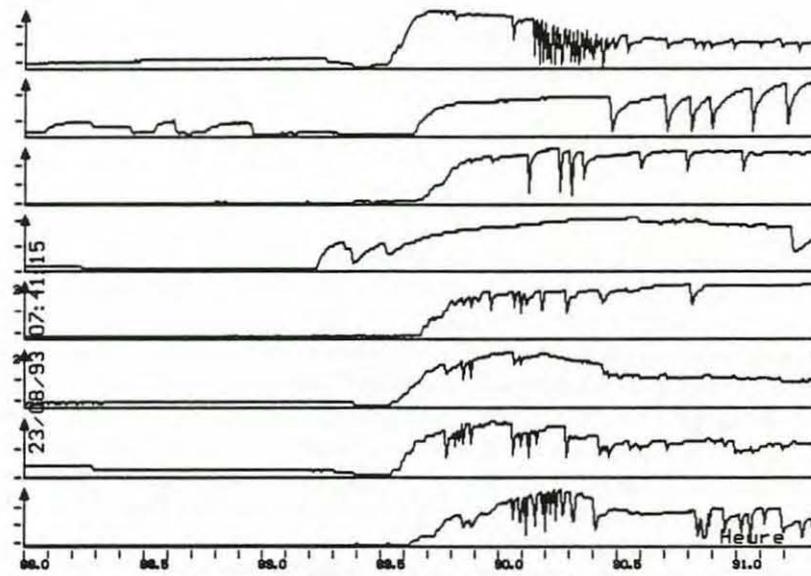
figure 60 : réponses valvaires à une dessalure à 10g/l

(A) dessalure en 5 min ; (B) en 30 min ; (C) en 2 h

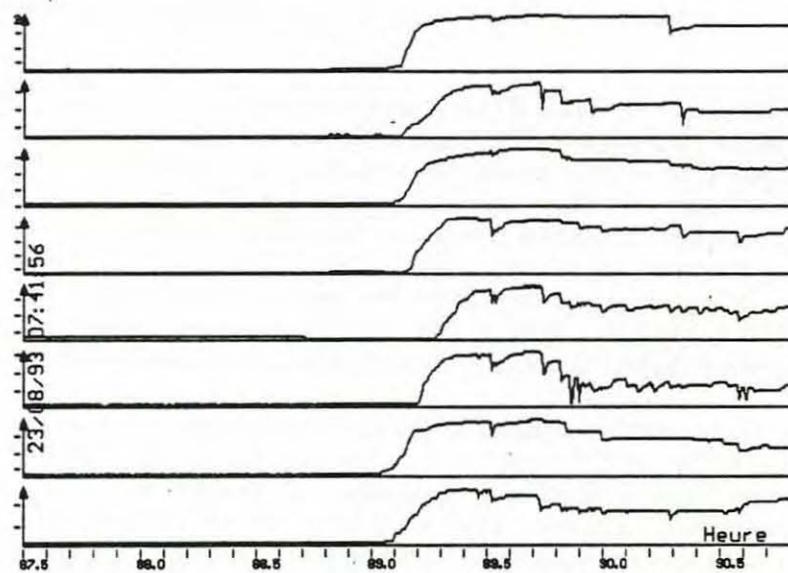
Salinité (g/l)



A : courbe de ressalure



B : Réponse des moules de l'Elorn



C : Réponse des moules de Ouessant

figure 61 : réponses valvaires à la ressalure

(A) courbe de salinité ; (B) moules de l'Elorn ; (C) moules d'Ouessant

difficile de déterminer la salinité exacte à laquelle les moules se sont fermées. Toutefois, la fermeture est plus tardive pour les moules estuariennes.

La réaction des moules dépend de la vitesse de chute : fermeture quasi-immédiate lors d'une dessalure en 5 minutes, plus progressive, par paliers avec réouvertures partielles lors de dessalures en 30 minutes et 2 heures (fig. 60). Les valves restent généralement fermées pendant toute la durée d'exposition à 10 ‰.

Cependant, les moules de l'ELORN présentent une ouverture progressive des valves avec, pour deux d'entre elles, une reprise d'activité importante mais de faible amplitude. Cette abduction peut être attribuée au test de la salinité de l'eau mais aussi à la reprise de la filtration et surtout de respiration (fig. 59). Pendant ce temps, les huit moules océaniques maintiennent leurs valves totalement fermées.

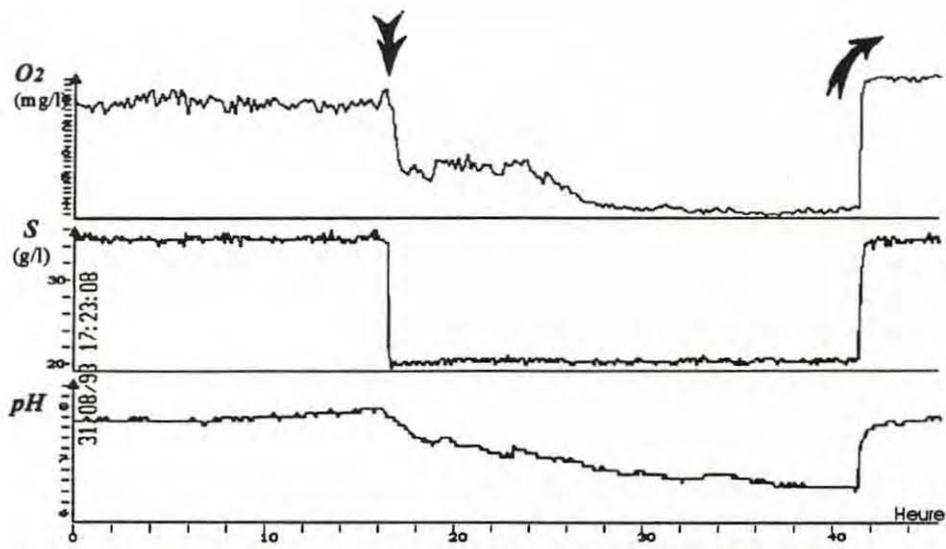
Lors de la ressalure, la moule ouvre progressivement ses valves à partir de 15 à 21 ‰ selon les cas (fig. 61). L'ouverture valvaire a la même allure que la courbe de salinité. Les moules restent dans un premier temps béantes sans pic d'adduction, elles filtrent, puis l'ouverture diminue tandis que les mouvements d'adduction deviennent très nombreux, traduisant un renouvellement de l'eau de la cavité palléale assurant filtration et respiration mais aussi élimination des déchets par accélération du courant d'eau. Cette agitation est plus importante chez les moules de l'ELORN.

- Effets d'une dessalure à 20 ‰

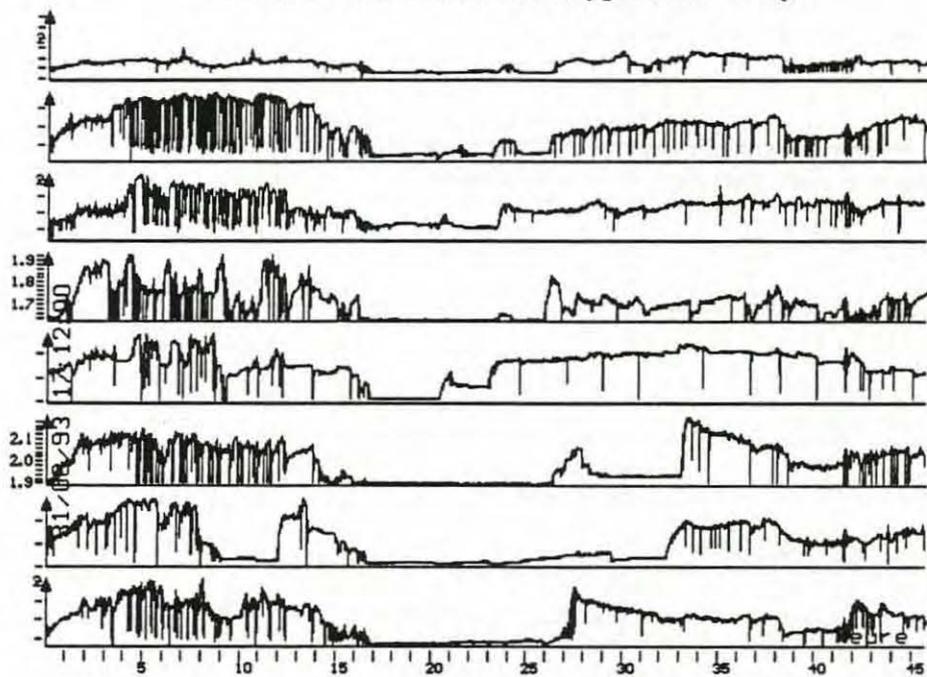
Comme dans le cas précédent, la dessalure entraîne une fermeture progressive mais complète des valves. Cependant, les moules des deux provenances retrouvent une activité valvaire quelques heures plus tard (fig. 62). Les mouvements observés sont alors variés. Les moules estuariennes écartent leurs valves plus rapidement, et reprennent une activité importante avec des pics d'adduction fréquents, tandis que les bivalves océaniques alternent des phases de large ouverture, sans adduction, avec des périodes de quiescence. A noter quand même que le bac est en circuit fermé, donc que la concentration en phytoplancton est faible, ce qui pourrait expliquer ce comportement mais qui devrait alors être identique pour les deux lots. La pression partielle en oxygène passe de 9 à 6 mg/l lors du passage en circuit fermé. Elle reste stable ensuite du fait de la fermeture des moules (respiration aérobie très faible à nulle avec éventuellement passage en anaérobiose). La reprise des abductions entraîne une chute de la concentration en oxygène (de 6 à 4 mg/l), concentration bien supportée par les moules. L'effet de la ressalure, se ressent surtout pour les moules océaniques, par une large ouverture valvaire et une activité plus importante.

Au cours de cette série d'expériences, les dessalures pratiquées étaient uniques. Dans le milieu naturel, les salinités fluctuent au gré des marées. Une étude complémentaire sur l'effet de cycles de salinité serait intéressante. Dans le cas de l'Aber Wrac'h, les moules choisies provenaient du large (*Mytilus galloprovincialis* de filières d'Ouessant). Ce choix était justifié par la recherche de moules sensibles non acclimatées aux altérations du milieu, vivant dans une eau de salinité élevée et constante (35‰) non polluée. Cette sensibilité a mis en évidence les variations de salinité intervenant dans l'Aber mais a pu masquer les réponses d'isolement des bivalves dues à la présence de polluants, anthropiques pour la majorité et d'origine terrestre apportés par de l'eau douce (ruissellement, vidange, délestage).

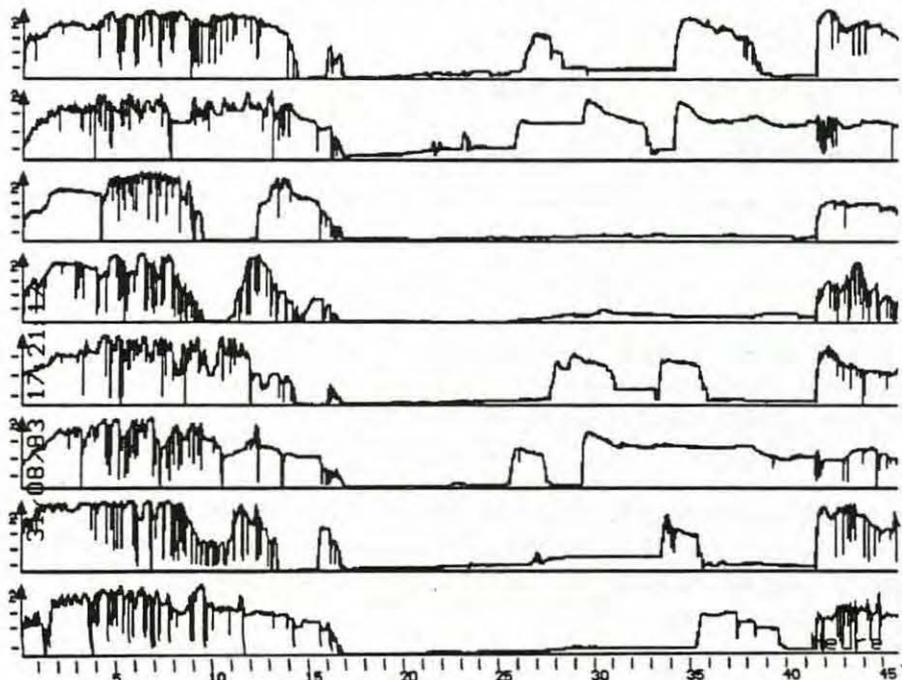
D'où le souhait de simuler au laboratoire des cycles de dessalures similaires à ceux relevés dans l'Aber et d'observer le comportement de moules de différentes provenances, afin de répondre aux questions suivantes : les dessalures ont-elles pu, à elles seules, provoquer ce type de réactions, et si oui, peut-on trouver des moules moins sensibles qui ne se ferment pas lors de dessalures modérées, pouvant alors indiquer le passage concomitant de substances toxiques ?



A : Courbes de concentration en oxygène, salinité et pH



B : réponse des moules de l'Elorn



C : réponse des moules d'Ouessant

figure 62 : réponses valvaires lors de dessalure à 20g/l en 5 minutes
 (A) oxygène, salinité, pH ; (B) moules de l'Elorn ; (C) moules d'Ouessant

II.2.5.2. Cycles de dessalures au laboratoire

- matériel et méthodes

Les mouvements valvaires de moules de différentes origines ont été enregistrés par deux valvomètres Ifremer-Micrel, lors de dessalures simulées au laboratoire dans le hall d'aquaculture de la station Ifremer de la Trinité-sur-mer.

- provenance des moules :

Afin de tester l'influence de la provenance des bivalves sur leur comportement, les mesures ont porté sur des lots d'origines variées (milieu estuarien avec de fortes variations de salinité en fonction des marées et des précipitations très abondantes à cette saison, milieu océanique de salinité forte et constante) et d'espèces différentes (*Mytilus edulis*, *galloprovincialis* et locale) (tableau 12).

tableau 12 : identification des lots de moules utilisés

Provenance des moules	espèces	date	salinité du site (à la collecte)
"Le Lac" La Trinité-sur-mer	<i>Mytilus edulis</i>	22/12/93	dessalures possibles
Loperhet Elorn (captage vendéen)	<i>Mytilus edulis</i>	28/12/93	site estuarien fortes dessalures
Tréhiguier embouchure de la Vilaine	sauvage	3/1/94	site estuarien fortes dessalures
Ouessant (filière) (naissain de Groix)	<i>M. galloprovincialis</i>	29/12/93	site océanique S constante 35g/l
Méditerranée : Etang de Salses	sauvage	7/1/94	S=18,7g/l (crués)
- Canaux de Sète	sauvage	id.	S=33g/l (crués)
- Filières de Marseillan	<i>M. galloprovincialis</i>	24/1/94	S=35g/l (constante au large)

- dispositif expérimental :

Deux valvomètres (Ifremer-Micrel) sont immergés dans un bac de 3m³ alimenté en eau brute, non filtrée, pompée dans le chenal de la Trinité-sur-mer. Un bullage assure l'oxygénation et la circulation de l'eau dans le bac (fig. 63). Les moules, une fois collées sont acclimatées pendant 24 heures aux conditions expérimentales avant le début de la dessalure.

Les dessalures sont recrées par apport d'eau douce du réseau, à débit constant à partir d'un bac tampon d'1m³ environ. Les ressalures sont reproduites par remplissage du bac tampon avec de l'eau de mer non filtrée. Dans la mesure du possible, on essaie de simuler les cycles naturels de salinité avec dessalures et ressalures respectivement toutes les 6 heures.

La salinité est mesurée avec un salinomètre WTW puis enregistrée toutes les minutes, par une centrale d'acquisition de données autonome 8 voies Micrel.

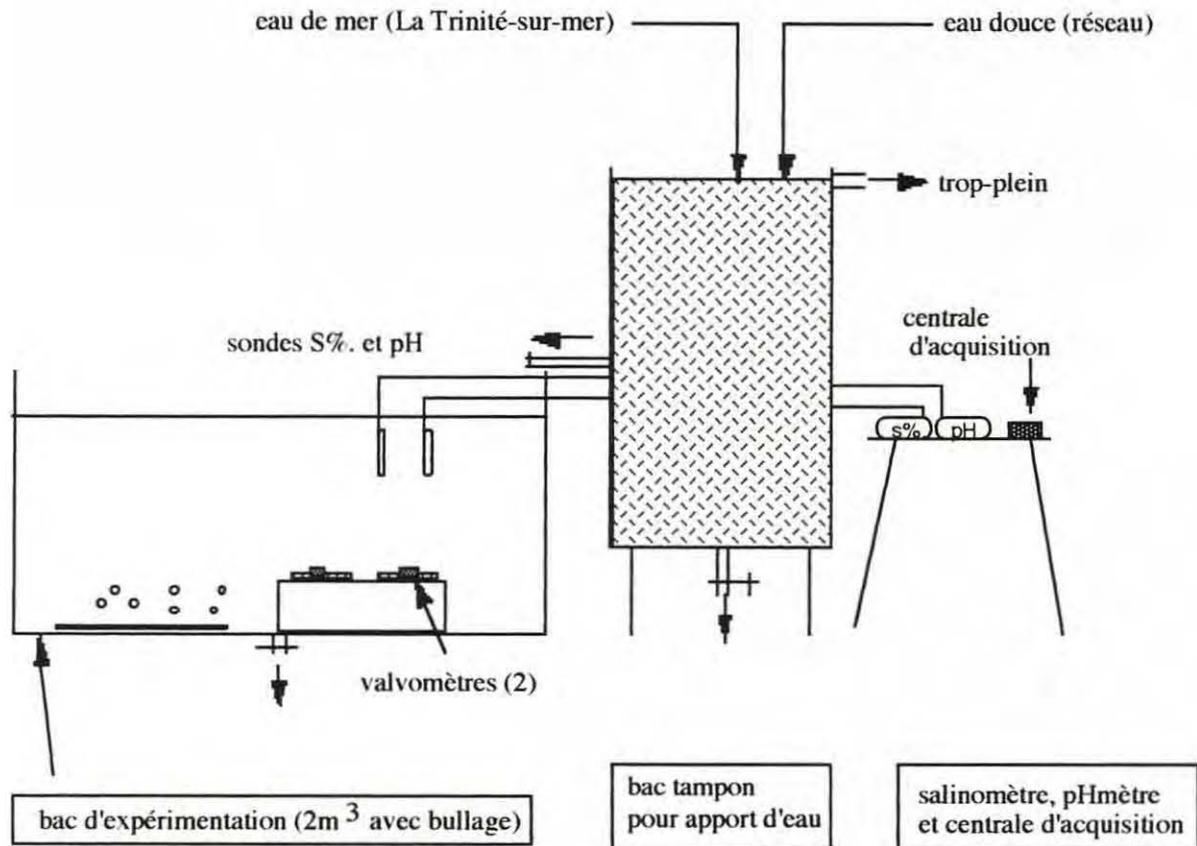


figure 63 : dispositif expérimental au laboratoire

- résultats

- réponses des moules du large

Les moules *Mytilus galloprovincialis* de filières, d'Ouessant (fig. 64 et 65) ou de Méditerranée (fig. 66) répondent aux dessalures réalisées par fermeture de leurs valves, entre 25 et 20‰ après quelques mouvements destinés au renouvellement de l'eau de la cavité palléale. Il est difficile de déterminer exactement un seuil de fermeture puisque celui-ci varie en fonction de la sensibilité individuelle et de la vitesse de dessalure.

L'adduction complète entraîne l'isolement de leur organisme vis à vis du milieu extérieur qui menace leur équilibre osmotique. La réouverture intervient brutalement, à une salinité proche de celle de fermeture.

Les moules de la rivière de La Trinité-sur-mer se ferment également entre 18 et 22‰ (fig. 67).

- réponse des moules exposées naturellement à des dessalures

Les moules sauvages de l'étang de Salses et des canaux de Sète (fig. 68), soumises à des dessalures jusqu'à 20 ‰ semblent moins sensibles aux chutes de salinité puisqu'aucun changement notable de comportement valvaire n'est constaté. L'interprétation peut en être

une adaptation à des chutes de salinités subies de façon répétée dans le milieu naturel, avant cette expérimentation au laboratoire (la récolte a été réalisée au moment de précipitations importantes dans la région).

De même, dans l'ensemble, les moules *Mytilus edulis* de l'Elorn (fig. 69 et 71) soumises au laboratoire à des salinités descendant jusqu'à 19 ‰ ne se ferment pas de façon prolongée. En revanche, vers 16 à 17 ‰, une fermeture complète intervient. Comme les moules collectées à l'embouchure de la Vilaine (fig. 70 et 72), elles semblent adaptées à ces dessalures de salinités qui interviennent naturellement dans leur écosystème, au gré des marées et des précipitations. La période d'expérimentation coïncide avec des crues importantes (le 11 janvier 1994 des mesures de salinités pratiquées à l'embouchure de la Vilaine aux alentours de la pleine mer, donnaient 10,4 ‰ en surface et 14 ‰ au fond).

Salinité (g/l)

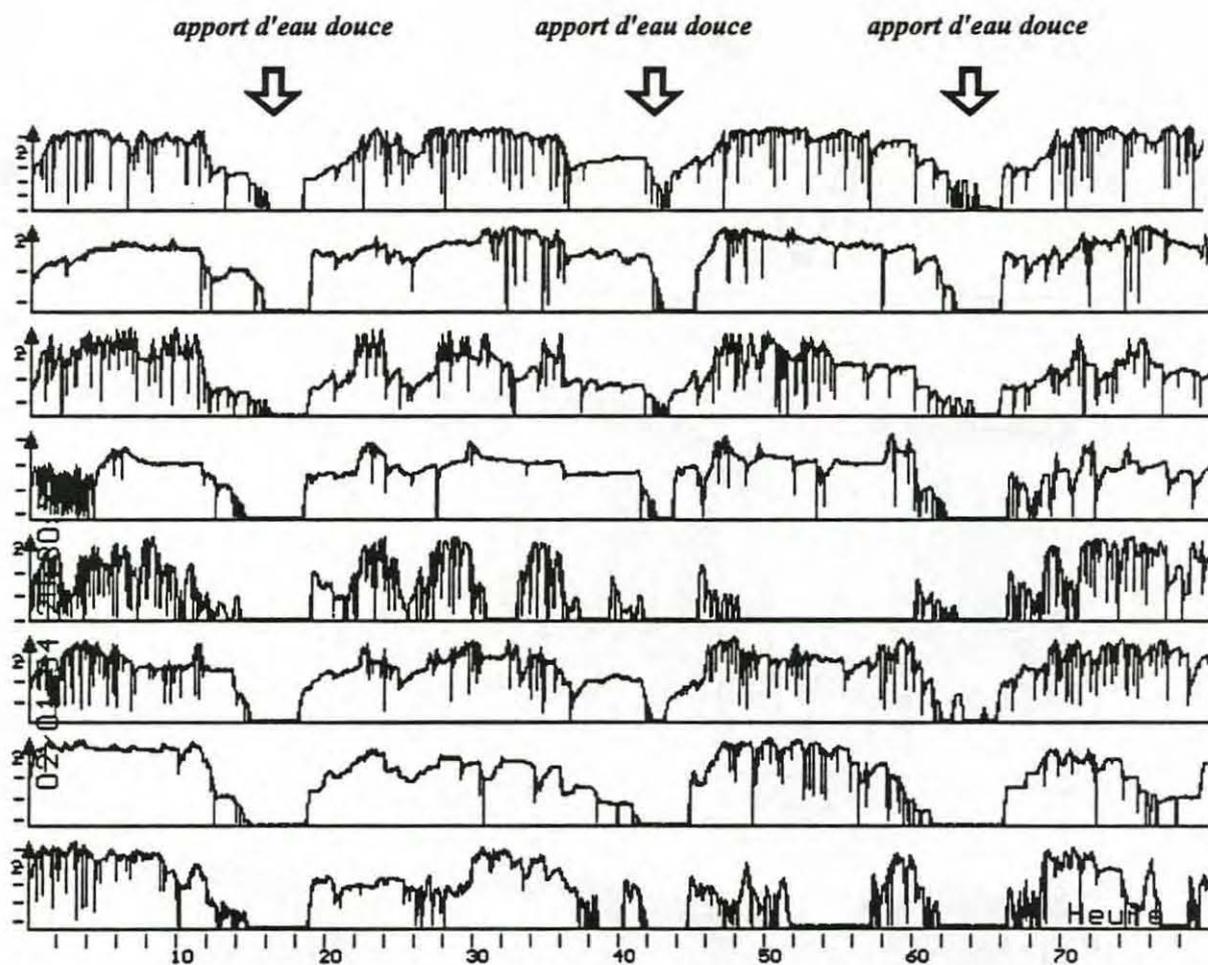
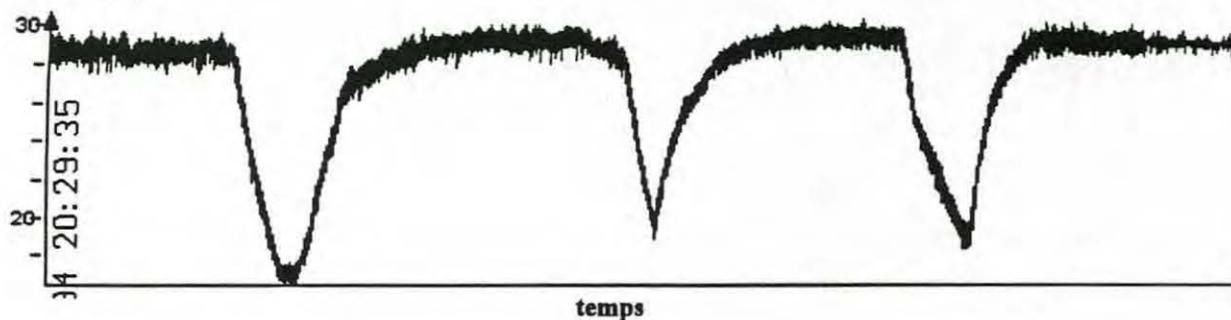


figure 64 : Effets de dessalures expérimentales sur les mouvements valvaires de moules d'Ouessant *Mytilus galloprovincialis*

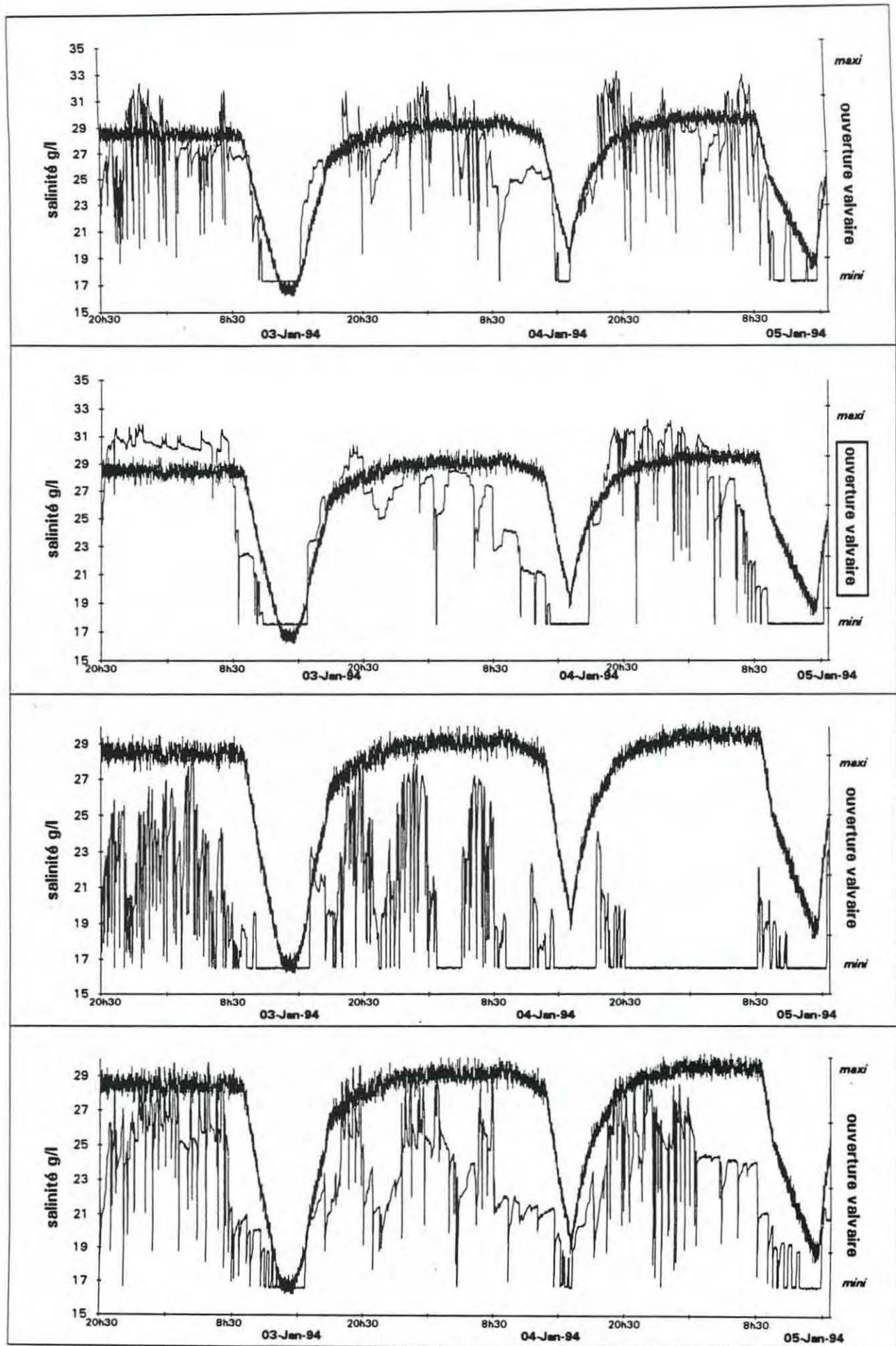


figure 65 : mouvements valvaires de moules d'Ouessant lors de dessalures au laboratoire

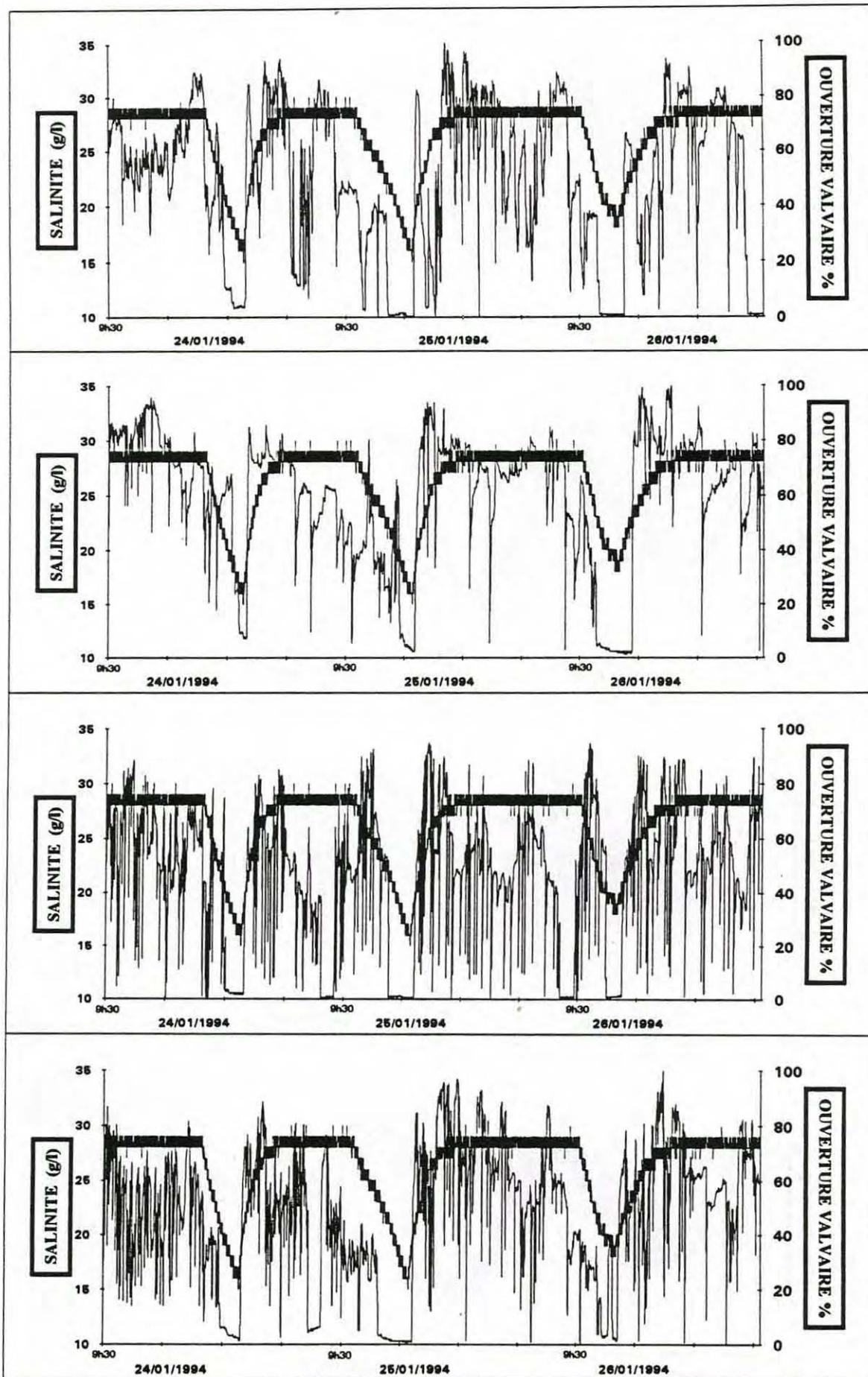


figure 66 : mouvements valvaires de moules de filières de Méditerranée lors de dessalures au laboratoire

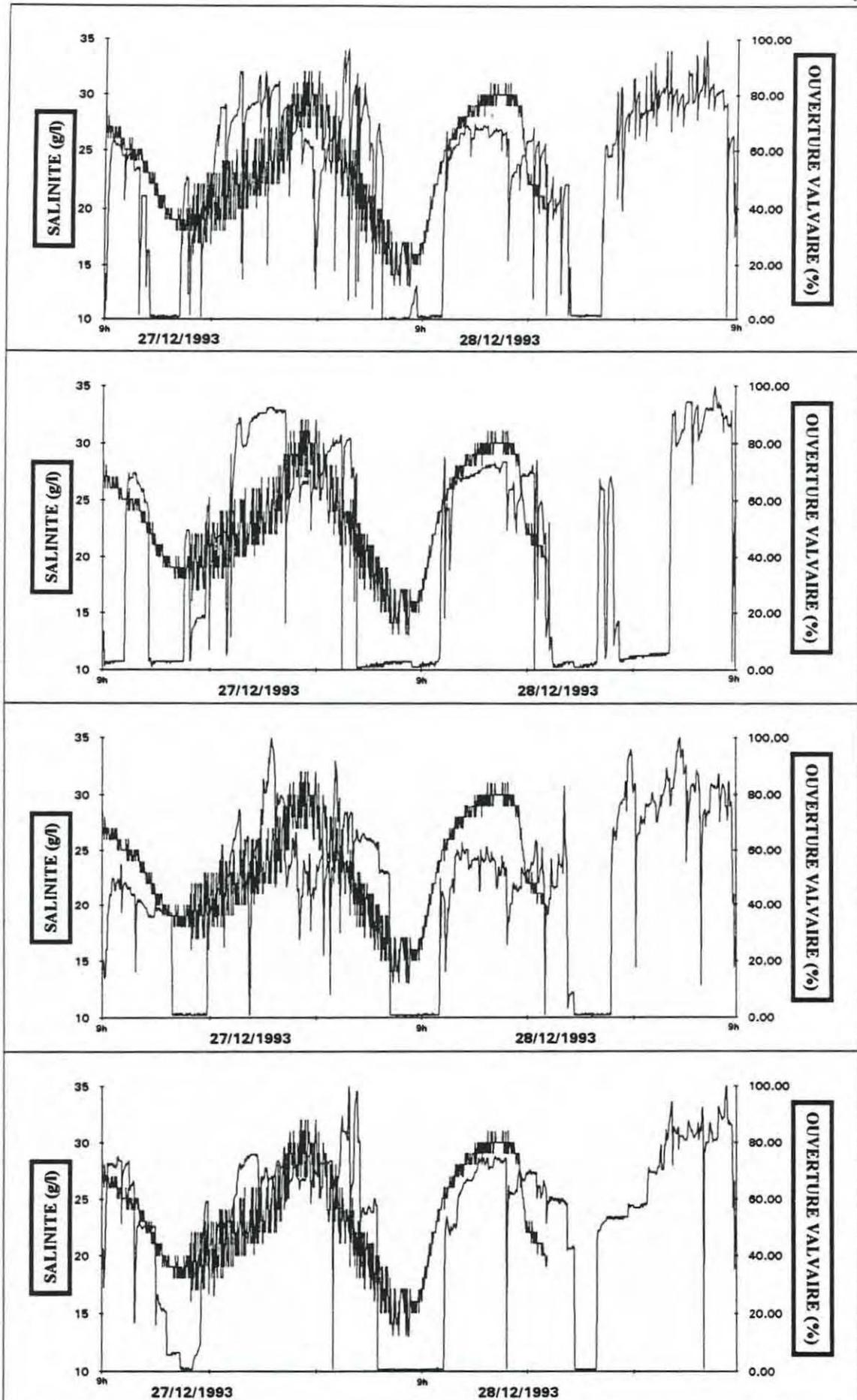


figure 67 : mouvements valvaires de moules de La Trinité-sur-mer lors de dessalures au laboratoire

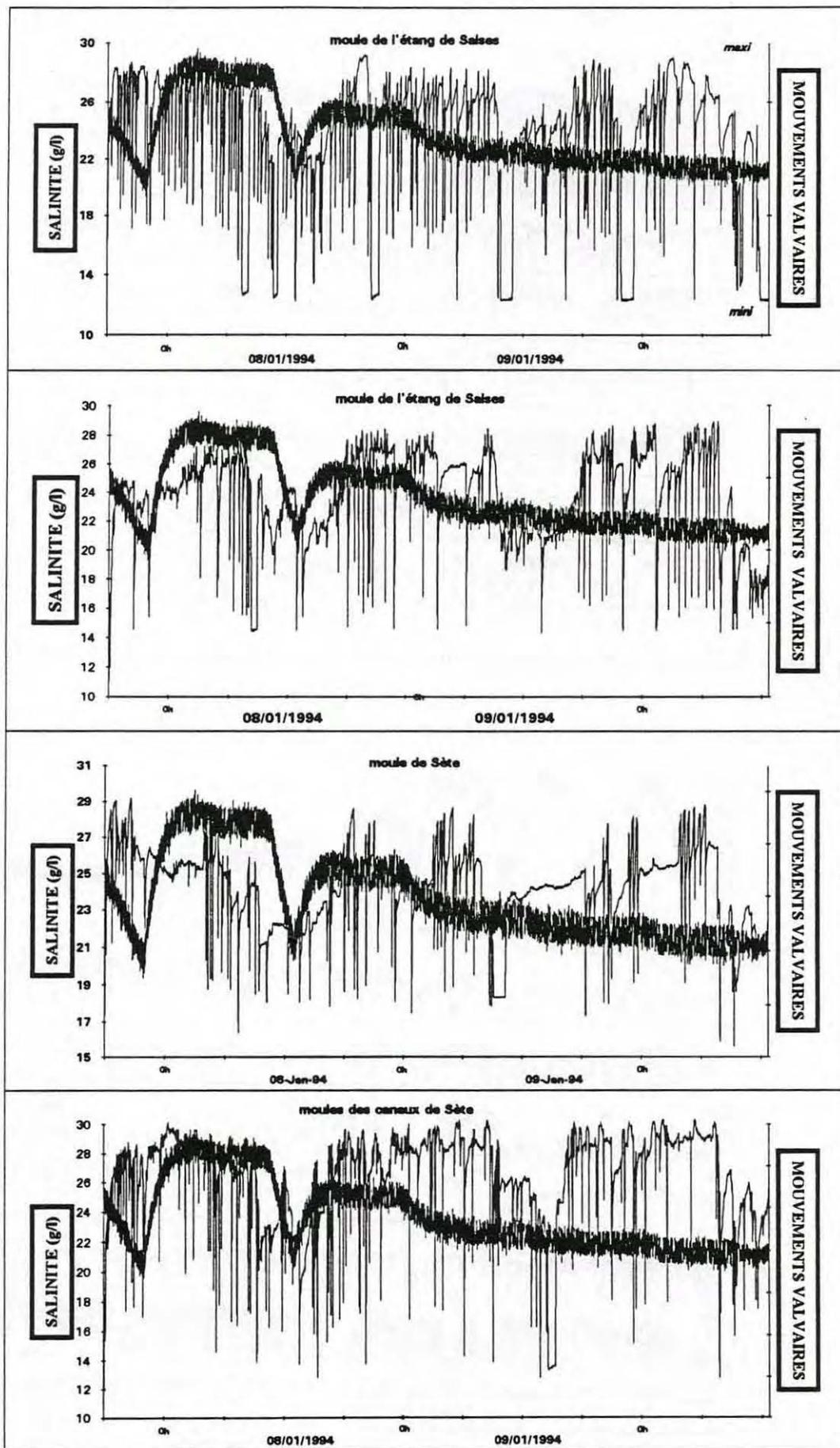


figure 68 : mouvements valvaires de moules de l'étang de Salses et des canaux de Sète lors de dessalures au laboratoire

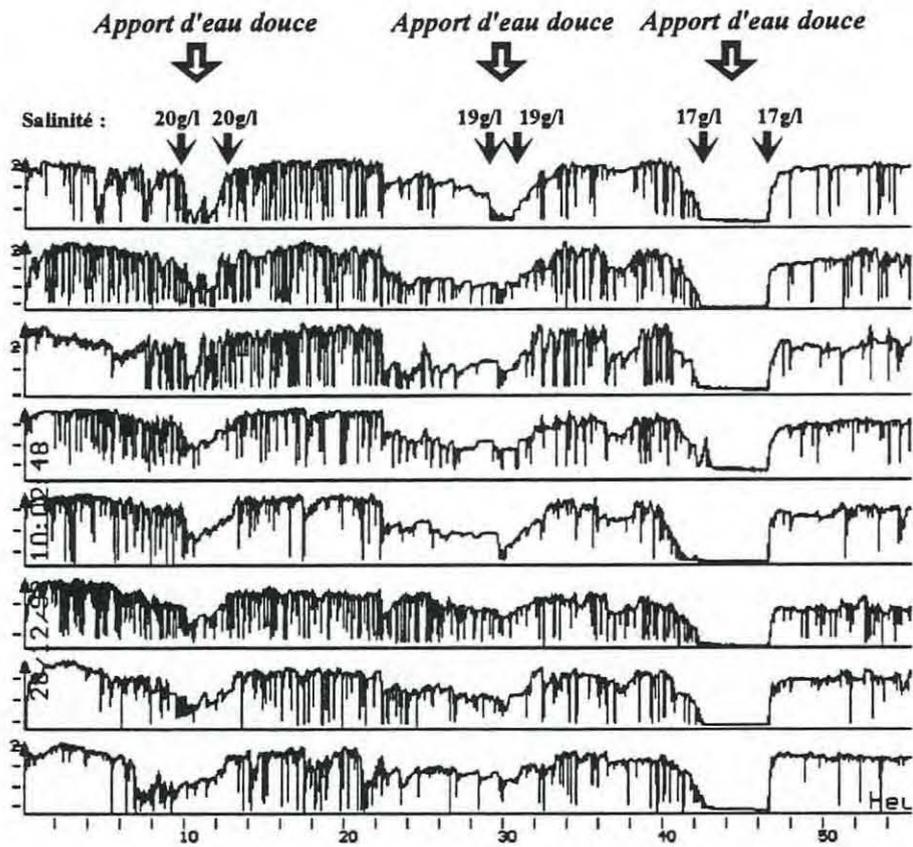


figure 69 : réponses valvaires de moules de l'Elorn à des dessalures successives

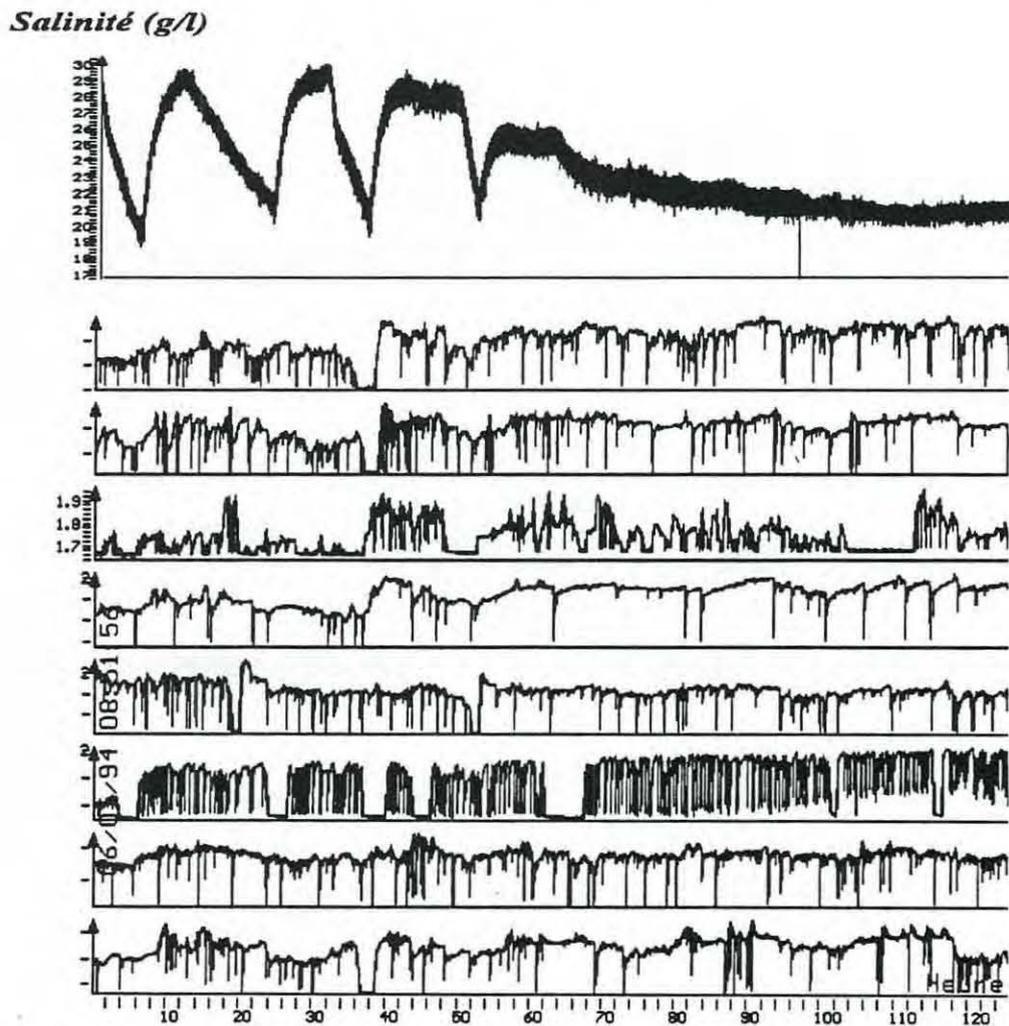


figure 70 : réponses valvaires de moules de la Vilaine à des dessalures successives

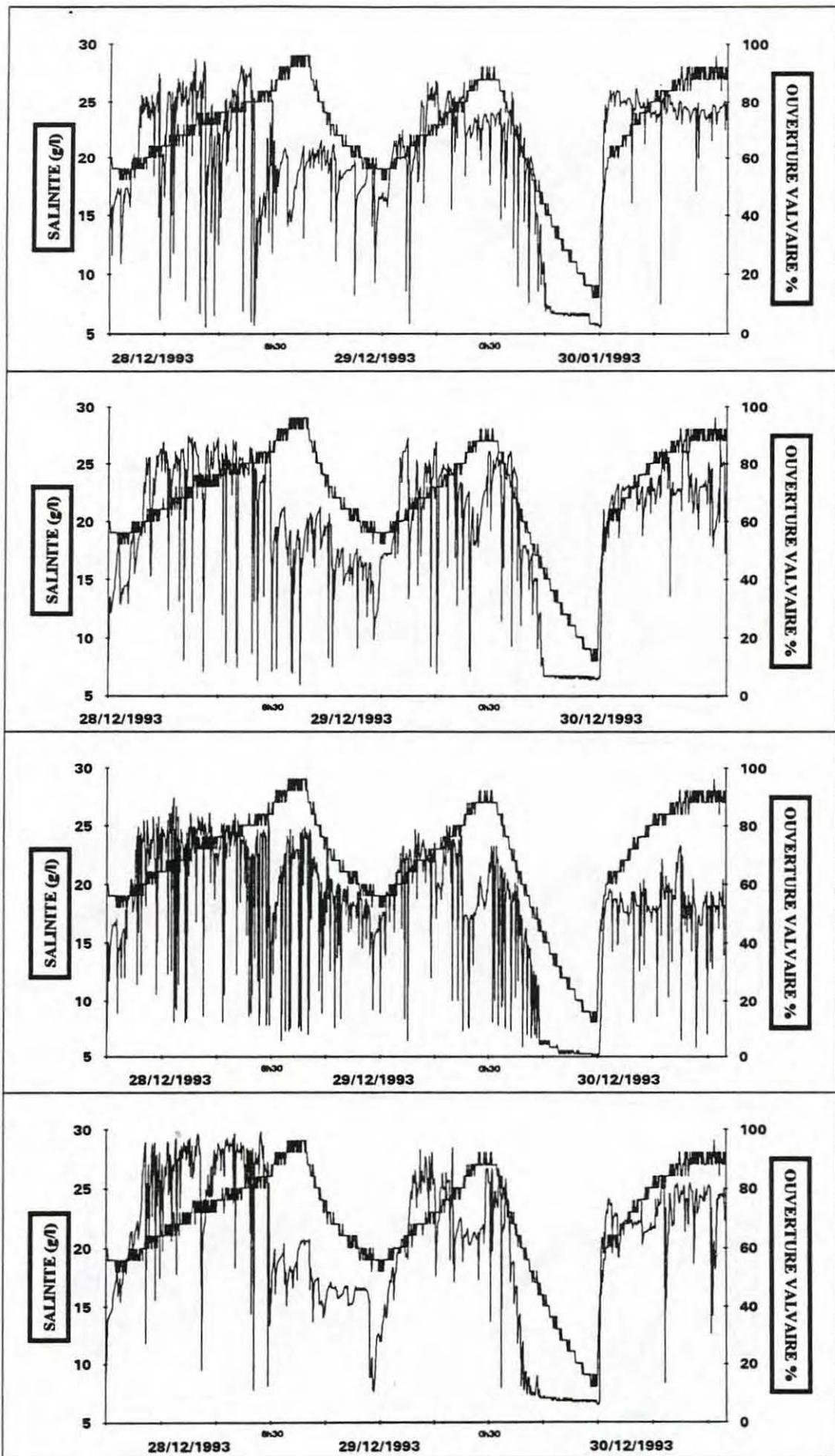


figure 71 : mouvements valvaires de moules de l'Elorn lors de dessalures au laboratoire

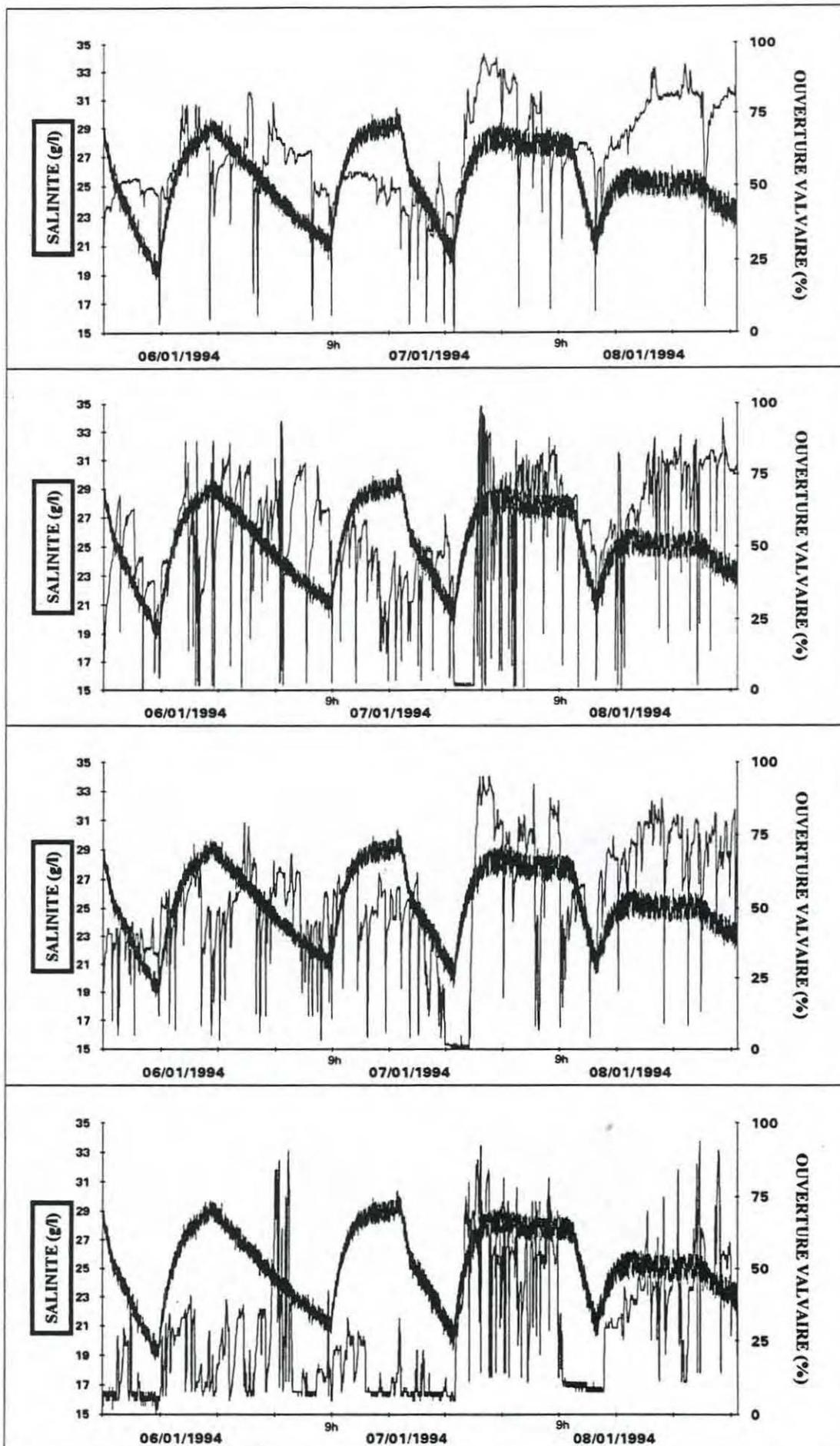


figure 72 : mouvements valvaires de moules de l'entrée de la Vilaine lors de dessalures au laboratoire

II.2.6. Discussion de l'ensemble des expérimentations

Les valvomètres feront l'objet d'une discussion détaillée dans le paragraphe II.3. Nous discuterons ici le comportement valvaire des bivalves à partir des expérimentations réalisées.

Les moules sont ouvertes la majeure partie du temps en l'absence de stress et réalisent des petits mouvements de faible amplitude pour s'alimenter et respirer. Les pics d'adductions ponctuels sont également physiologiques puisqu'ils correspondent à l'émission de fèces, pseudofèces et interviennent aussi durant la période de fixation de byssus. La mort des bivalves se traduit par un baïllement dû à l'autolyse du muscle adducteur postérieur (His, 1970).

II.2.6.1. Rythmicité nyctémérale

Une rythmicité nyctémérale apparaît sur les signaux valvaires des moules, elle semble corrélée au photopériodisme et se traduit par une ouverture maximale à partir de la tombée du jour et jusqu'au matin, accompagnée d'une augmentation de l'activité, en particulier des pics d'adduction brefs.

L'existence d'un cycle nyctéméral et éventuellement tidal, chez les mollusques bivalves a suscité de nombreuses études (Bennett, 1954 ; Morton, 1969 ; Vero et Salanki, 1969 ; Ameyraw-Akumfi et Naylor, 1987 ; Borcheding, 1992). Des théories contradictoires ont été bâties sur leur déterminisme (endogène ou exogène).

Borcheding (1992) montre que la proportion de moules ouvertes dans un échantillon varie en fonction de l'intensité lumineuse, avec des valeurs maximales pendant les premières heures d'obscurité et diminuant avec la lumière du jour, en présence de faibles concentrations en phytoplancton (15 000 cellules par ml). Avec des fortes concentrations (25 000 cellules par ml), il rapporte qu'aucune périodicité journalière n'est visible.

Ameyraw-Akumfi et Naylor (1987) attribuent cette rythmicité circadienne à un possible mécanisme adaptatif de défense contre les prédateurs.

Morton (1969) a souligné chez *Dreissena polymorpha*, la corrélation existant entre le cycle cytologique dans le diverticule digestif et le rythme valvaire. Il a noté une alternance de phase d'intense activité valvaire intervenant la nuit et de moments de quiescence, le jour. Durant la phase d'intense activité valvaire, la moule filtre des particules qu'elle ingère en grande quantité, les cellules digestives s'organisent en tubules sécrétant le style cristallin. Le pH du contenu stomacal passe de 7,2 à 8,2 probablement à cause de l'arrivée d'eau et d'aliments. La phase de quiescence correspond à la dissolution du style, le pH retombe à 6,6 et il y a arrêt d'arrivée d'eau. La digestion extra-cellulaire serait donc discontinuée et interviendrait pendant la phase de quiescence. Toutefois, cette théorie a été largement critiquée depuis.

II.2.6.2. Influence de la charge de l'eau en chlorophylle et en matières en suspension

Les mouvements valvaires semblent donc être un bon reflet global des activités physiologiques générales des bivalves. Ainsi, His (1972) détecte avec son ostréographe, les pontes d'huîtres *Crassostrea angulata*.

De même, ils témoignent de la sensibilité et de la réponse des organismes vis à vis de la qualité de l'eau et de ses variations.

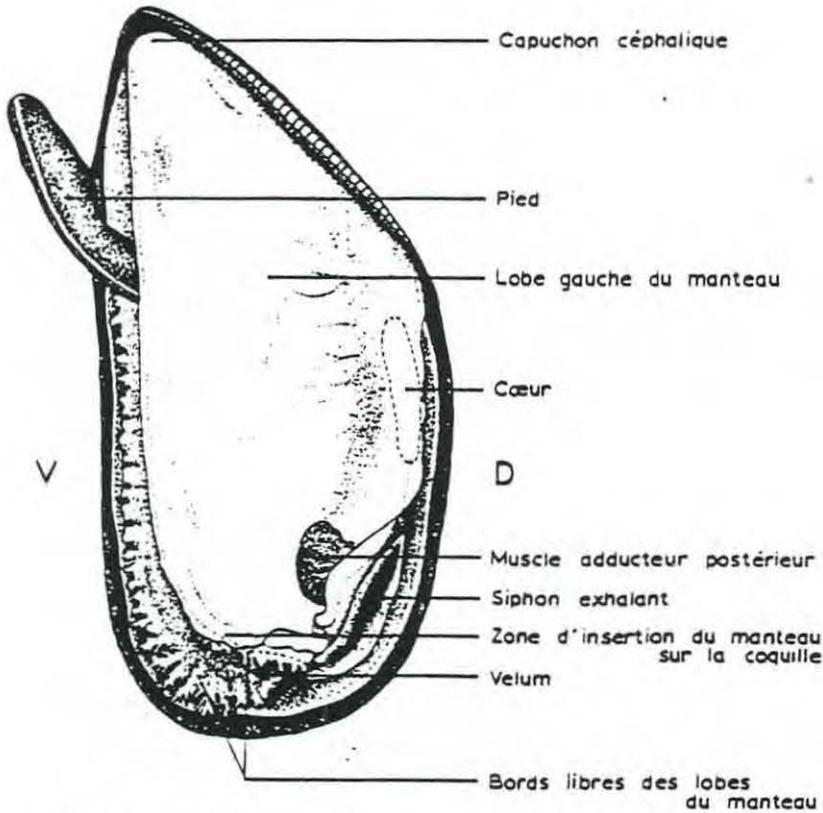


FIG. 72 — *Mytilus edulis* L. après ablation de la valve gauche.
(Dardignac, 1976)

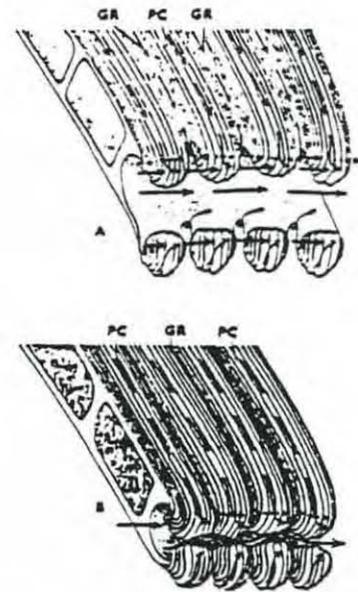


Figure 73 Filtres branchiaux de quelques lamel-libranches : trajet des particules le long des sillons (GR) et des crêtes (PC) des filaments vers le sillon nourricier chez *Pinna fragilis* (Atkins, 1937) :

A : musculature relâchée,
B : musculature contractée.

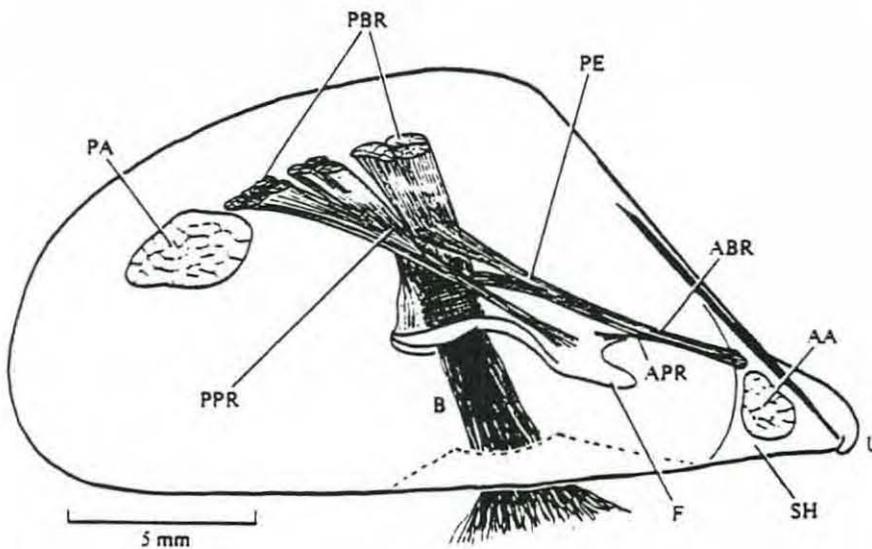


Figure 74 : musculature de *Dreissena polymorpha* (Bayne, 1976)
(SH) : extrémité antérieure de la valve, (PBR) muscle rétracteur postérieur du pied, (APR et ABR) muscle rétracteur antérieur, (AA) adducteur antérieur, (B) byssus, (F) pied, (PBR) : rétracteur postérieur du byssus, (PE) éleveur du pied.

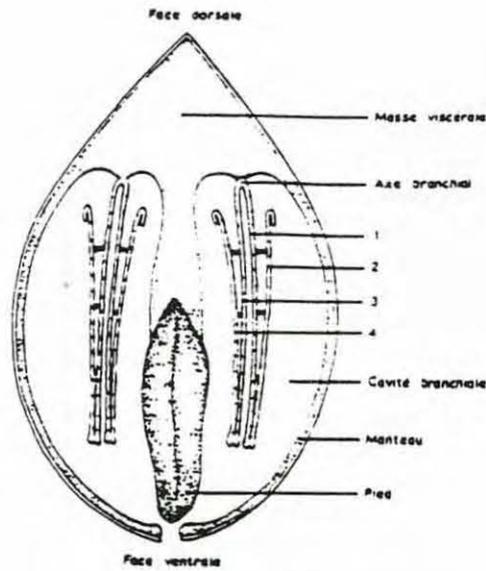


fig. 75 : coupe transversale d'une moule (Dardignac, 1976)

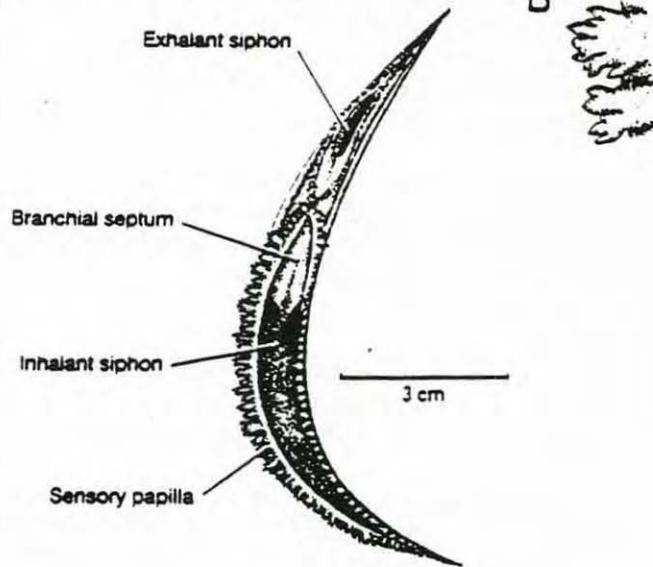


Figure 76 : Siphons de *Mytilus edulis* vus de l'extrémité postérieure du manteau (B) détail de deux papilles sensorielles (Morton, 1992)

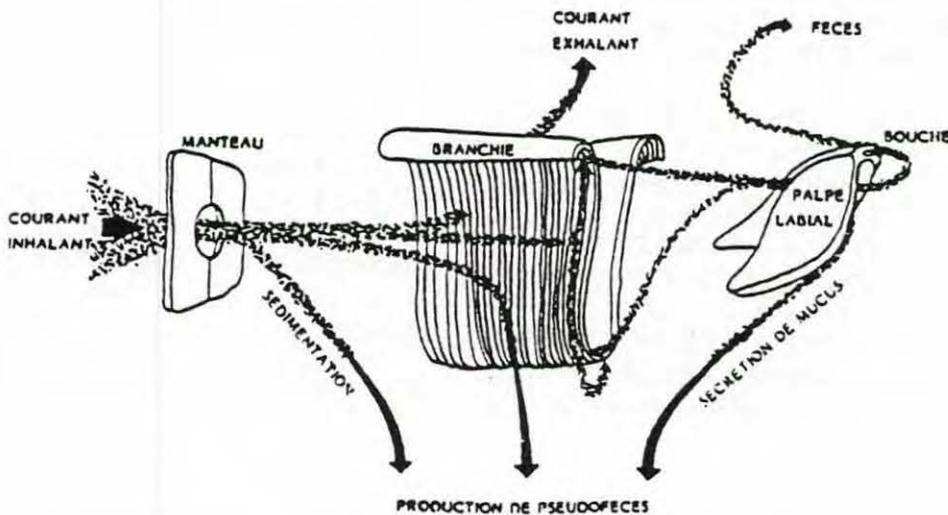


Figure 77. Représentation des différentes voies de déplacement des particules dans la cavité palléale des lamellibranches (Bernard, 1974).

Le déplacement des moules de Sainte-Anne du Portzic (eau pauvre en matières en suspension) au Tinduff, avec une augmentation de la charge en particules phytoplanctoniques et minérales entraîne une modification de l'activité valvaire, avec des mouvements de grandes amplitudes dus aux rejets importants de fèces et pseudofèces. L'ouverture valvaire moyenne reste importante. A noter toutefois la variation dans les méthodes d'alimentation des bacs d'expérience entre les deux sites. Le pompage au Tinduff est discontinu, la réserve constitue un tampon vis à vis des variations du milieu extérieur ; de plus le phytoplancton s'y multiplie. Une immersion directe sur site est plus représentative du milieu mais pose des problèmes pratiques (accès, vandalisme, tempêtes). Dans le cas de l'ensablement du valvomètre à Sainte-Anne en octobre, il est évident que le milieu contrôlé aurait évité ce genre de mésaventure.

En présence de fortes concentrations en phytoplancton (20 000 à 40 000 cellules de *Dunaliella* par ml), Winter (1973) observe une diminution du taux de filtration de *Mytilus edulis*. La moule contrôle la quantité de particules filtrées par les branchies en réduisant la surface de contact lamellaire avec l'eau ou en changeant la fréquence de battement des cils latéro-frontaux. (Bayne *et al.*, 1976). Une trop grande concentration en particules (au delà de 5 mg/l de concentration sestonique) entraîne une production de pseudo-fèces qui se traduit par une diminution du taux d'ingestion (Widdows *et al.*, 1979). Les pseudofèces sont constitués de matériel organique appauvri et surtout de matières minérales. De même, le taux d'assimilation est inversement proportionnel à la concentration en particules. Pour Thompson et Bayne (1972), en présence de faibles concentrations de phytoplancton (1000 cellules par ml), le taux d'assimilation est de 89%, mais, il diminue de façon linéaire lorsque la concentration augmente, pour être nul à la concentration de 25 000 cellules par ml.

A contrario, la moule à jeûn dans une eau filtrée réduit son écartement intervalvaire, en amplitude et en temps. Les phases de quiescence, rares en temps normal, sont fréquentes et longues. A l'inverse, les périodes d'ouvertures maximales composées d'activité fine et ponctuées par des adductions brèves, omniprésentes en présence de nourriture, sont réduites.

Le comportement valvaire semble donc corrélé à la composition alimentaire de l'eau et lié à l'activité de filtration et de ventilation des bivalves : en l'absence de particules en suspension dans l'eau, les moules à jeûn, réduisent leur ouverture valvaire et leur activité.

La filtration n'est possible que par l'activité de "pompe" des bivalves, dans laquelle la dynamique valvaire est un rouage indispensable. La capacité maximale de pompage chez la moule n'est atteinte que lorsque l'écartement intervalvaire est maximal, avec déploiement des bords libres du manteau et des siphons. C'est la position normale adoptée par les individus non stressés, in situ, en présence de seston comportant des matières organiques (fig. 72 et 76). La quantité d'eau circulant dans la cavité palléale chute avec la réduction de l'espace interfilamentaire, conséquence de la diminution de l'écartement valvaire, de la rétraction du manteau et des siphons et de la réduction des axes hémibranchiaux. Inversement, l'extension excessive des bords du manteau et des siphons par relâchement total de la musculature (naturellement lors de la ponte ou artificiellement sous l'effet de sérotonine) n'augmente pas, ou de façon minime, le courant d'eau (Jorgensen *et al.*, 1988).

La capture des particules en suspension dans l'eau par la branchie est réalisée grâce à l'induction d'un courant d'eau par le battement de cils latéraux. Cette activité assure également la ventilation des surfaces respiratoires. Le battement de ces cils s'interrompt lorsque le siphon exhalant est fermé, stoppant toute irrigation de la cavité palléale (Davenport, 1979). Le courant pénètre entre les lobes du manteau ou par le siphon inhalant dans la cavité hypobranchiale, traverse la branchie vers la cavité épibranchiale puis ressort par le siphon exhalant (fig. 77 et 79). Les particules en suspension dans l'eau sont alors piégées dans les mailles du filtre branchial et agglutinées par le mucus. Elles sont entraînées via les sillons nourriciers jusqu'à la bouche (fig. 73 et 80). Le tri est effectué au niveau des branchies (avec élimination des particules les plus grossières) puis des palpes labiaux

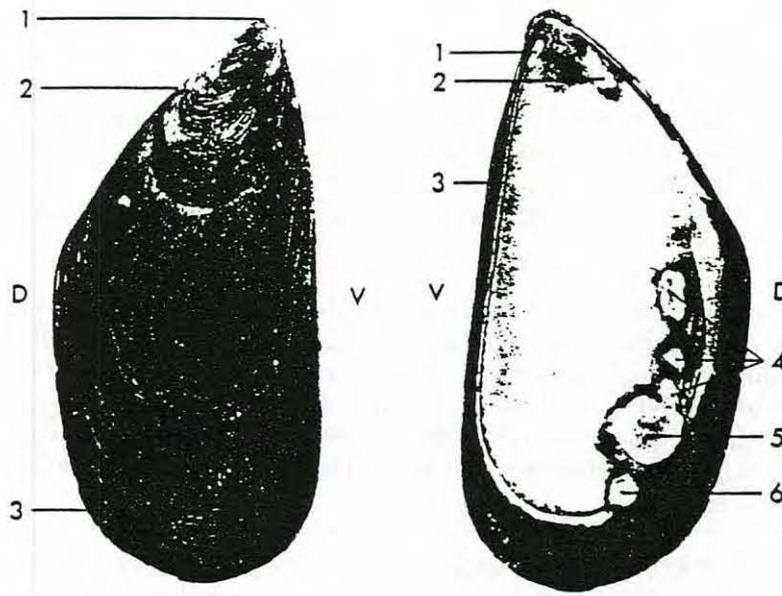


Fig. 78 — *Mytilus galloprovincialis* Lmk. valve droite. A gauche, aspect extérieur. D face dorsale. V face ventrale. 1 croche; 2 charnière. 3 strie d'accroissement. A droite, aspect intérieur. 1 muscle adducteur antérieur. 2 muscle retracteur antérieur du pied. 3 impression palléale. 4 muscles retracteurs postérieurs du pied et du byssus. 5 muscle adducteur postérieur. 6 muscle du siphon anal. (Dardignac, 1976)

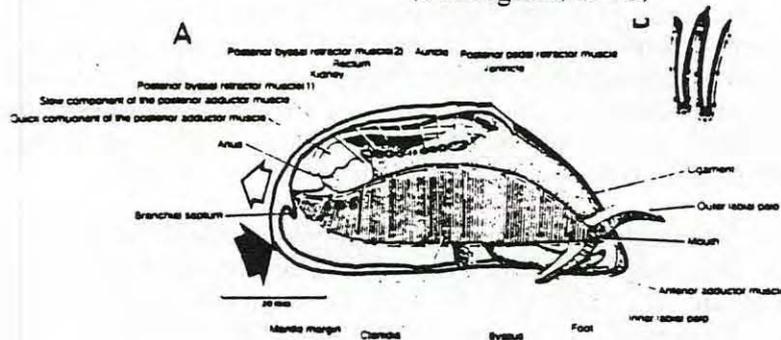


Figure 79 : anatomie de *Mytilus edulis* (Morton, 1992) les flèches indiquent le sens du courant d'eau

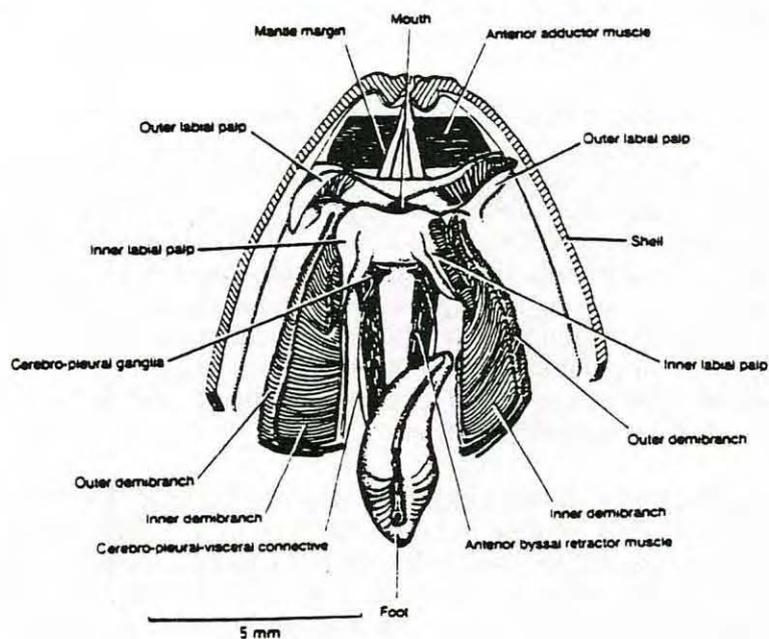


Figure 80 : anatomie de la portion céphalique de *Mytilus edulis* (Morton, 1992).

(Deslous-Paoli, 1993). Dans la mesure où le pompage est généralement associé, chez les bivalves, à la filtration et la respiration, le recours à l'enregistrement valvaire pour visualiser ces fonctions est séduisant. Mais, pour certaines espèces comme la moule, il introduit un biais puisqu'elle peut être largement ouverte sans pour autant être active ni filtrer (Akberali et Trueman, 1985).

Pour Thompson et Bayne (1972), les moules ne filtrent pas dans une eau trop pauvre en cellules (200 à 300 cellules par ml). La filtration est initiée brutalement, à partir d'un seuil de concentration en particules. Lorsque ce seuil est franchi, le taux de filtration augmente pour atteindre une valeur qui reste constante pendant toute la période d'alimentation. L'apport d'aliments (algues, particules inertes ou extraits algaux non particuliers) à des moules, à jeûn ou nourries, entraîne, une augmentation du taux de filtration, de ventilation et de consommation en oxygène.

Davenport et Woolmington montrent (1982) que dans des conditions d'alimentation intermittente, le pompage peut être maintenu, en l'absence de nourriture, surtout chez des moules qui étaient préalablement à jeûn. Inexistante la plupart du temps chez une moule à jeûn, il reprend ponctuellement avec une faible intensité et pendant une durée variable de quelques heures à quelques minutes seulement. Le reste du temps, les valves sont généralement fermées. L'apport d'eau "brute" (non filtrée), chargée en particules phytoplanctoniques et en matières minérales entraîne, sans délai, une ouverture maximale des moules à jeûn depuis plusieurs jours voire plusieurs semaines, avec reprise d'activité et pics d'adduction correspondant à l'émission de fèces et de pseudofèces. Dans ce cas, un pompage continu est constaté dès l'apport alimentaire, et celui-ci diminue mais ne cesse pas lors d'arrêt d'apport dans les premiers jours d'une alimentation intermittente. Après une semaine d'alimentation discontinuée, un comportement régulier est établi avec fort pompage en présence de nourriture diminuant largement en absence d'apport.

Filtration et ventilation sont liées. Une augmentation du taux de filtration est associée à une élévation de la pression partielle en oxygène de la cavité palléale et inversement : après la fermeture totale des valves, la tension en oxygène chute rapidement à zéro. La consommation d'oxygène, passe d'un niveau de métabolisme "actif" correspondant à une période d'alimentation, à un niveau moindre de métabolisme "standard" pendant la phase de jeûn prolongé (Thompson et Bayne, 1972).

Dans ces conditions, grâce à la connaissance des relations entre le comportement valvaire des moules et la teneur nutritive de l'eau, le valvomètre peut constituer un outil efficace pour l'évaluation de la qualité alimentaire d'un site, particulièrement utile en zone conchylicole.

II.2.6.3. Effet de chutes de salinité :

La moule répond aux chutes importantes de salinité d'abord en réalisant des mouvements d'adductions incomplètes puis en s'isolant du milieu par fermeture de ces valves aux alentours de 20‰. Il est toutefois difficile de définir précisément, à partir des essais réalisés, les salinités ayant initié le changement de comportement des bivalves et la fermeture, d'autant que le mélange eau douce-eau de mer n'était peut être pas parfaitement homogène. En fait, la réponse de *Mytilus* dépendrait plutôt de la vitesse de dessalure que d'un seuil minimal atteint. D'après Davenport (1979), plus la chute de salinité est rapide, plus la salinité à laquelle la moule se ferme est faible et plus la salinité et la pression partielle en oxygène de l'eau palléale est élevée.

Les dessalures réalisées expérimentalement ont été effectuées avec de l'eau du réseau. Gruffydd *et al.* (1984) soulignent l'effet dépresseur des additifs dans l'eau du robinet sur la croissance valvaire des moules, à des salinités où l'eau distillée n'a aucune incidence. Une dépression de la croissance devient apparente lors d'exposition des moules à des concentrations de chlore de 0,5 mg/l (sur des expériences de 5 jours). Les résultats d'analyse

de l'eau potable desservie à La Trinité-sur-mer durant nos expérimentations donnent une teneur en chlore de l'eau potable de 0,1 mg/l. Vues les dilutions réalisées pour recréer une dessalure à 20 ou 10 ‰, les doses apportées ne semblent pas suffisantes pour produire un effet sur la croissance des valves ni sur l'ouverture valvaire. Il en est de même pour le fluor (fluor 55 microg/l à La Trinité). D'après les recherches de ces auteurs, l'agent responsable de cette dépression serait le cuivre, dont une concentration de 10^{-2} microg/l suffit à inhiber la croissance des coquilles. Les limites de détection du cuivre par le valvomètre hollandais sont de 5 microgramme/l.

Une exposition persistante à une salinité de 10 ‰ maintient les valves fermées, même pendant plusieurs jours. Il existe cependant une ouverture minimale des valves, pouvant être associée au test de la salinité : l'eau diffuse jusqu'aux récepteurs de salinité situés sur la portion tentaculaire du siphon inhalant (Davenport, 1981).

Bien qu'étant une espèce osmoconformiste, *Mytilus edulis* survit dans des zones où les variations de salinité sont extrêmes (0,5 à 40 ‰). Elle maintient son équilibre osmotique intérieur en s'isolant du milieu par fermeture de ses siphons, exhalant d'abord, inhalant ensuite, puis par adduction complète de ses valves (fig. 75). Pour Davenport (1979), lors d'une dessalure de 33,5 à 0 ‰ en 4 min, le siphon exhalant se ferme à 25 ± 2 ‰, le siphon inhalant se ferme à 22 ± 3 ‰ et l'adduction complète des valves intervient à 11 ± 3 ‰, la salinité intrapalléale est alors de 31 ± 1 ‰. Lorsque la chute est moins rapide, les écarts diminuent. En fait, l'adduction valvaire lors de dessalures intervient avec un temps de retard par rapport à la fermeture des siphons et donc à la chute de salinité elle-même.

La salinité intrapalléale ne chute pas en deçà de 21 ‰, même lors de dessalure extrême (Milne, 1940 ; Shumway, 1977). Ainsi, lorsque la moule pompe de l'eau, celle-ci est directement testée à l'entrée. En cas de chute de salinité, l'échange d'eau entre la cavité palléale et l'extérieur est donc limité. La fermeture du siphon exhalant, entraînant l'arrêt du pompage de l'eau protège la cavité palléale des basses salinités extérieures. Un apport de sodium, magnésium et chlorure avec de l'eau douce suffit à contrer la fermeture valvaire. L'augmentation de la salinité du milieu extérieur produit un changement du gradient électrochimique dû à la diffusion des ions salins au niveau de la portion tentaculaire du siphon inhalant. La localisation des récepteurs est superficielle. La diffusion des ions jusqu'aux récepteurs se fait facilement lorsqu'un infime écartement valvaire persiste, renseignant l'organisme sur la salinité du milieu.

Les dessalures réalisées lors de cette première série de manipulations étaient relativement fortes et leurs effets remarquables. La fermeture complète qui s'opère constitue un isolement vis à vis du milieu hostile, mécanisme de protection qui aurait évité l'exposition à des substances toxiques, si elles avaient été apportées conjointement à l'eau douce.

Il serait également intéressant de réaliser des chutes plus faibles (entre 34 et 28 g/l), afin de voir si celles-ci provoquent des modifications comportementales (hyperactivité, diminution de la moyenne d'ouverture valvaire), puis de déterminer la dessalure maximale n'entraînant pas de réaction. L'influence de la salinité varie en fonction de la température et inversement. Une élévation de température, qui augmente l'activité et les besoins des mollusques, peut causer des mortalités si elle survient en même temps qu'une dessalure. Les mollusques supportent mieux les dessalures en période froide qu'en été (Marteil, 1974). Par ailleurs, l'interaction de chutes modérées de salinité ne provoquant pas de fermeture complète avec l'apport de polluants serait à étudier. Ceci, afin de pouvoir, en pratique, faire la distinction entre les mouvements pouvant être dus à une simple variation de salinité en zone estuarienne de ceux dus à une substance toxique.

Il semble également que la provenance des moules ait une influence sur les réactions aux dessalures. Les moules d'origine estuarienne (Elorn, Vilaine) réagissent aux différentes

dessalures réalisées plus tardivement et pour des salinités plus faibles. Lors d'exposition persistante à des salinités basses 10 ‰, elles testent le milieu, ouvrant légèrement leurs valves (ce qui permet la diffusion des ions jusqu'aux récepteurs de salinité). Au cours d'une dessalure à 10 ‰, certaines moules de l'Elorn montrent une nette reprise d'activité avec des mouvements d'hyperactivité, pouvant être interprétés comme un essai d'épuration de l'eau de la cavité palléale. Les moules océaniques restent quant à elles complètement fermées.

Si des chutes de salinité aux alentours de 20 ‰ provoquent une fermeture temporaire des valves chez les moules d'Ouessant comme de l'Elorn, la reprise d'activité plus rapide et plus proche de l'activité physiologique pour les bivalves estuariens.

L'adaptation des moules aux conditions qu'elles affrontent habituellement dans leur milieu est confirmée par les simulations de cycles de salinité réalisées en milieu contrôlé. Les moules soumises régulièrement à des fluctuations de salinité (pouvant aller ponctuellement jusqu'à 0 ‰ en période de crue, à basse mer de grande marée) se ferment à des teneurs plus basses (entre 18 et 20 ‰ pour les moules sauvages de Vilaine et 23 à 25 ‰ pour les moules d'Ouessant). D'où des variations de sensibilités en fonction des lots choisis (ce point sera développé dans l'analyse méthodologique). L'influence de la génétique sur ces réactions serait à étudier : *M. galloprovincialis* serait plus sensible aux chutes de salinité. Pour Lubet (1973), l'optimum de salinité se situerait entre 28 et 34 ‰ contre 25 à 29 ‰ pour *Mytilus edulis*.

Les enregistrements de Paluden sont une excellente illustration de l'effet de salinités fluctuantes en zone estuarienne sur le comportement des bivalves. Ils posent également le problème du choix des sentinelles. Dans ce cas, les moules d'Ouessant (*Mytilus galloprovincialis*), continuellement exposées à des salinités de 35 ‰, sont particulièrement sensibles et se ferment toutes les huit aux alentours de 25 ‰. Le problème est que la réponse à la dessalure peut masquer une réaction à des polluants drainés par l'eau douce. Des moules plus adaptées aux dessalures ne se seraient pas fermées à ce seuil de salinité.

Pratiquement, ce fait illustre la nécessité de couplage de ces capteurs biologiques à des mesures en continu des paramètres physico-chimiques (salinité, oxygène, température, pression ou marée).

Par ailleurs, durant cette campagne de mesures dans l'Aber Wrac'h, plusieurs phases d'hyperactivité se sont produites simultanément pour les huit moules, à marée haute. Aucune explication physiologique ne peut expliquer ce synchronisme. L'hypothèse d'un stress est probable. La durée (une heure trente) de cet événement tend à exclure un artéfact dû par exemple à des vibrations. Reste l'hypothèse d'un polluant chimique ou d'une nappe de phytoplancton toxique.

Mais une des caractéristiques de ce type de capteur est d'être non spécifique, d'où l'intérêt d'un traitement de signal permettant le déclenchement automatique d'un échantillonneur d'eau.

II.3. ANALYSE METHODOLOGIQUE

L'intérêt de ce type de capteur biologique réside dans trois points essentiels. Il utilise une réponse biologique simple et sensible : le comportement valvaire des bivalves, mesurée à l'aide d'un dispositif technologique perfectionné qui enregistre les valeurs sous forme de signal brut. Celles-ci sont ensuite étudiées par traitement informatique avec émission d'alarmes en cas de franchissement de seuils préparamétrés.

II.3.1. Le capteur

Les expérimentations réalisées furent en quelque sorte un banc d'essai avec des instruments nouveaux dont il était indispensable de comprendre le fonctionnement avant une utilisation "en routine" en surveillance de la qualité de l'eau. L'aspect novateur et original de ces systèmes explique l'orientation donnée aux expérimentations réalisées.

Le fait d'avoir utilisé deux appareils différents permet de dresser un tableau comparatif de leurs avantages et inconvénients respectifs (tableau 13).

II.3.1.1. Structure des deux appareils

Le valvomètre Ifremer-Micrel se distingue par sa compacité : léger et de faible encombrement, il est facilement utilisable au laboratoire comme sur le terrain. Dépourvu de connexion électrique, il est parfaitement étanche, ce qui limite les risques de pannes dues à la corrosion ou les fuites d'eau. Autonome en énergie pour une durée d'environ dix ans, il peut être installé partout, sans la contrainte d'une liaison permanente. Les mesures sont enregistrées directement dans la microcentrale d'acquisition intégrée (32Ko extensible équipée d'un microprocesseur "microcontrôleur" 87C51). La collecte des données et l'émission des alarmes pourraient dans l'avenir être réalisées par transmission hertzienne, assurant en permanence une information directe à distance.

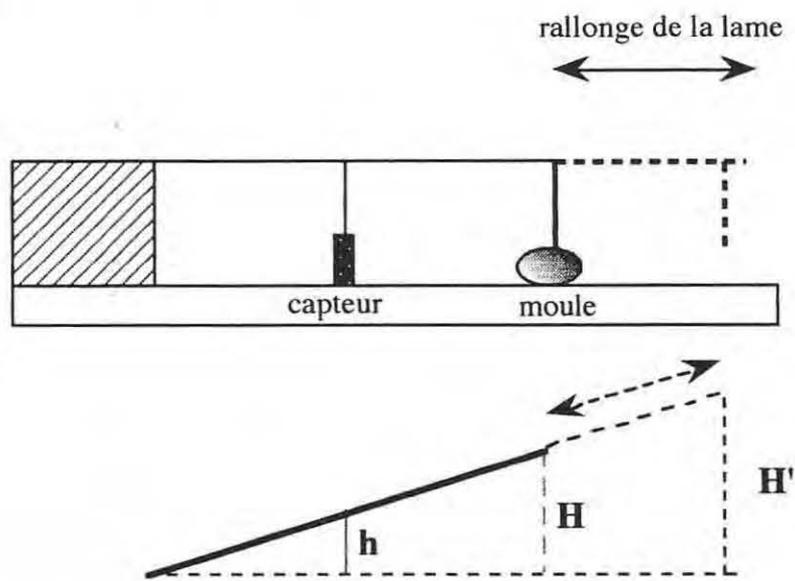
A l'inverse, le "Mosselmonitor" est relativement lourd (30 kg). Si son poids assure un lest suffisant sur le terrain et sa hauteur évite l'ensablement, son encombrement est contraignant lors des transports et pour les utilisations au laboratoire. Sa batterie n'offre qu'une faible autonomie électrique, de 3 à 30 jours selon le constructeur (14 jours pour une cadence de mesures de 120 s). L'appareil est pourvu d'un câble assurant l'alimentation électrique (secteur ou solaire) et le transfert des données et des alarmes. La mémoire interne de l'appareil, dotée d'un microprocesseur de l'ancienne génération (Eurolog Z80), ne peut stocker que les messages d'alarmes à hauteur de 800 lignes maximum. Pour obtenir les signaux valvaire, la connexion permanente à un ordinateur est impérative, ce qui alourdit considérablement le dispositif. De même, la transmission des alarmes se fait par connexion électrique.

I.3.1.2. Système de mesure

Tout capteur est caractérisé par sa dynamique et sa résolution. Nous avons donc étudié, en premier lieu, la plage de linéarité des deux appareils.

Le valvomètre hollandais offre une dynamique de 1 cm et son homologue français 4,5 mm (déplacement au niveau du capteur, soit, dans la version utilisée, étant donné la longueur de la lame horizontale transmettant les mouvements, environ 7 mm au niveau de la moule). La largeur de plage est donc supérieure pour le Delta-Consult mais est dans les deux cas, relativement faible vu les ouvertures valvaires potentielles des moules comme des huîtres.

Il ne semble pas possible de modifier cette valeur sur le "Mosselmonitor". Pour le valvomètre Ifremer-Micrel, la mesure porte sur l'écartement entre l'aimant et le capteur à effet Hall coulé dans la résine. Afin d'étendre l'application à des mollusques (moules, huîtres plates et creuses, coquilles St-Jacques) de plus grande taille, il suffirait de jouer sur le bras de levier de la lame horizontale qui transmet les mouvements des valves au capteur. Un système mécanique adaptatif (rail) permettant d'allonger la lame est envisageable, avec déplacement de la zone de collage du bivalve sur la couronne de l'appareil (allongement de la lame vers la périphérie du valvomètre). Par contre, cette adaptation diminuerait la résolution de l'appareil.



déplacements pour une même ouverture valvaire :
 h : au niveau du capteur
 H : à l'emplacement actuel de la moule
 H' : au niveau de la moule après rallonge de la lame

figure 81 : influence de la distance entre capteur et bivalve sur les écartements mesurables

De plus, l'écartement valvaire est maximal à l'extrémité postérieure et ventrale de la moule (à l'opposé de la charnière) ; le positionnement de la vis plus antérieurement et à proximité de la charnière réduit l'amplitude des ouvertures mesurées (fig. 78). Enfin, l'abduction valvaire dépend de la taille du bivalve ; le recours à des animaux plus petits permet de pallier à cette contrainte. Afin d'augmenter la dynamique de l'appareil (à deux centimètres) et d'étendre l'application à des bivalves plus grands, la société Micrel développe actuellement un autre système de mesure plus performant.

Le collage des mollusques sur l'appareil et l'ajustement des capteurs nécessitent de la rigueur puisqu'ils influencent directement la qualité des mesures effectuées.

L'orientation verticale des moules imposée par le Mosselmonitor ainsi que les trois points de colle (coquille sur support, électrode sur coquille et sur le support) rendent la fixation des bivalves longue et fastidieuse. En ce domaine, le valvomètre Ifremer-Micrel est nettement plus pratique car les moules sont orientées horizontalement et il n'y a qu'un seul point de collage (la coquille sur le support) ; le capteur est simplement ajusté à la valve libre par une vis. La durée de cette opération initiale est d'une heure trente pour le Delta-Consult pour une demi-heure pour le valvomètre Ifremer. Dans les deux cas le réglage initial des

capteurs est à faire minutieusement : lors du collage des deux électrodes pour le Delta-Consult et lors de l'ajustement de la vis sur la valve libre pour le deuxième modèle (la vis doit reposer impérativement sur la valve, sans nuire à son ouverture ni empiéter sur la plage de linéarité par un décollement de l'aimant, moule fermée).

Le risque de variation de ce réglage existe avec le valvomètre Ifremer, surtout sur le terrain lors de déplacement de l'appareil (sortie de l'eau, choc, accumulation de sable ou de vase). Cette modification intervenant alors que l'appareil est en service compromet l'analyse des mesures puisque le minimum mesuré ne correspond plus à un écartement intervalvaire nul (moule fermée). Ces risques sont quasi-inexistants pour le Delta-Consult si le collage des moules et des capteurs est efficace.

Dans le capteur hollandais, la contrainte exercée par les électrodes sur les moules est nulle (position verticale), tandis que la disposition du capteur à effet Hall suggère une étude plus approfondie sur les contraintes exercées par la lame sur la moule. L'abduction chez la moule est la conjonction de l'ouverture passive produite par le ligament et du relâchement du muscle adducteur postérieur qui fait cesser toute contrainte (fig. 78). La force d'appui exercée par le capteur peut elle empêcher l'ouverture complète des valves ? Pour le savoir, des essais pourraient être réalisés en appliquant des forces croissantes sur les lames. A l'inverse, une trop grande flexibilité de la lame risquerait d'entraîner des mouvements parasites sous l'effet des mouvements de l'eau.

D'autres différences entre les deux systèmes existent en matière de traitement intégré du signal. Elles seront développées dans le paragraphe suivant. Soulignons enfin l'écart de prix de vente entre les deux appareils (environ 50 000 F pour le capteur Micrel et 140 000 F pour son homologue fabriqué par Delta-Consult).

tableau 13 : principaux avantages et inconvénients des deux valvomètres

appareil	DELTA-CONSULT	IFREMER-MICREL
Présentation	lourd 30 Kg et volumineux 30 cm diamètre, 50 cm hauteur	léger 2 Kg et compact 30 cm diamètre, 5 cm hauteur
facilités d'emploi	collage fastidieux moules verticales 3 points de collage	collage rapide et facile moules horizontales 1 point de colle
signal	plage de linéarité 1cm traitement d'alarme intégré signal brut et alarmes si micro en permanence seul : alarmes (800 lignes) transmission avec connexion	plage de linéarité 4 à 5 mm mais système évolutif pas encore de traitement d'alarme intégré signal brut enregistré dans la centrale intégrée à l'appareil autonome (32Ko extensible) transmission sans connexion
alimentation électrique	batterie de faible autonomie (30 jours maxi)	entièrement autonome (10 ans)
coût (approximatif)	140 000 F	50 000 F

II.3.2. Les bivalves sentinelles

La particularité d'un capteur biologique est d'utiliser les réponses d'organismes vivants sensibles pour alerter des changements du milieu.

II.3.2.1. Sensibilité individuelle

Les bivalves présentent une sensibilité individuelle nette.

Celle-ci constitue un atout pour l'utilisation de l'appareil en alerte. Le changement **accidentel et simultané** de comportement des huit moules signe un événement extraordinaire caractéristique de modification de la qualité de l'eau. Dans cette configuration, c'est le caractère exceptionnel de cette simultanéité qui est fondamental. Il y a absence momentanée de variabilité individuelle en raison d'un événement majeur survenant dans le milieu. Si les quiescences physiologiques, intervenaient régulièrement pour plusieurs moules en même temps, ce paramètre ne pourrait constituer un signal d'alarme.

A contrario, cette variabilité individuelle rend les tests statistiques moins puissants et les comparaisons moins précises lorsque c'est le comportement moyen qui est utilisé pour caractériser une qualité d'eau (par exemple la richesse de l'eau en éléments nutritifs).

II.3.2.2. Adaptation

Outre cette sensibilité individuelle, l'adaptation des animaux aux conditions favorables ou stressantes dans lesquelles ils vivent, influence leur réponse.

Les moules provenant d'un site "pur", non pollué et non soumis à variations, constituent une référence car elles sont très sensibles à toute modification du milieu. Mais elles réagissent également à des variations naturelles survenant dans le milieu à tester, si celui-ci est plus fluctuant que leur écosystème habituel. C'est le cas des moules océaniques immergées en milieu estuarien qui réagissent aux chutes modérées de salinité par fermeture de leurs valves. Dans ces conditions, le passage concomitant d'une substance toxique peut être masqué et non décelé : le capteur est trop sensible aux variations naturelles et pas assez sélectif vis à vis des polluants.

L'adaptation influence les réponses enregistrées. L'utilisation de moules "indigènes" sur un site atténue favorablement leurs réactions aux variations naturelles se produisant habituellement sur le site et donc filtre les réponses par **excès** comme celles aux dessalures qui pourraient masquer le passage de polluants. A l'inverse, une accoutumance à certaines substances toxiques est défavorable : la sentinelle ne réagit plus. Il y a alors perte de sensibilité (erreur par **défaut**).

Le choix doit donc se porter dans l'idéal sur des individus provenant d'un site différent au plan des risques de pollution mais semblable au plan des variations naturelles.

Afin de pallier aux risques d'accoutumance lors d'expérimentations à long terme, un changement fréquent des animaux est conseillé (Slooff *et al.*, 1983). Le problème est d'établir la fréquence de remplacement des animaux. De Zwart *et al.* (1992) estiment qu'ils peuvent rester 2 à 3 mois en place.

Mais, le valvomètre peut aussi être un instrument d'étude des réponses adaptatives à un milieu donné, à longues échéances.

En outre, ces remarques soulignent l'importance du temps d'adaptation à respecter en début d'expérience. Les différents biologistes ayant travaillé sur ce type de mesures laissent

au moins 24 heures d'adaptation, le temps pour la moule de tisser un réseau solide de byssus (Jenner *et al.*, 1989).

L'âge intervient-il sur le comportement valvaires des bivalves ? Borcheding (1992), montre que le pourcentage de moules ouvertes est plus important pour des individus de petite taille (de même espèce). Dans ce cas, les juvéniles pourraient être plus exposés aux polluants et la réponse valvaire plus nette, les adultes ayant pu s'accoutumer à l'occasion d'événements toxiques antérieurs.

II.3.2.4. Choix de l'espèce :

Existe-t'il des différences de comportements valvaires selon les espèces choisies ? Dans le cas des chutes de salinité, *Mytilus galloprovincialis* est plus sensible que *M. edulis*. Qu'en est-il de leur sensibilité respective aux contaminants ?

Nos expérimentations ont porté uniquement sur les moules marines. Des différences de comportement existent chez d'autres bivalves en fonction de leur aire de répartition et de leur particularité anatomique : les fouisseurs comme *Scrobicularia plana* possèdent des siphons plus développés dont la réponse est plus précoce que la fermeture valvaire. Les signaux valvaires d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* semblent moins appropriés à la détection des stress de par la fréquence importante des phases de quiescence en temps normal.

L'ouverture valvaire "physiologique" des moules d'eau douce (*Dreissena polymorpha*) plus souvent citée dans la bibliographie semble similaire à celui de *Mytilus*. *Unio pictorum*, espèce fouisseuse dulçaquicole, réagit à des conditions défavorables par des mouvements exacerbés de son pied destinés à fuir et se traduisant sur les signaux valvaires par une hyperactivité.

Si les mouvements sont globalement similaires, la sensibilité aux polluants est spécifique. D'où l'importance pour le traitement des signaux de constituer des lots homogènes (taille, âge, provenance, espèce), ou, dans certains cas, d'avoir recours à plusieurs lots, certains assurant la détection ciblée de polluants connus, d'autres réagissant non spécifiquement à tous les stress. Si les méthodes d'enregistrement des mouvements valvaires sont transposables d'une espèce à une autre, les limites de détection (type de polluants, dose) sont spécifiques.

II.3.3. Le traitement du signal

Les appareils enregistrant les mouvements valvaires existent depuis le début du siècle (Marceau, 1909), mais leur regain d'intérêt en tant que capteur biologique réside dans les progrès technologiques permettant d'enregistrer automatiquement et en continu le comportement valvaire, puis de traiter efficacement les nombreuses données mémorisées.

II.3.3.1. Acquisition des données

Si le valvomètre Ifremer ne réalise, pour le moment, que l'acquisition de mesures d'écartement valvaire avec traitement en différé sur micro-ordinateur, son homologue hollandais possède un logiciel intégré de traitement d'alarmes.

Durant la phase de validation, l'enregistrement du signal brut semble indispensable. Il permet de visualiser l'ensemble des mouvements des bivalves et, surtout, est capital pour la détermination des seuils d'alarmes à paramétrer.

Les mesures sont réalisées en pseudo-temps réel avec des échantillonnages à intervalles réguliers. L'utilisateur doit fixer au départ un pas d'enregistrement. Si une cadence très resserrée décrit exhaustivement les mouvements, elle sature rapidement les mémoires des enregistreurs et est incompatible avec l'autonomie souhaitée en utilisation sur le terrain (à titre d'exemple, la mémoire extensible du mémocollecteur Micrel pour des pas de mesure de 2 minutes est saturée en 10 jours environ). A l'inverse, plus l'échantillonnage est espacé, plus la perte d'informations est importante. Une étude réalisée avec des signaux valvaires de moules soumises à un apport ponctuel de cuivre montre que l'on peut difficilement distinguer les enregistrements faits en continu de ceux faits toutes les cinq secondes ; l'augmentation des intervalles tend à lisser les pics mais les informations restent exploitables jusqu'à 4 minutes (Kramer *et al.*, 1989).

Tout dépend de l'objectif (étude fine du comportement, expérimentation toxicologique ou détection des accidents majeurs) et des contraintes (taille de la mémoire, accès au site). Si une réaction simultanée pour la majorité des moules n'est pas détectée car elle s'est produite entre deux mesures, l'exposition des bivalves aura également duré moins d'un pas de temps et l'effet de la pollution en sera d'autant plus limité.

Afin de réduire le nombre de données enregistrées, seules peuvent être mémorisées les valeurs différentes entre deux mesures successives (compression des données). Pour de faibles activités, le gain est considérable.

Enfin, dans la configuration alarme, seules seront mémorisées les "alarmes" correspondant au dépassement de seuils préprogrammés.

II.3.3.2. Traitement du signal

S'il est facile de mesurer l'écartement valvaire, le traitement des signaux devient rapidement fastidieux en l'absence d'outil informatique performant. Par ailleurs, les informations apportées par la simple observation des signaux bruts sont insuffisantes et doivent rapidement être relayées par une analyse statistique.

Etant donné la sensibilité et la précision des deux valvomètres modernes, le mouvement est finement décrit et se contenter du seul critère "ouvert-fermé" pour juger de la qualité de l'eau serait insuffisant. L'hyperactivité et l'évolution des moyennes apportent des renseignements complémentaires indispensables, notamment pour l'élaboration des alarmes. Certains polluants produisent rapidement une hyperactivité et la fermeture valvaire peut être très tardive à des doses considérables.

- passage en pourcentage :

Le premier traitement des valeurs consiste à passer des données brutes mesurées pour chaque moule (fonction de la taille et de la morphologie du coquillage et du réglage initial des capteurs) à un pourcentage d'ouverture valvaire calculé d'après le minimum et le maximum enregistrés individuellement au cours de la période de mesure. Cette valeur relative permet de comparer le comportement des bivalves entre eux, en éliminant les paramètres taille et fixation initiale. Mais la moule peut, pendant la période d'évaluation, n'être que très faiblement ouverte par rapport à son maximum : le 100% est relatif à cette période. Dans ce cas, le passage en pourcentage devient un avantage car les valeurs absolues fournissent ce complément d'information.

De plus, le calcul des pourcentages basé sur les valeurs extrêmes de plusieurs périodes de mesures consécutives n'est possible que si le réglage du capteur n'a pas été modifié entre temps.

- *statistiques de base :*

Moyennes et écarts-types renseignent sur le comportement général de l'individu sur une période ou de plusieurs moules à un instant donné. Si ces statistiques de base sont utiles dans la comparaison de conditions d'élevage, de qualité d'un site ou d'espèces, elles sont insuffisantes pour la détection de pollution. D'où l'intérêt de définir des critères d'alarmes correspondant à une réponse valvaire exceptionnelle et simultanée pour la majorité des bivalves.

- *alarmes :*

La détection des séquences anormales, synonymes d'altération de la qualité de l'eau est l'essence même de tous les systèmes de surveillance. Leur fiabilité et leur rapidité sont essentielles, d'où le soin à apporter à la définition de ces épisodes extraordinaires.

Le logiciel de traitement de signal intégré au Mosselmonitor permet de déceler un événement inhabituel (appelé alarme) prédéfini qualitativement par le type de réaction valvaire recherché et quantitativement par le paramétrage des seuils dont le dépassement est assimilé à une alarme. Le programme conçu par Micrel, fonctionnera sur le même principe et pourra également dans l'avenir être intégré à la centrale d'acquisition de données.

Rappelons les principales alarmes et les paramètres à fixer dans le logiciel du valvomètre hollandais :

- ***FERMETURE VALVAIRE SIMULTANEE***

dépassement du seuil minimal d'ouverture
durée de la fermeture
nombre de moules fermées simultanément

- ***HYPERACTIVITE***

dépassement de l'écart seuil entre deux valeurs successives (= activité)
nombre d'activités par intervalle de mesure
nombre de moules réagissant simultanément

- ***DIMINUTION DE LA MOYENNE D'OUVERTURE***

diminution de la moyenne d'ouverture sur un intervalle de temps
nombre de moules montrant la même tendance

- ***BAILLEMENT***

dépassement individuel d'un seuil d'ouverture maximale (%).

Dans le logiciel du "Mosselmonitor", toutes ces alarmes sont calculées à partir des seuils préprogrammés, après une première période d'évaluation correspondant à la phase d'acclimatation (pendant laquelle minima et maxima sont déterminés). Celle-ci est suivie d'une seconde phase de 24 heures où les valeurs mesurées sont exprimées en pourcentage à partir des extrêmes calculés précédemment et automatiquement réajustés si ces premiers sont dépassés. Ensuite, les valeurs extrêmes sont remises à jour périodiquement selon un intervalle choisi par l'utilisateur.

Le problème qui se pose immédiatement est le choix des différents paramètres. Il conditionne la sensibilité de l'alarme. Un choix arbitraire conduit à un risque élevé d'erreurs qui peuvent être de deux types. Plus le seuil est "bas" ("laxiste"), plus le déclenchement

d'alarme est fréquent et le nombre d'**erreurs par excès** élevé (fausses alarmes - faux positif) : ceci correspond à l'émission d'une alarme en l'absence de stress. A l'inverse un programme où les seuils sont trop "hauts" (trop stricts) minimise le risque de fausses alarmes mais ne détecte pas toutes les alertes véritables (**erreurs par défaut** - faux négatifs).

Un équilibre doit être établi entre sensibilité et fiabilité de l'évaluation des alarmes. Il dépend de la définition et du paramétrage des alarmes. La bibliographie ne fournit aucune information suffisamment précise sur les différents seuils à fixer par espèce. D'où l'intérêt de développer un logiciel de traitement capable à la fois d'aider à la définition des seuils et au calcul des alarmes à partir de seuils choisis (objectif du programme développé par Micrel).

Voici les principales caractéristiques envisagées, notamment pour l'aide au choix des seuils d'alarmes.

Le logiciel de traitement d'alarme restera paramétrable pour les seuils des différentes alarmes.

Dans un premier temps, sa calibration à un signal de référence (obtenu dans un milieu non pollué) permettra de calculer la fréquence de pseudo-alarmes dues au hasard, fréquence qui définit le risque d'erreur par excès (fausse alarme) pour chaque seuil choisi ultérieurement dans l'application courante. On retiendra les seuils ne générant exceptionnellement de fausses alarmes, par exemple une fois par an.

Cette application courante servira à détecter, sur un site en cours de test, les différentes alarmes (date, heure, type, durée) avec un risque d'erreur connu (issu de la calibration précédente). Le programme sous cette forme, constitue une aide au choix de seuils d'alarmes fiables. Il permet ensuite le repérage de séquences "alarmantes" avec les seuils préalablement définis.

En l'absence de signaux disponibles déjà acquis dans un milieu non pollué, le programme pourrait utiliser le début de la période de mesure comme fichier de calibration et lui appliquer les procédures ci-dessus pour définir seuils et risques d'erreurs pour les différentes alarmes.

Le logiciel du "Mosselmonitor" ne permet qu'une seule combinaison de paramètres. La sensibilité serait améliorée si on pouvait en définir plusieurs, par exemple : alarme de fermeture si 6 moules sur huit sont fermées à plus de 10% pendant 5 minutes ou 7 moules sur 8 fermées à plus de 10% pendant 4 minutes...

Le bio-capteur ne peut fonctionner efficacement que si, tout d'abord, les sentinelles détectent la substance toxique et modifient leur comportement, puis si l'appareil et le traitement remarquent la réponse des organismes, la considèrent à juste titre comme une alarme et émettent un signal.

Lors de chaque utilisation, les caractéristiques des sentinelles utilisés seront à préciser (espèce, origine, âge, conditions de stockage) tout comme les critères d'alarmes retenus (nature et paramétrage). Ils définissent une réponse particulière à un cas précis plutôt que la sensibilité de l'espèce (c'est bien différent d'une réponse catégorique "tout ou rien" ouvert-fermé !). C'est notamment fondamental en écotoxicologie pour la définition des concentrations limites détectables par l'appareil.

TROISIEME PARTIE

LES APPLICATIONS DE CES BIO-CAPTEURS VALVAIRES

III. LES APPLICATIONS DE CES BIO-CAPTEURS VALVAIRES

III.1. IMPORTANCE D'UNE VALIDATION EN ECOTOXICOLOGIE

La principale application de ces capteurs est la détection rapide de pollutions aquatiques. Non spécifique, le système est basé sur le changement de comportement simultané des bivalves sentinelles synonyme d'alarme. Celle-ci peut entraîner l'émission d'un signal ou déclencher un prélèvement d'eau afin d'identifier l'agent en cause ou réaliser une action curative (fermeture de vanne) ou préventive (vis à vis des sites en aval non contaminés).

Mais ne peut être signalé que ce qui est détecté, par les organismes d'une part et par l'appareil d'autre part. Quelle est la sensibilité des bivalves utilisés aux différentes substances toxiques ? La réponse entraîne-t-elle un changement de mouvements valvaires détectable par le capteur ? Les concentrations minimales détectées sont-elles compatibles avec la réalité et la vocation de moniteur précoce des pollutions du milieu aquatique ?

De nombreuses études ont été menées sur la réponse valvaire des bivalves à diverses substances toxiques en eau douce (*Dreissena polymorpha*, *Unio pictorum*). Elles ont conduit à l'élaboration de grilles de sensibilité aux polluants courants, spécifiques des espèces étudiées, du dispositif de mesure et de la réponse recherchée. Nous les discuterons à partir de quelques exemples.

III.1.1. Réponses valvaires aux contaminants

La réponse aux toxiques est généralement biphasique. Dans un premier temps, l'activité augmente : le bivalve tente d'épurer l'eau de sa cavité palléale en accélérant le courant branchial. Les espèces fouisseuses, essaient de fuir : l'hyperactivité valvaire correspond aux mouvements de leur pied. Puis, le mollusque s'isole du milieu pollué par adduction complète des valves.

Voici les réponses de moules d'eau douce à trois substances toxiques à différentes concentrations. Ces études ont été réalisées par des chercheurs hollandais (Jenner *et al.*), avec un prototype du Mosselmonitor.

III.1.1.1. Réponses de moules dulçaquicoles à un apport d'hypochlorite

La réaction de la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* à un apport d'hypochlorite supérieur à 30 microgrammes/l est, dans un premier temps, une augmentation de l'activité et des périodes régulières de fermeture complète (figure 82 et tableau 14). Le ratio fermeture/ouverture croît avec les concentrations en hypochlorite (Jenner *et al.*, 1989).

tableau 14 : réponse de *D. polymorpha* à différentes concentrations en hypochlorite (Jenner *et al.*, 1989)

hypochlorite (microg/l)	0	37	55	180	550
activité/h période totale	8	62	40	32	6
t(fermé)/t(ouvert)	0,06	0,5	1,3	5	18

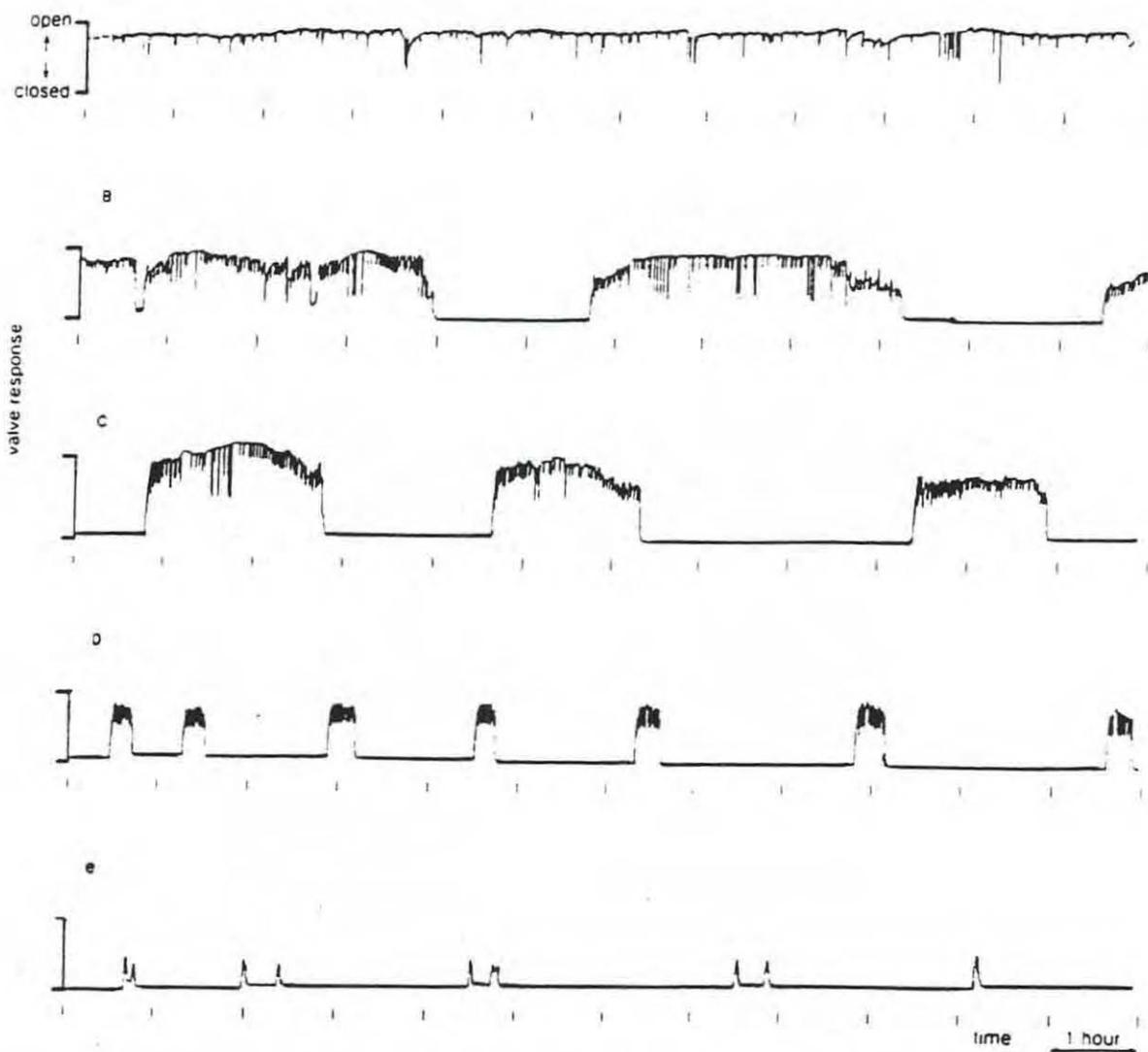


Figure 82 : mouvements valvaires de *Dreissena polymorpha* pendant une chloration
 A : témoin, B : 37 ppb TRO, C : 55 ppb TRO D : 180 ppb TRO, E : 550 ppb TRO (Jenner, 1990).

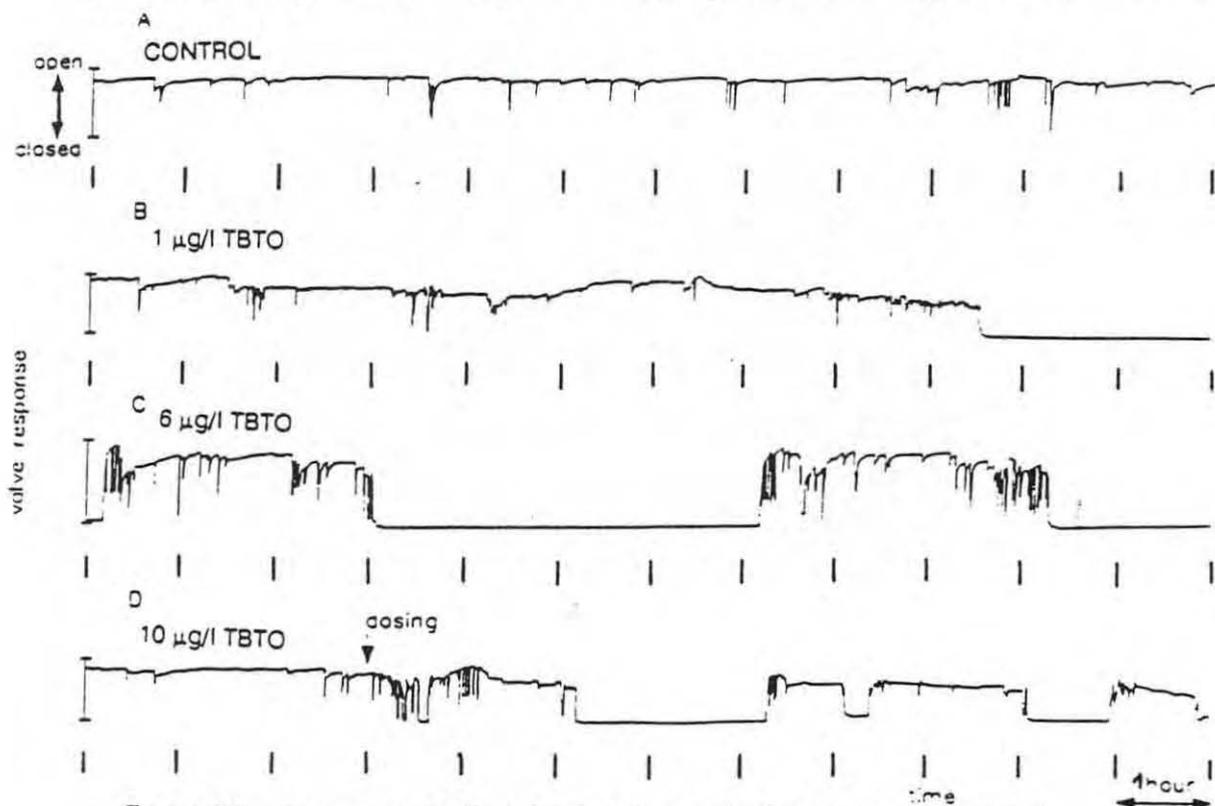


figure 83 : réponses valvaires de *D. polymorpha* à un apport de TBTO
 (A : témoin, B : 1 microg/l, C : 6 microg/l, D : 10 microg/l) (Jenner et al., 1989)

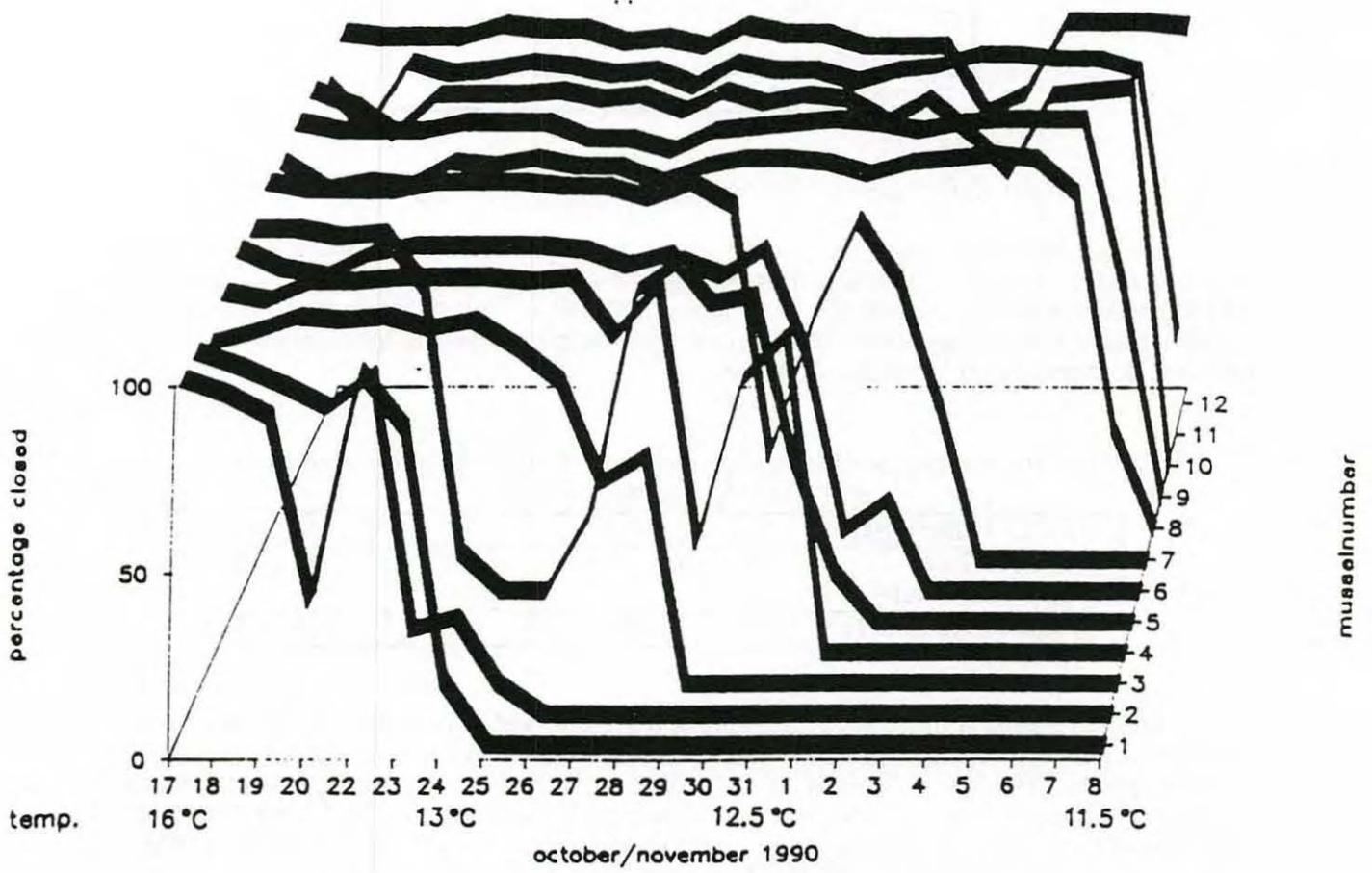


Figure 82 : mouvements valvaires de *Dreissena polymorpha* pendant une chloration (0.5 ppm de TRO) de 3 semaines (la température passe de 16 à 11.5°C) (Jenner, 1990).

La moule d'eau douce fousseuse *Unio pictorum*, répond à une concentration de 30 microgrammes/l d'hypochlorite par une fermeture immédiate d'une à deux heures, suivie d'alternances de phase d'activité importante et de quiescence (tableau 15). La différence de sensibilité entre les deux espèces peut être expliquée en partie par des modes de vie distincts (moule épifaunaux vivant dans l'eau et moule vivant dans le sédiment).

tableau 15 : réponse de *Unio pictorum* à différentes concentrations en hypochlorite (Jenner *et al.*, 1989)

hypochlorite (microg/l)	0	30
activité/h	35	20
période totale		
t(fermé)/t(ouvert)	0	1,7

III.1.1.2. Réponse de *Dreissena polymorpha* à un apport de TBTO

La sensibilité de *Dreissena polymorpha* à l'oxyde de tributylétain (TBTO) est importante (fig. 83). A 1 microg/l, la moule réagit au bout de 6 heures par la fermeture prolongée de ses valves (tableau 16). A 6 microg/l, la réponse intervient en quelques minutes : après plusieurs mouvements d'hyperactivité, elle alterne phases de quiescence (plusieurs heures) et hyperactivité (Jenner *et al.*, 1989).

tableau 16 : réponse de *Dreissena polymorpha* à différentes concentrations en TBTO (Jenner *et al.*, 1989)

TBTO (microg/l)	0	1	6	10
activité/h	8	15	25	30
période totale				
t(fermé)/t(ouvert)	0,06	0,16	0,3	0,4

Mytilus edulis montre un changement d'activité valvaire à une concentration de TBTO de 10 microg/l (données Delta-consult établies avec le Mosselmonitor). La dose létale CL50 à 48h du TBTO pour *Mytilus edulis* adulte est de 300 microg/l et pour les larves de 2,3 microg/l (Thain, 1983) (à 96h, elle est 38 microg/l pour l'adulte). la CL50 à 48 h du TBTO pour *Crassostrea gigas* adulte est de 1800 microg/l et de 1,6 chez les larves (Thain, 1983). La détection d'un apport de TBTO par les mouvements valvaires de la moule est plus précoce.

Toutefois, le seuil sans effet sur la calcification de *C. gigas* est de 0,002 microg/l (le TBT entraîne le chambrage des coquilles d'huîtres creuses). L'absence de mécanisme de détoxification chez les huîtres (*C. gigas*) pourrait expliquer leur faible capacité d'élimination et leur moindre résistance (Alzieu, 1989). Le valvomètre ne permet pas de détecter ces concentrations.

III.1.1.3. Réponse de *Dreissena polymorpha* à l'hexachlorobutadiène

Lors d'apport progressif d'hexachlorobutadiène, les huit moules *Dreissena polymorpha* montrent, à partir de 0,5 mg/l, une hyperactivité avec des pics d'adduction très resserrés (fig. 84). D'après de Zwart *et al.* (1992), la première alarme de fermeture est émise à la concentration de 1,6 mg/l (6 moules sur 8 fermées simultanément pendant plus de 5 minutes). La marge entre le changement visible de comportement et l'émission de l'alarme de fermeture est considérable. Dans ce cas l'alarme d'hyperactivité aurait été plus appropriée.

III.1.2. Grille de sensibilité aux polluants

Les publications traitant des réponses valvaires aux polluants sont nombreuses. Chaque essai est réalisé avec un matériel particulier et une espèce de bivalves. Bien souvent, les réponses utilisées (fermeture, hyperactivité) et le paramétrage des alarmes (pourcentage de fermeture, nombre de moules, durée) diffèrent et ne sont pas précisés. Dans ces conditions, les concentrations limites obtenues varient énormément. Le tableau 17 est une compilation des différents seuils de détection mesurés.

Les critères de détection précisés par certains auteurs sont les suivants :

- Slooff *et al.* (1983) : "si au moins 4 moules sur 6 sont fermées pendant 5 minutes minimum",
- Kramer *et al.* (1989) : "si au moins 7 moules sur dix réagissent" (fermeture ou activité validées par analyse de variance),
- Jenner *et al.* (1992) : mouvements valvaires (activité ou fermeture),
- de Zwart *et al.* (1992) : concentration déclenchant la première alarme.

Pour apprécier la sensibilité des mouvements valvaires comme indicateur de pollution, les seuils de détection doivent être comparés aux concentrations courantes dans l'eau et aux concentrations plausibles en cas de pollutions aiguës ou chroniques.

Cet appareil est destiné à une utilisation sur le terrain plutôt qu'en milieu contrôlé. Les conditions réelles de mesures sont souvent différentes de celles utilisées au cours des protocoles expérimentaux. L'interaction des variations de paramètres physico-chimiques du milieu (température, pH, salinité) avec les polluants peut modifier directement les réponses valvaires et indirectement, altérer la composition des substances toxiques déversées et donc leur effet sur les organismes sentinelles.

Par ailleurs, une accoutumance se produit après une exposition durable. De même, une pré-exposition à de plus faibles concentrations de contaminants augmente les seuils de détection. Ainsi, une pré-exposition de *D. polymorpha* au cadmium (0,033 mg/l) pendant 16 jours diminue sa sensibilité à la même substance d'un facteur 4 (Slooff, 1983).

tableau 17: seuils de détection de différents contaminants par les mouvements valvaires

SEUILS DE DETECTION (mg/l)					
composés toxiques	D. polym.	Unio p.	M. edulis	références bibliographiques	concentrations eau mer mg/l
Cadmium	0,37		0,1	Slooff, 1983	<3.10 ⁻⁵
"	0,15			Kramer, 1989	
Cuivre (CuSO ₄)	0,01	0,01	0,005	Slooff, 1983 ; Kramer, 1989	10 ⁻³ à 0,03
"			0,01-0,02	Widdows et Donkin, 1992	
Cyanide (KCN)	0,53			Slooff, 1983	
"	0,4			Delta-Consult	
Plomb (PbCl ₂)	0,25		0,25	Slooff, 1983 ; Kramer, 1989	
"	0,5			Jenner, 1992	
Zinc (Zncl ₂)	0,5		0,5	Slooff, 1983 ; Kramer, 1989	
Sélénium	0,1			de Zwart, 1992	
Hydrocarbures (dispersés)			6	Kramer, 1989	10 ⁻³ à 10 ⁻² pollution 0,5
Tributylétain (TBT)	0,005		0,01	Kramer, 1989	5.10 ⁻⁶ -à 5.10 ⁻⁴
TBTO	0,006		0,01	Jenner, 1992 ; Kramer, 1989	
NH ₃			0,6	Johnson, 1991	0,1 (N-NH ₄)
Atrazine	0,5	0,5		Jenner, 1992	
Bentazone	0,75	0,75		Jenner, 1992	
Chloroforme	106			Slooff, 1983	
"	50			de Zwart, 1992	
Chloropyrifos	0,05	0,05		Jenner, 1992	
1,3 dichlorobenzène	2,4			Slooff, 1983	
Dichloromethane			150	Kramer et Foekoma, 1992	
Formaldéhyde	150		10	Kramer et Foekoma, 1992	
Hexachlorobutadiène	0,26			Slooff, 1983	
"	1,6			de Zwart, 1992	
Y-hexachloro cyclohexane	0,11			Slooff, 1983	
"	0,06			de Zwart, 1992	
Hypochlorite	0,04		0,005	Jenner, 1992 ; Kramer, 1990	
Pentachlorophénol	0,4	0,01		de Zwart, 1992 ; Jenner, 1992	
"	0,01			Delta-Consult	
"	0,34			Slooff, 1983	
Phénol	14-15			de Zwart, 1992	
"	26,4			Slooff, 1983	
Tétrachlorométhane			2,5	Kramer et Foekoma, 1992	
Toluène	15			de Zwart, 1992	
"	9,4			Slooff, 1983	
Trichloroéthylène	8			Delta-Consult	
"	9,7			Slooff, 1983	
"	50			de Zwart, 1992	
Xylène	1			de Zwart, 1992	
"	16			Delta-Consult ; Slooff, 1983	

III.1.3. Sensibilité d'un bio-capteur valvaire par rapport à d'autres dispositifs biologiques d'alarmes précoces en milieu aquatique :

III.1.3.1. systèmes utilisant les bivalves :

Le tableau 18 récapitule les seuils limites de détection des différentes réponses des bivalves à certains contaminants (adultes, juvéniles ou larves).

tableau 18 : effets de différents toxiques sur les réponses létales et sublétales de stades larvaires, juvéniles et adultes de *Mytilus edulis* (d'après Widdows et Donkin, 1992)

toxique	réponse biologique (50% du témoin)	concentration dans l'eau (microg/l)	concentration tissulaire (microg/l)	stade
Cu	mort (15j)	400	59	Larve
	mort (15j)	50		Adulte
	mort (39j)	20		adulte
	croissance valvaire	150		Larve
	croissance valvaire	5		Adulte
	mvts valvaires	10-20		Adulte
	filtration/ bilan énergétique	12		Adulte
TBT	mort et croissance valvaire (15j)	0,4	20	Larve
	mort (5j)	10		Adulte
	mvts valvaires			Adulte
	croissance valvaire			6
	bilan énergétique	0,1		4
Hydro-carbures	brut	>10 ⁴	150	Larve
	"	1-10 ⁴		Adulte
	diesel	125		Adulte
	brut	6.10³		Adulte
	"	1,5.10 ³		Adulte
	"	30		Adulte
	bilan énergétique			150
aliphatique	filtration		95	
aromatique				

Les réponses valvaires de *M. edulis* (adulte) sont plus sensibles au cuivre que la létalité à 15 jours ou la croissance valvaire des larves. A l'inverse, la CL50 (15 jours) du Tributylétain pour les larves est plus faible que la concentration limite détectée par les mouvements valvaires.

III.1.2.3. Systèmes utilisant d'autres organismes aquatiques

La détection du cadmium, cuivre et cyanure par différents systèmes de surveillance utilisant poissons, crustacés, algues et bactéries (Van Hoof, 1980) est en faveur du valvomètre. La sensibilité du valvomètre au cuivre est optimale.

Voici, d'après Alzieu (1989) les concentrations en TBT (dans l'eau) pouvant induire des perturbations chez les organismes aquatiques (fig. 85).

<1 ng/l	seuil sans effet sur l'imposex (gastéropodes)
1 ng/l	seuil sans effet sur le phyto et le zooplancton
<2 ng/l	seuil sans effet sur la calcification des huîtres <i>C. gigas</i>
20 ng/l	seuil sans effet sur la reproduction de <i>C. gigas</i>
5-10 microg/l	réponse valvaire des moules
1-10 microg/l	effet sur la reproduction des poissons
1-100 microg/l	modification du comportement des poissons (évitement, rhéotaxie)
<500 microg/l	seuil sans effet sur la mue des crustacés

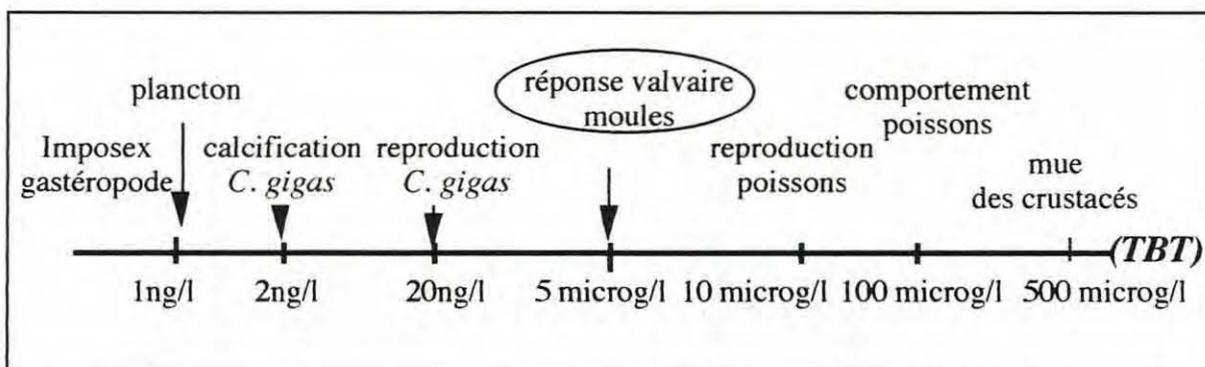


figure 85 : seuils et effets du Tributylétain sur différents organismes marins

Les effets sur la calcification des coquilles d'huîtres creuses du TBT se ressentent à des doses inférieures à celles modifiant l'activité valvaire des moules. Le comportement du poisson est affecté à des concentrations nettement supérieures.

En revanche, le comportement valvaire de *D. polymorpha* s'avère, dans l'ensemble, moins sensible qu'un moniteur biologique d'alarme précoce particulièrement performant mesurant la respiration de *Oncorhynchus mykiss* (Slooff, 1983).

Kramer *et al.* (1991) ont réalisé une étude comparative sur la sensibilité de 14 capteurs biologiques d'alarme précoce (tableau 19). Le système utilisant le taux de ventilation des poissons (Spor, 1971) est le plus performant en milieu contrôlé, mais il émet de nombreuses fausses alarmes lorsqu'il est testé au bord d'une rivière.

Pour les herbicides (atrazine, bentazone), le bio-capteur algal semble le plus approprié (Jenner *et al.*, 1992).

L'utilisation de bio-capteurs valvaires présente néanmoins de nombreux avantages. La mesure est directe, le système est moins sujet aux bruits de fond. A l'inverse des poissons, les bivalves sont faciles à manipuler, leur comportement n'est pas influencé par les faibles variations des paramètres physico-chimiques de l'eau (température, oxygène, pH). De maintenance simple, ils ne nécessitent pas d'apport alimentaire complémentaire si la composition en phytoplancton est suffisante. Ils sont faciles à changer sur l'appareil.

System	A	B	C	D	E	F	G	System	H	I	J	K	L	M	N
effect parameter:	WRC breathing rate	Arena rheotaxis	Poels rheotaxis	Spoor ventil. pattern	Petry activity	Daphnia activity	bivalves valve move.	effect parameter	insect activity	bact. nitrific.	bact. O ₂ -cons	Photo-trophic	bact. CO ₂ elect.	bact. light emiss.	bivalve filtration rate
compound								compound							
ammonia	0.11	1.2	-	5	0.021	-	-	ammonia	-	-	-	-	-	-	-
cadmium	-	0.3	-	-	0.025	0.2	0.37	cadmium	10.0	2.0	-	0.007	0.3	20-50	-
chlorine	-	-	-	-	-	-	0.005	chlorine	-	-	-	-	-	-	-
chloroform	-	-	-	20	-	-	106.0	chloroform	-	-	-	-	-	-	-
chromium	-	-	-	5	-	-	-	chromium	0.1	5.0	25.0	-	-	-	-
copper	-	-	0.5	0.06-0.5	-	-	0.005	copper	-	4.0	-	0.003	1.1	0.8	0.15
cyanide	-	-	0.5	0.01-0.13	-	-	0.53	cyanide	-	0.04	5.0	0.007	3.5	4.0	0.3
endosulphan (thiodan)	-	0.1	-	-	-	-	-	endosulphan (thiodan)	-	0.1	-	-	-	-	-
hexachlorobutadiene	-	-	-	0.05	5.1	-	0.26	hexachlorobutadiene	-	-	-	-	-	-	-
lead	-	-	-	1.0	-	-	0.25	lead	-	-	50.0	-	0.13	0.6	-
lindane	0.003	-	0.06	0.04	-	-	0.11	lindane	-	sat.	-	-	-	-	-
malathion	-	-	2.0	-	-	-	-	malathion	-	50	-	-	-	-	-
mercury	-	-	1.0	0.01	-	-	-	mercury	-	-	0.5	0.037	-	0.02	0.04
paraquat	0.8	-	-	-	-	-	-	paraquat	-	4	-	-	-	-	-
pentachlorophenol	0.14	-	-	0.06	-	-	0.34	pentachlorophenol	-	-	-	-	-	-	-
phenol	2.0	-	-	1-4.0	-	1.0	26.4	phenol	-	1.5	-	7.8	1209	28.0	-
tetrachloroethylene (µl l ⁻¹)	-	-	4.0	-	-	-	-	tetrachloroethylene (µl l ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-
TBT	-	-	-	-	-	-	0.005	TBT	-	-	-	-	-	-	-
xylene	-	-	-	2.0	-	-	16.2	xylene	-	-	-	-	-	-	-
isophorone	-	0.95	-	-	-	-	-	isophorone	-	-	-	-	-	-	-
diesel oil	-	>50µgl ⁻¹	-	-	-	-	-	diesel oil	-	-	-	-	-	-	-
3,4 DCA	-	0.5	-	-	-	-	-	3,4 DCA	-	-	-	-	-	-	-
disulfotone	-	7.0	-	-	-	-	-	disulfotone	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 19 : comparaison de la sensibilité de différents biocapteurs.
La concentration est en mg/l (Kramer et Botterweg, 1991)

A: WRC Mk(III) Fish Monitor (Evans *et al.* 1986b; Evans & Walwork 1988)

B: Arena Basin (Besch *et al.* 1977)

C: KIWA System (Poels 1975; 1977; Van Hoof 1980)

D: Electrode Chamber (Spoor *et al.* 1971; Morgan 1977; Slooff 1979)

E: Motility test (Petry 1982)

F: Dynamic Daphnia Test (Knie *et al.* 1983; Smith & Bailey 1988)

G: Mussel Monitor (Slooff *et al.* 1983; Slooff & De Zwart 1986; Doherty *et al.* 1987;

Kramer *et al.* (1989)

H: Aquasensor (Batac-Catalan & White 1983; Leuchs 1986; Heinis *et al.* 1990)

I: Bacteria nitrification (Holland & Green 1975)

J: Bacteria O₂ consumption (Clarke *et al.* 1977; Solyom 1977; Shieh & Yee 1985)

K: Bacteria *E. coli* electrode, CO₂ production (Dorward & Barisas 1984)

L: Phototrophic organisms (Schmidt 1987; Rawson *et al.* 1987)

M: Microtox (Beckman 1981; De Zwart & Slooff 1983)

N: Bivalves filtration rate (Abel 1976)

En outre, les valvomètres sont plus compacts que la plupart des autres dispositifs, en particulier ceux utilisant les poissons. Ils possèdent une large autonomie, sont mobiles et adaptés à une utilisation directe sur site. A l'inverse, le "Truitosem" basé sur le comportement locomoteur des poissons est un appareil de laboratoire volumineux et fixe, alimenté par pompage en eau à tester.

Il apparaît évident, à l'examen de ces données que la sensibilité des différentes espèces et des systèmes de surveillance est spécifique de chaque substance toxique testée. Le système idéal, très sensible à tous les polluants n'existe pas. Afin de détecter une très large gamme de polluants, le recours à plusieurs capteurs biologiques basés sur des réponses biologiques et des espèces différentes serait plus fiable mais aussi plus lourd.

III.2. LES APPLICATIONS ENVISAGEABLES

III.2.1. En surveillance de l'environnement

La principale application des bio-capteurs est la surveillance de la qualité de l'eau et la détection précoce de ses altérations.

L'ubiquité des bivalves permet d'envisager une large implantation de ces dispositifs, en milieu marin comme en eau douce. Notre étude expérimentale a porté essentiellement sur les moules de mer, mais la majorité des applications de ce type de capteur se trouve en milieu dulcaquicole et estuarien. En effet, l'origine principale des pollutions en mer est terrestre et surtout anthropique. La pollution des eaux marines est due à l'apport des substances toxiques à 77% d'origine terrestre (33% par pollution atmosphérique et 44% par pollution aquatique), pour le reste 12% dû au transport maritime 10% provenant des rejets en mer à partir de navires et 1% à cause de l'activité offshore (Durand, 1993). Les fleuves et les rejets d'égout apportent à la mer l'ensemble des contaminants inertes (métaux lourds, polluants organiques, minéraux) et vivants.

Le positionnement *in situ* des appareils est fixé par l'objectif de la détection (fig. 86).

* *En amont des installations :*

- surveillance de l'eau en amont des stations de pompage d'eau potable
- qualité de l'eau alimentant les activités aquacoles (piscicultures)
- qualité de l'eau des aquariums publics
- stations d'épuration

Une alarme émise entraîne l'arrêt du pompage d'eau ou un traitement supplémentaire

* *En aval :*

- surveillance des rejets industriels, agricoles, piscicoles et maritimes
- rejets domestiques
- station de traitement des rejets et de l'eau (stations d'épuration)
- surveillance des traitements de chloration contre le fouling animal et végétal dans les canalisations des usines et dans les circuits de refroidissement.

A des doses relativement basses de chlore, les larves phytoplanctoniques ne peuvent se fixer sur les parois des canalisations, ces concentrations correspondent au seuil produisant une alarme de fermeture avec les bio-capteurs valvaires (10 microgrammes/l). L'appareil permet d'optimiser les traitements, en diminuant les doses apportées et donc en limitant les conséquences pour l'environnement.

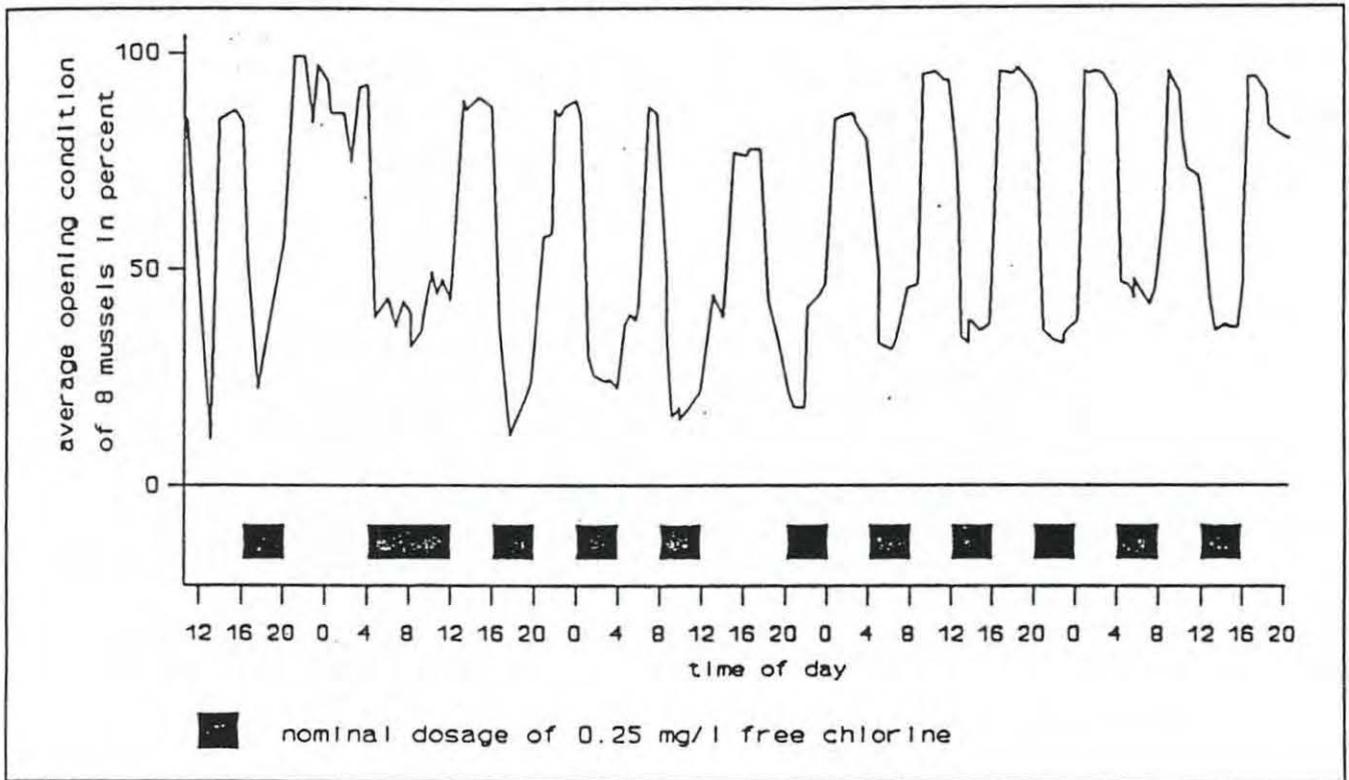


Figure 87 : réponse valvaire de moule à une chloration (de Zwart *et al.*, 1992 - données Delta-Consult)

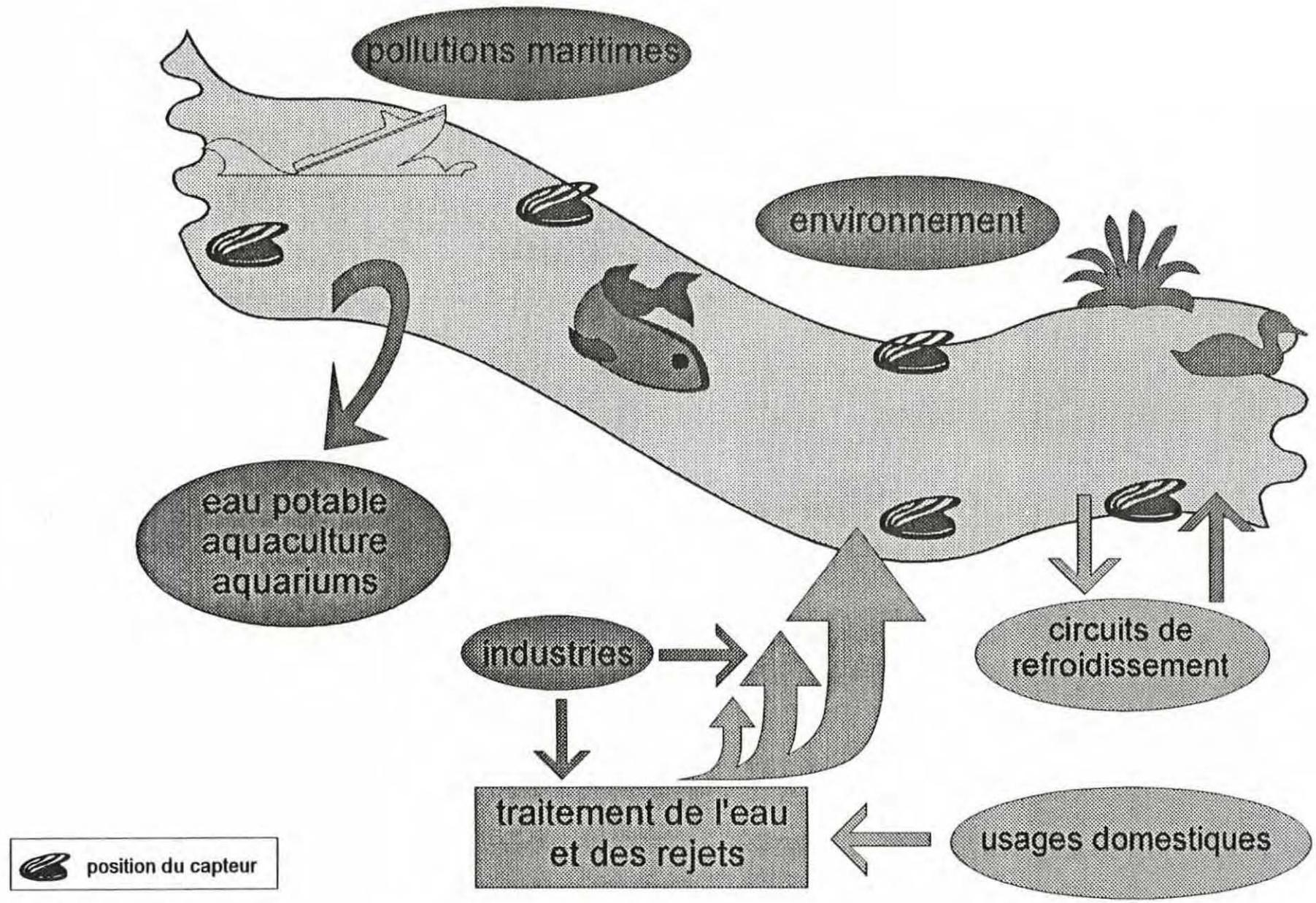


figure 86 : les applications du capteur valvaire en surveillance de l'environnement (d'après Kramer & Botterweg, 1991)

Cette application, testée avec l'appareil hollandais sur le circuit de refroidissement d'une usine, a entraîné une réduction de 30 % de chlore, tout en maintenant l'efficacité du traitement anti-fouling (figure 87).

Dans toutes ces utilisations, l'émission d'alarme signe un dépassement des doses de produits rejetées par surcharge ou un dysfonctionnement des installations (traitement défaillant, insuffisant ou rejets anormaux par fuite). Une action curative peut être initiée rapidement par fermeture des vannes ou mise en oeuvre d'une réparation des équipements défaillants. Si l'alerte est suffisamment rapide, des dispositions préventives peuvent être prises en aval du point de rejet toxique pour éviter les conséquences des pollutions.

L'emploi du bio-capteur pour la surveillance des effluents peut poser quelques problèmes. Les rejets industriels ne présentent bien souvent pas toutes les qualités compatibles à une vie normale, même si aucun contaminant n'est déversé. La température, le pH, la salinité, l'oxygène peuvent être différentes des valeurs naturelles. Dans ce cas, un prétraitement est nécessaire (refroidissement, ajustement du pH, oxygénation) ou une dilution des effluents.

*** *En surveillance de l'environnement : suivi de la qualité du milieu***

- des rivières
- du littoral
- des bassins conchylicoles.

L'alarme traduit une détérioration (passagère ou durable) de la qualité de l'eau. Pour toutes ces applications, le couplage à des mesures en continu des paramètres physico-chimiques est utile puisque certaines variations "naturelles" ne seront pas détectées précocement par les bivalves, relativement tolérants aux fluctuations modérées de pH, oxygène et température. Par ailleurs, l'alarme émise par l'enregistreur valvaire est non spécifique du polluant en cause. Pour l'identifier, le suivi des paramètres physico-chimiques et/ou l'analyse différée de l'eau sont indispensables. Si le paramétrage du logiciel de traitement d'alarme est bien configuré, le recours aux analyses en cas de détection d'alarme sera alors justifié et non plus aléatoire comme c'est le cas dans les suivis discrets réalisés en routine.

Outre la recherche de polluants, ce système peut fournir d'autres renseignements sur la qualité d'un site (charge nutritive, dessalures etc.). C'est un outil complémentaire séduisant en expertise aquacole, notamment conchylicole. Il pourra, à court terme être mis au service des professions aquacoles.

La réalisation de stations de surveillance enregistrant parallèlement les principaux paramètres physico-chimiques de l'eau (oxygène, salinité, pH, température) et certaines réponses biologiques de bivalves (mouvements valvaires et respiration) est envisagée par l'Ifremer (Le Bec *et al.*, 1993). Elle permettrait de caractériser, sur plusieurs mois, la qualité de sites "à problème" (enclavés, avec risques d'eutrophisation ou de pollution comme dans les milieux estuariens). Une première application devrait voir le jour prochainement, sur l'Elorn, où la production d'huîtres est particulièrement délicate. Ce suivi pourrait compléter les informations fournies par d'autres réseaux de l'Ifremer, à la fois dans la recherche de pollutions (RNO, REPHY) mais aussi dans l'évaluation des performances conchylicoles de différents sites du littoral (réseau REMORA qui effectue un suivi de la croissance de l'huître creuse sur le littoral français) (Le Bec, 1989, 1990 ; Le Bec et Mazurié, 1992 a et b). L'autonomie tant énergétique qu'informatique du valvomètre et de certaines sondes de mesure des paramètres physico-chimiques, offre la possibilité d'une immersion directe sur site (casier immergé par bateau en zone non exondante ou fixé en zone découvrante accessible par la terre) avec les contraintes d'usage qu'elle comporte (accès, risque de détérioration ou de perte) (fig. 88). Une autre solution est la réalisation d'une station à terre : l'eau alimenterait les bacs de mesures par pompage. L'accès est indépendant de l'état de la mer, les risques de perte diminuent et la maintenance est facilitée (fig. 89).

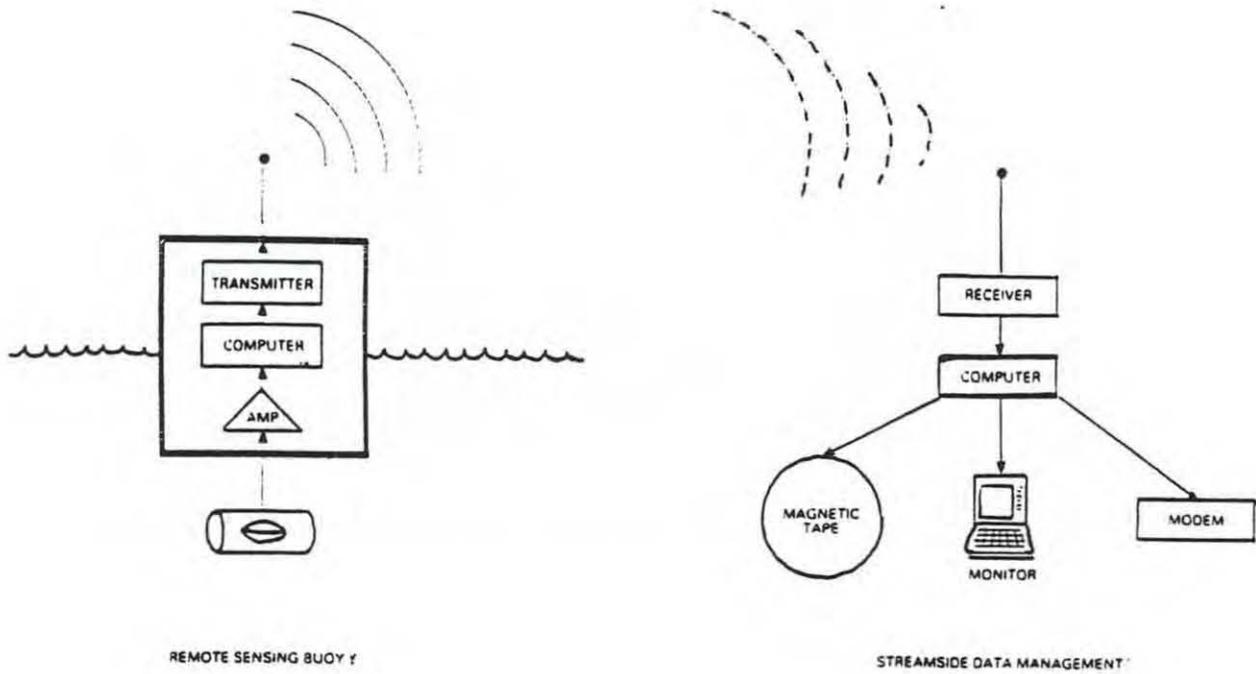


figure 88: station de mesure autonome immergée (Morgan et al., 1988)

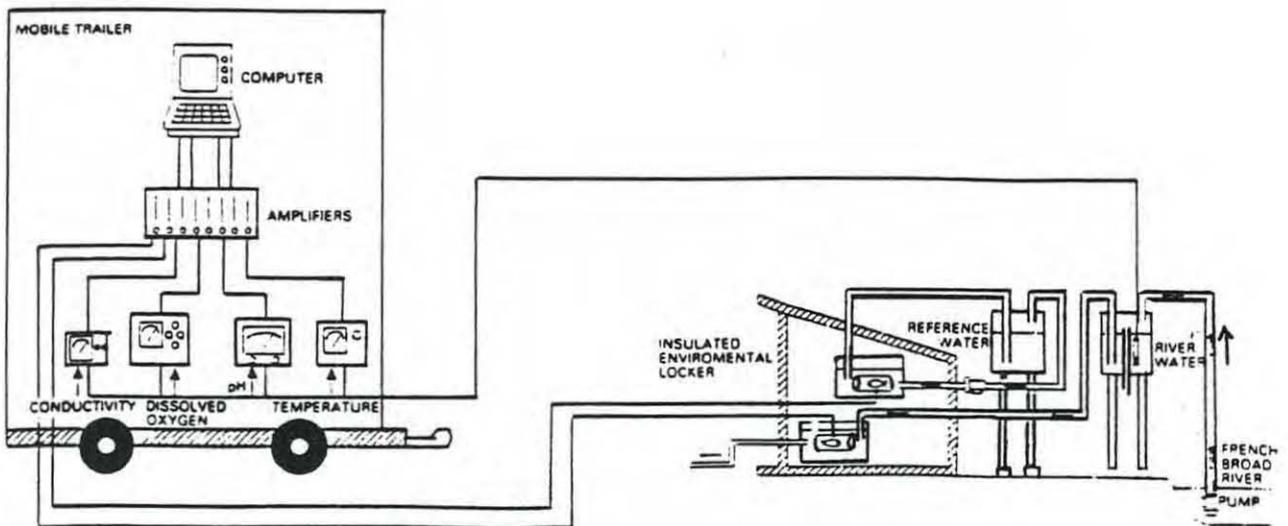


figure 89: station de mesure des paramètres biologiques et physico-chimiques à terre (Morgan et al., 1988)

III.2.2. Un instrument au service des chercheurs

La précision des mesures offre aux biologistes un outil performant d'exploration de la biologie des nombreux mollusques bivalves.

Il permet d'étudier la physiologie des coquillages, notamment la corrélation entre filtration, respiration et mouvements valvaires. C'est un outil complémentaire pour la comparaison des croissances des huîtres et moules sur les différents sites d'élevage (suivi REMORA).

Dès 1969, His imaginait un "ostréographe" permettant la détection des pontes. Le valvomètre d'aujourd'hui peut préciser les mécanismes de la reproduction. Des applications sont alors envisageables en éclosérie.

Il pourrait également être employé à l'étude des mécanismes de contamination par le phytoplancton toxique puis de purification des coquillages comestibles (celle-ci dépend de l'activité de filtration du mollusque). Des études récentes portent à croire que la décontamination des coquillages serait plus ou moins longue selon les espèces, le valvomètre pourrait contribuer à le vérifier.

Il pourrait également participer à l'élaboration d'indices de stress et la définition de "critère de qualité" des mollusques vivants.

Il pourrait enfin aider à la comparaison de la physiologie d'espèces génétiquement différentes (comparaison des performances d'espèces hybrides).

Bref, les orientations sont nombreuses et variées ...

CONCLUSION

Les mouvements valvaires des bivalves sont un reflet de leur activité physiologique "normale" (filtration, excrétion, ponte...) ou en situation de stress. Leur utilisation au sein de dispositifs biologiques de surveillance est intéressante car elle permet une détection précoce des changements intervenant dans le milieu aquatique, en eau douce comme en eau de mer.

Les deux bio-capteurs valvaires récemment conçus en France et en Hollande, enregistrent automatiquement et continuellement les écartements intervalvaires des lamellibranches, grâce à des systèmes de mesures performants. Si leur structure est très différente (le valvomètre Ifremer-Micrel est séduisant par sa compacité et son autonomie), ils sont tous les deux mobiles et peuvent être installés directement sur le terrain. C'est un atout par rapport à d'autres dispositifs de surveillance biologiques beaucoup plus volumineux comme le "truitomètre" basé sur l'activité nataoire des poissons, que l'on doit maintenir à terre, avec apport de l'eau à tester.

Les signaux valvaires enregistrés sont, dans les deux cas, de bonne qualité. Grâce au traitement statistique, les situations "anormales" seront détectées. En cas de franchissement de seuils, des alarmes pourront être émises en direct. Un nouveau type de détecteur de pollution est né : "le moulomètre qui va révolutionner la moulométrie" (Baruch, 1994) !

Mais, avant une utilisation en routine, le système doit être parfaitement éprouvé, tant sur le plan biologique que technologique. Une des prochaines étapes à envisager, après cette validation initiale qui était indispensable, sera l'élaboration d'une grille de sensibilité des principaux bivalves dulçaquicoles et marins aux contaminants courants. Enfin, une application de plusieurs mois sur site, renseignera sur l'évolution à long terme des réponses des sentinelles et de l'appareil lui même. Elle achèvera l'étude expérimentale de ce bio-capteur original. Alors, son intégration aux systèmes de surveillance en eau douce et marine pourra être réalisée. Les idées germent, les applications imaginées sont nombreuses, variées et parfois très originales...

Traditionnellement la présence, le maintien et la prolifération d'huîtres et de moules étaient un témoin passif de la santé d'un site conchylicole. Au siècle du "stress de l'Homme moderne" et de la technologie à outrance, la réponse valvaire de ces bivalves plus fréquemment connus pour leur qualité gustative, judicieusement exploitée, pourrait à l'avenir devenir un allié "actif" et "avant-gardiste" pour la surveillance de notre environnement menacé...

ANNEXES

ANNEXE 1

**TABLEAUX COMPARATIFS
DES PRINCIPAUX CAPTEURS BIOLOGIQUES
DISPONIBLES EN MILIEU AQUATIQUE**

Différents biocapteurs imaginés.

Inventor	Organism	Effect	System
Nicolas 1967	fish	death	blocking water effluent line
Kerren 1971	fish	rheotaxis	pressure sensor
Pauls 1974	fish	activity	reflection light on scales
Besch & Loseries 1975	fish	rheotaxis	electronic sensors
Ermisch & Juhnke 1975	fish	rheotaxis	nylon sensors
Merk 1976	fish	rheotaxis	microphone sensor
Suber 1976	fish	death	blocking rotor
Lesel & Saboureau 1977	fish	death	blocking water effluent line
Petry 1977	fish	activity	implanted magnet, inductive current measurement
Landragin 1978	fish	death	blocking water effluent line
Miller & Sandwell 1979	fish	activity	electrode chamber
Voith 1979	shellfish crustacea	activity	oxygen consumption
Anon. 1980	fish	activity	light beam detector
Rausch 1980	electric fish	activity	electric current & frequency detection, electrode
Harushige 1981	fish	death	floating fish block light beam
Tetsurou 1982	fish	activity	collision with sensor electrode
Huvé 1983	fish	activity	implanted transmitter, 2 receivers, E vs Hz correlation
Evans & Solman 1985	fish	ventilatory pattern	electrode chamber
Greaves <i>et al.</i> 1985	fish	activity	video registration, image processing
Schmidt 1985	crustacea	activity	blocking light beam
Takase <i>et al.</i> 1986	fish	activity	video camera, image processing
Onatzky & Ferrier 1986	fish	activity/ death	ultrasonic emitter, 2 receivers
Sanemitsu 1986	fish	activity/ death	TV camera, image processing, floating fish
Baba <i>et al.</i> 1987	fish	activity	video imaging
Evans & Solman 1988	fish	ventilatory pattern, heart beat	electrode design, electrical potential detection
Kostelecky 1988	flatworms	activity	change in electrical field, capacity measurement

Dispositifs commercialisés de détection précoce des pollutions aquatiques.

Monitor name	Supplier	Organism	Response
WRc MkIII Monitor	pHOX	fish	ventilation
BMI series 6000	BMI	fish	ventilation
Aqua-Tox Control	Kerren	fish	rheotaxis
Aquatest	Quantum Science Ltd	fish	rheotaxis
Züge Biotest 3	Züge	fish	rheotaxis
Toxalert	Mar.Electric	fish	avoidance
Aztec FM1000	Aztec	fish	electric pulses
Truito Sem	?	fish	activity
Unirelief	Unitika	fish	activity
Mussel Monitor	Delta Consult	mussels	valve movement
Dynamische Daphnia test	Elektron	<i>Daphnia</i>	activity
Microtox	Microbics Corps.	bacteria	light emission
Lumistox	Lange	bacteria	light emission
Stiptox	Stip	bacteria	respiration
Respiration Analyser RA-1000	Manotherm	bacteria	respiration
Toxiguard	EurControl	bacteria	respiration

Addresses:

Aztec Environmental Control Ltd, UK
 Biological Monitoring Inc., P.O. Box 184, Blacksburg, Virginia 24063, USA
 Delta Consult, P.O. Box 71, 4420 AC Kapelle, Netherlands
 Elektron GmbH, Magdeburgerstrasse 19, 4150 Krefelt, Germany
 Eur-Control GmbH, P.O. Box 2068, 4630 Bochum-Riemke, Germany
 Kurt Kerren Umwelt Technik GmbH, P.O. Box 100575, 4060 Viersen, Germany
 Dr Bruno Lange GmbH, Willstätterstrasse 11, 4000 Düsseldorf, Germany
 Manotherm BV, P.O. Box 7050, 3000 HB Rotterdam, Netherlands
 Marine Electronics Ltd, Ireland
 Microbics Corp., 2232 Rutherford Road, Carlsbad, CA 92008, USA
 pHOX Systems Ltd, Ivel Road, Shefford, Beds. SG17 5JU, UK
 Quantum Science Ltd, UK
 Stip Siepmann & Teutscher GmbH, Siemensstrasse 2, D - 6114 Gross-Umstadt
 Truito Sem, Japan
 Unitika, Japan
 Züge, Switzerland

Kramer & Botterweg, 1991.

Caractéristique	Bio-essai effluent	Bio-essai ambiant	Bio-essai sédiment	Bio-essai substance	Bio-capteur	Indicateur écologique	Indicateur biochimique	PICT	T.I.E.	Analyses chimiques
Codage utilisé	EFFL	AMBI	SEDI	SUBS	CAPT	INDI	BIOC	PICT	TIE	CHIM
Signification écologique	2	2	3	1	3	5	3	4	2	0
Effets différés	2	0	3	1	0	5	4	4	0	0
Bioaccumulation	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
Biomagnification	0	0	0	0	0	4	3	0	0	2
Mécanisme d'action	1	0	0	2	0	0	5	0	2	2
Relation cause à effet	3	2	2	3	2	1	3	4	5	2
Alarme précoce	2	1	2	1	4	0	5	0	0	1
Biodiversité	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0
Espèces menacées	1	1	1	1	0	5	0	2	0	0
Impact santé humaine	2	2	3	1	2	2	4	0	1	4
Influence typologie	0	0	1	0	0	5	3	3	0	0
Facilité mise en oeuvre	3	3	2	4	3	2	3	1	1	4
Rapidité	4	4	3	4	5	0	4	3	2	4
Exhaustivité / produits	4	4	3	0	3	5	2	5	4	0
Spécificité	0	0	1	5	1	0	4	1	4	5
Précision	3	1	2	4	2	2	3	2	4	5
Evaluation de risque	4	0	0	4	2	0	3	0	0	2
Criblage de toxiques	0	0	0	5	0	0	4	1	0	5

Classement des méthodes de 0 à 5 (Vindimian et Garric, 1993)

Utilisation	Cytochrome P450	Métallo-thionéines	Protéines de choc thermique	Enzymes de phase II	Stress oxydatif	Hème et porphyrines	Acétyl-Choline esterase
Caractérisation d'un impact ou d'une exposition	+	-	+	?	+	?	+
Surveillance du milieu naturel	+	?	+	?	+	+	+
Identification d'effets précoces	++	?	++	?	+	+	-
Evaluation de risque	+	?	?	?	+	+	+
Déclenchement d'une action de régulation	+	?	?	-	?	?	+
Identifier l'exposition à des composés spécifiques	++	+	?	?	?	-	++
Criblage des composés toxiques	+	-	+	+	-	?	+
Recherche sur les mécanismes d'intoxication	++	++	++	++	++	++	++

Vindimian et Garric, 1993.

Tableau : Caractéristiques comparées de différents outils biochimiques utilisés pour la bio-évaluation des écosystèmes aquatiques.

Avantages de l'utilisation des algues :
<ul style="list-style-type: none"> • Indicateurs d'effets à court terme à cause du cycle de vie court. • Producteurs primaires • Echantillonnage très facile et peu coûteux. • Bien adapté pour la mesure de paramètres fonctionnels (biomasse, dosages de chlorophylle...) • Sensibles à certains polluants particuliers comme les herbicides.
Avantages de l'utilisation de macro-invertébrés :
<ul style="list-style-type: none"> • Bon indicateur de conditions locales car peu mobile. • Intègre les variations à court terme : les communautés réagissent à long terme mais certains stades sensibles répondent rapidement. • Facilité de mise en oeuvre, l'utilisation de niveaux taxonomiques peu poussés est possible et donne de bonnes indications. • Echantillonnage facile • Abondants dans la plupart des rivières • Source de nourriture de nombreux poissons
Avantages de l'utilisation des poissons :
<ul style="list-style-type: none"> • Bon indicateurs d'effets à long terme à cause de leur durée de vie • Représentatifs de différents niveaux trophiques (omnivores, insectivores, herbivores, planctonivores et piscivores) • Situés au sommet de la chaîne trophique et consommés par l'homme. • Relativement facile à échantillonner et très facile à déterminer au niveau de l'espèce. • Utilisation pour les usages de l'eau (catégories piscicoles) • De nombreux poissons sont considérés comme des espèces menacées (la moitié des espèces menacées de vertébrés sont des poissons aux Etats-Unis)

Tableau : Avantages des différents compartiments trophiques, d'après l'US EPA.

Vindimian et Garric, 1993.

Comparaison de systèmes basés sur l'activité respiratoire des poissons (Cairns et Gruber, 1980).

	National Inst. for Water Res. (NIWR)	Procter & Gamble	Stevenage Laboratory	EPA	VPI&SU
Is system automated?	Yes	Under development	No	No	Yes
Is system computer interfaced?	No	Under development (microcomputer)	No	No	Yes (minicomputer)
Degree of skill required for operation	High	Could not be determined	High	High	Modest
Ventilatory response assessed	Breathing rate	Breathing rate	Breathing rate	Gill purge (cough)	Breathing rate
Method employed for signal detection	Submerged, unattached electrodes	Submerged, unattached electrodes	Submerged, unattached electrodes	Submerged, unattached electrodes Pressure transducers	Submerged, unattached electrodes
Fish tested (Genus)	<i>Barbus</i> <i>Micropterus</i> <i>Sarotherodon</i>	<i>Lepomis</i>	<i>Salmo</i>	<i>Esox</i> <i>Ictalurus</i> <i>Lepomis</i> <i>Micropterus</i> <i>Pomoxis</i> <i>Salvelinus</i>	<i>Carassius</i> <i>Cichlasoma</i> <i>Cyprinodon</i> <i>Dascyllus</i> <i>Fundulus</i> <i>Lagodon</i> <i>Lepomis</i> <i>Notropis</i> <i>Parachanna</i> <i>Pelvicachromis</i> <i>Pimphales</i> <i>Salmo</i> <i>Trinectes</i>
Maximum number fish employed	12	6	16	16	24
Monitoring time lost for acclimation	48 hours	6 days	5.5-6 days	2-5 days	None (two independent groups for monitoring and acclimating)
Maximum time allotted for acclimation period	48 hours	6 days	6 days	5 days	User option
Fish fed	N/R	Frozen brine shrimp (manually)	Pellets (automatically)	N/R (manually)	Commercial flaked or granular food (automatically)
Flow rates employed	50 ml/min	125 ml/min	300 ml/min	N/R	600 ml/min
How are data sampled?	Automatically and continuously	Automatically and continuously	Manually and periodically	Manually and periodically	Automatically and continuously
Frequency of samples	1-min intervals	2 min every 2 hours	8 samples taken @ 15-min intervals for 2-hour period	15 min every 2 hours	Continuous (milliseconds)
Amount of data sampled used for assessments	All	All	N/R	5 min	All
How are data initially assessed?	Manually (off-line)	Manually (off-line)	Manually (off-line)	Manually (off-line)	Automatically (with on-line computer)
How are data continuously assessed?	Automatically (on-line)	Manually (off-line) (automatic under development)	Manually (off-line)	Manually (off-line)	Automatically (on-line)
Frequency of assessments	1-min intervals	2 hours	2 hours	2 hours	User option (1-min and up intervals)
Statistics used	95% confidence limits	95% confidence limits 2-way ANOVA Dunnnett's Test	Mann-Whitney "U" test	Paired t-test and Chi-Square	Time Series
Warning Signal	Light for each fish flashes	None	N/R	N/R	Light for each fish illuminate and hard copy printout

Liste des principaux utilisateurs du "MOSELMONITOR" de Delta-Consult

* **RIVM, Bilthoven**

situation : Lobith (Laboratoire du Rhin)

application : contrôle des effluents

* **Water Research Center U.K.**

situation : laboratoire Marlow

applications : comparaison avec d'autres capteurs biologiques

* **Kema, Arnhem**

situation : rejets industriels Maasvlakte - Rotterdam

applications : réduction de la chlorination des circuits de refroidissement

* **DOW Benelux, Terneuzen**

situation : circuits de refroidissement

applications : réduction de la chlorination des circuits de refroidissement

* **Rijkswaterstaat DGW, Middelburg**

situation : port Jacoba

applications : étude des mouvements valvaires et des réponses aux contaminations par les métaux lourds, les PCB et PAC.

* **RIVM, Bilthoven**

situation : laboratoire Bilthoven

applications : relations dose - effets

* **Vlaamse maatschappij voor water voorziening, Belgique**

situation : Rivière IJser

applications : contrôle d'effluents

* **Ifremer, France**

situation : laboratoire de Brest

applications : étude

* **Bundesanstalt für Gewässerkunde, Allemagne**

situation : laboratoire de Koblenz

applications : étude sur le comportement des bivalves

18/02/94

Environnement

LE MOULOMETRE QUI VA REVOLUTIONNER LA MOULOMETRIE

Sentinelles antipollution, les moules sont aujourd'hui équipées par les chercheurs d'appareils sophistiqués. L'*Ifremer* vient ainsi de mettre au point un valvomètre qui devrait détrôner le *Mosselmonitor* néerlandais. Bigre.

Capables de détecter la présence de métaux lourds ou d'autres toxines en milieu aquatique, huîtres et mollusques font d'excellentes sentinelles de la pollution. L'Institut national de recherche et d'exploitation de la mer (*Ifremer*), qui utilise depuis une vingtaine d'années cette méthode de surveillance, ne cesse de l'améliorer. Dernier progrès en date, un capteur électronique breveté en décembre. A l'état normal, les coquilles des mollusques restent ouvertes 98 % du temps, ne se refermant brusquement que quand la moule, ou l'huître, veut recracher des intrus. Ou lorsqu'on cherche à la saisir. De la même manière, en présence de toxines dans l'eau, l'animal bivalve reste ostensiblement coi refusant tout contact avec le monde. Cette durée de fermeture est l'élément clé de la détection. Hier encore, pour la mesurer, on fixait sur le mollusque un fil rigide relié à un rouleau millimétré, semblable à ceux qu'on utilise en sismographie ou en médecine. Cette technique mécanique est maintenant remplacée par un système de capteurs électroniques de mouvements.

"Nous utilisons depuis quatre ans le *Mosselmonitor*, le 'moulomètre' néerlandais commercialisé par Delta-Consult, indique Michel Blanchard, de l'*Ifremer* de Brest. Son principe est fondé sur la détection d'induction magnétique." Au sommet de cet appareil cylindrique de 60 centimètres de haut sont attachées huit moules dont chacune des deux coquilles est connectée à un capteur. La variation de distance de l'une à l'autre induit un champ magnétique décelable qui peut donner l'alarme. Inconvénients de cet appareil : son poids de 25 kilos, occupé en grande partie par les batteries en plomb, et son prix, environ 150 (XX) francs.

L'*Ifremer* a trouvé mieux et moins cher. Son département d'ingénierie et de technologies industrielles a breveté, en décembre dernier, le valvomètre, commercialisé par Micrel, une

société d'instruments de mesure et de contrôle installée dans le Morbihan. La nouveauté de cet appareil, qui ressemble à une sorte d'assiette creuse, est la présence en son sein d'un microprocesseur qui enregistre les mouvements des mollusques. Les paramètres des tests emmagasinés par les capteurs sont envoyés à un micro-ordinateur doté d'un logiciel de traitement de données. Coût de cet appareil : 58 000 francs. "Quatre valvomètres sont déjà en service, annonce Paul Fraisse, responsable commercial de Micrel. Nous avons des contacts avec les grandes sociétés de distribution d'eau et avec EDF, qui veulent améliorer leurs parcs d'instruments de surveillance de l'eau. Nous espérons en vendre une centaine en France avant

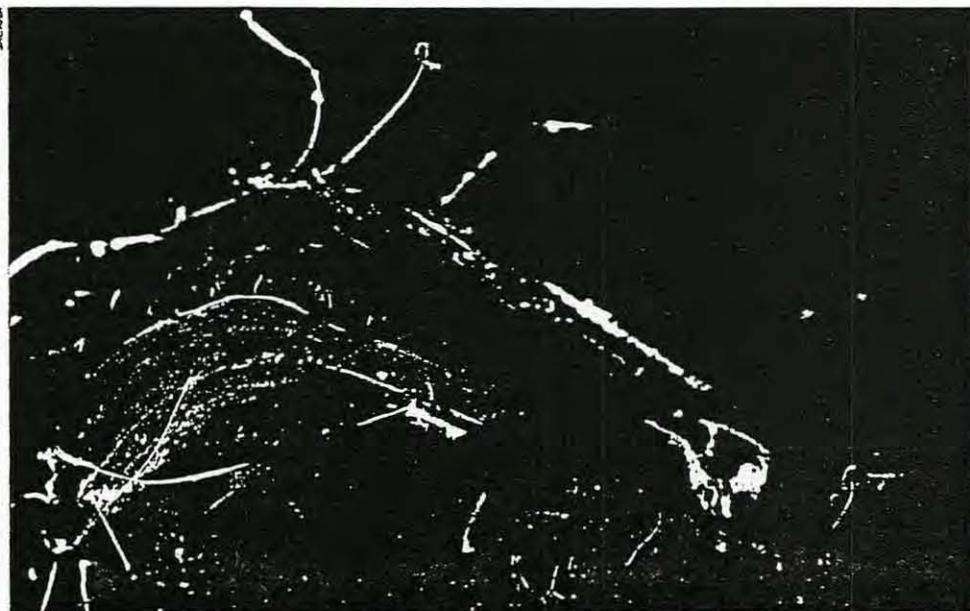
d'attaquer le marché étranger." L'Agence du Bassin Loire-Bretagne s'intéresse à ces procédés. Elle va lancer une étude de faisabilité pour développer ces biosentinelles en milieu marin. L'avantage de la moule sur l'huître est sa facilité d'adaptation aux différents milieux. "Elle vit aussi bien en eau douce qu'en eau de mer, explique Michel Blanchard. Mais c'est aussi un inconvénient car, au cours du temps, elle peut très bien s'accommoder d'une pollution persistante. Il faut donc veiller à remplacer régulièrement les mollusques." Autre limite du procédé, moules et huîtres adultes, bien qu'excellents concentrateurs de toxines, ne peuvent signaler que les pollutions importantes.

Là encore, l'*Ifremer* innove. Edouard His, du centre d'Arcachon, utilise les embryons pour détecter les molécules indésirables là où les meilleurs analyseurs de l'eau ne voient rien. Avec les œufs, les biologistes peuvent analyser l'éventuelle toxicité en

moins de dix-huit heures. En observant les anomalies de croissance des embryons, on a pu ainsi se rendre compte de la nocivité du TBT dans les peintures antisalissures, produit aujourd'hui interdit dans le monde. Détecter une micro-pollution ne supprime pas la pollution elle-même. Seule l'analyse en laboratoire donnera des éclaircissements sur la présence de métaux lourds ou de pesticides. Il va de soi que, en revanche, l'examen ne dira jamais rien des détonateurs menaçant les plages...

Jacques-Olivier Baruch

Il faut changer souvent de moule. Car, au fil du temps, elle s'habitue à la pollution.



Lamellibranchia mytilidae, ou moule commune

Chaque coquille sera équipée d'un capteur permettant le traitement immédiat par ordinateur des réactions de la moule.

ANNEXE 2

PLAQUETTES COMMERCIALES DES DEUX CAPTEURS VALVAIRES

BIOLOGICAL WATER POLLUTION MONITOR

MOSSELMONITOR[®], an Early Warning System

The MOSSELMONITOR[®] is a new type of biological sensor for *continuous* monitoring of water quality in both fresh water and the marine environment.



This water pollution monitor is our answer to expensive sampling and chemical analysis whereby pollution is not often encountered.

The MOSSELMONITOR[®] gives immediate warning at the occurrence of sudden pollution. The system makes continuous sampling redundant.

The most remarkable feature of this system is that living organisms (in this case mussels) are used as sensors.

Under normal conditions the shells of mussels are mainly open. Any change in their valve movement behaviour is immediately recorded by the MOSSELMONITOR[®] by means of high frequency electromagnetic induction sensors attached to the shells of the mussels.

The MOSSELMONITOR[®] consists of a watertight polyethylene case (cylindrically shaped), containing the electronics. The mussels are glued to the top. They are connected to the inside electronics through thin sensor wires.

This detection technique is unique in the world.

continuously monitors the water quality and detects the occurrence of pollution without needing to know the identity of the pollutants. Detection generates an alarm. In the event of an alarm a sampling device can be triggered automatically. This saves a great deal of expense by reducing the number of samples to be analysed.

The alarm threshold can be tuned after connecting an external terminal.

The MOSSELMONITOR[®] can also be used as a registration instrument for scientific purposes. For this application and for in-line monitoring, a low cost laboratory version is available.

The MOSSELMONITOR[®] has an accurate built-in temperature sensor, which makes it possible to examine temperature influence.



Sensitivity of the system

Mussels are sensitive to many chemicals, depending on their concentration(s). The MOSSELMONITOR[®] detects pollutants such as:

	detection limit
atrazine	< 0.5 mg/l
copper (CuSO ₄)	< 0.005 mg/l
chlorine	< 0.037 mg/l
cadmium (CdCl ₂)	< 0.1 mg/l
dispersed oil	< 6 mg/l
etc, etc.	

Many more chemicals are currently being added to the list because laboratory-assays and field tests are being (and will be) carried out. An updated chemicals summary with corresponding minimum detection limits for fresh water and marine mussels is available on request.



delta consult

Postbus 71 4420 AC Kapelle
The Netherlands
Tel. +31 1102 43510 Fax +31 1102 42062

- in-situ instrument
- real time alarm
- stand alone
- portable



Specifications

- **Biological**
 - 8 bivalves per system (fresh water or marine)
 - Applicable for monitoring:
 - * industrial effluents
 - * effectiveness of waste water treatment plants
 - * water quality
 - * drinking water inlets
 - * inlets of (public) aquaria
 - * aquaculture inlets
 - Also:
 - * testing for residual anti-fouling agents
 - * guarding of chemical processes
 - * physiological studies
- **Electrical**
 - Multiplexed HF-sensors (500 kHz)
 - 3 to 30 days battery backup (depending on measuring interval)
 - Eurolog Z80 computer system
 - * watchdog
 - * real time clock
 - * 12 bits A/D conversion
 - Alarm logging
 - Alarm contact
 - Interface for external computer (RS 232c)
 - External power connector
 - Electronics mounted on removable frame

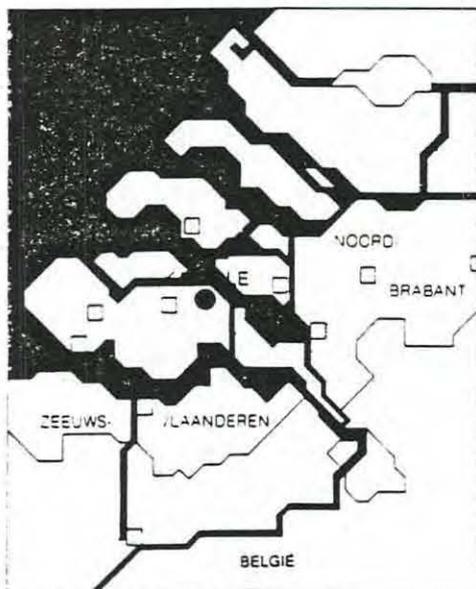
- **Mechanical**
 - HD-PE container
 - Easy replaceable mussels
 - Maximum depth: 15 meters below the water surface
 - Weight approx. 30 kg
- **Options**
 - solar panels
 - Transmitter/receiver set (30 km range)
 - data presentation/logging software „PRESENT” (IBM compatible PC needed)
 - cooling systems
- **Rental possibilities for**
 - short period monitoring
 - feasibility studies

A co-operative project of Delta Consult BV, TNO, KEMA and RIVM.

KEMA: Joint Laboratories and Consulting Services of the Dutch Electricity Supply Companies.
 RIVM: National Institute of Public Health and Environmental Protection.
 TNO: Netherlands Organisation of Applied Scientific Research.
 Delta Consult BV: Technical Consultancy.

For further information please contact:

Delta Consult BV
 P.O. Box 71
 4420 AC Kapelle
 The Netherlands
 Tel. +31 1102 43510
 Fax. +31 1102 42062



MOSSELMONITOR® is a Delta Consult BV trademark

MICREL

**DETECTEUR DE REJETS TOXIQUES :
LE VALVOMETRE**

DESCRIPTION ET FONCTIONNEMENT :

Ce nouveau système de biocapteur, développé par la société **MICREL** en collaboration avec **IFREMER**, utilise les moules comme détecteur de rejets toxiques dans les écosystèmes aquatiques, tant en eau douce qu'en eau de mer.

Son principe de détection est basé sur le contrôle de l'activité valvaire des mollusques filtreurs, dont le comportement est directement lié à la qualité de l'eau.

Ce valvomètre permet, entre autre, la surveillance de rejets industriels en rivière et environnement côtier, la surveillance en amont des stations de pompage, de traitement des eaux urbaines, des installations d'aquacultures, et enfin, l'étude du comportement des bivalves test de toxicité.

Les 8 moules sont fixées sur un support circulaire contenant la centrale d'acquisition à micro processeur. Le système de détection mesure l'ouverture et la fermeture des moules. Ce système est breveté.



EXEMPLES DE SENSIBILITE DE DETECTION

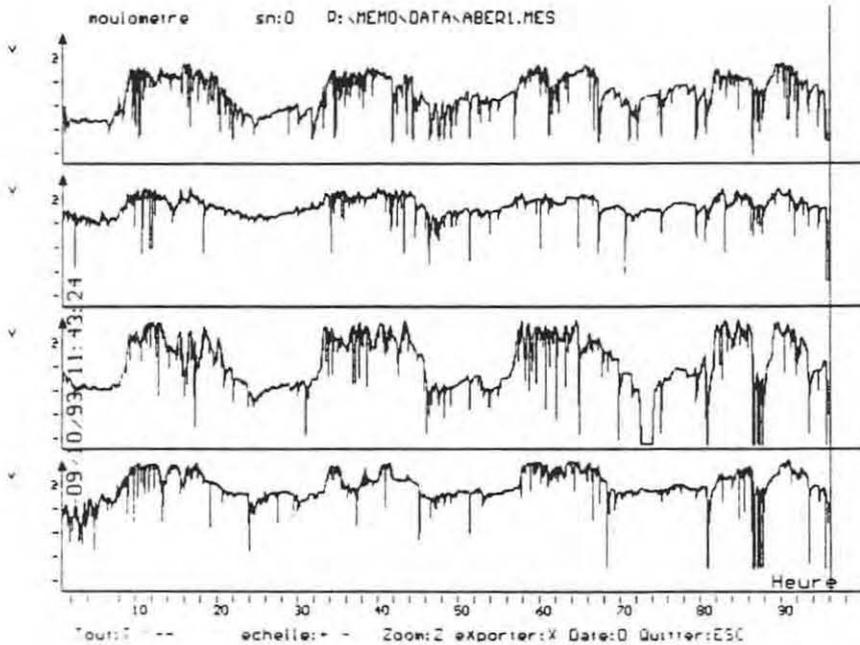
Cette liste n'est pas exhaustive, effectivement les moules réagissent à un ensemble de facteurs extérieurs.

Composant	Sensibilité estimée de détection (µg/l)	Détecteur
Cadmium	< 100	M D
Chlorine	< 10	M D
Cuivre	< 10	M D
Huile diluée	< 6000	M
Plomb	< 500	M D
Selenium	< 100	D
Zinc	< 500	M D

M=moules d'eau de mer (moules bleues), D=moules d'eau douce (dressen).

GRAPHIQUE ET ACTIVITE VALVAIRE :

Le graphique ci-contre représente les ouvertures et les fermetures des valves. Ces informations sont transmises à un P.C. par induction (crayon sonde placé près du valvomètre et connecté au P.C.) L'appareil peut être associé à un système d'échantillonnage d'eau permettant une analyse ultérieure, de même qu'à un système de transmission d'alarmes téléphoniques ou autres.



LE LOGICIEL

Un programme convivial, compatible P.C, affiche les données et les stocks sous forme de fichier ASCII transférable dans un tableur.

La capacité de mémoire est de 32 Kilo-octets, avec compression des données. Elle permet de stocker des informations pendant plusieurs semaines. Il existe deux modes de stockage

- Les données sont stockées jusqu'à ce que la mémoire soit pleine, - ou les dernières données sont conservées en écrasant les premières (stockage en mode rouleau).

Dans ma première phase de validation, les seuils sont programmés sur le PC. Ils sont appliqués sur les fichiers enregistrés afin de simuler les alarmes. Dans une seconde phase où les éléments polluants détectables par le système sont répertoriés alors les seuils sont télé chargés dans l'appareil qui pourra générer ses propres alarmes

CARACTERISTIQUES TECHNIQUES :

Alimentation : L'appareil est électriquement autonome pendant 10 ans.

Diamètre : 332 mm Hauteur: 60 mm

Fonctionnement : entre -5° et -50°C

Étanchéité : -100 mètres

Poids : 1 kg

DISTRIBUTEUR

MICREL

ANNEXE 3

**EFFETS DE DIFFERENTS CONTAMINANTS
SUR LES MOUVEMENTS VALVAIRES DES MOULES**

Un exemple de surveillance des effluents industriels en zone estuarienne avec deux "Mosselmonitor" de Delta-Consult (de Zwart *et al.*, 1992)

Entre septembre et décembre 1989, deux "valvomètres" hollandais garnis de moules *Mytilus edulis* ont été utilisés pour tester les réponses aux effluents industriels toxiques. Les appareils étaient exposés discontinuellement, in situ, aux effluents après dilution partielle à l'eau de l'estuaire. La distance entre les deux appareils et les points de rejet étaient de 5 et 10 m respectivement. Le régime de décharge était de deux rejets de 30 m³ par heure, avec une concentration maximale autorisée de 0,5 mg/l de Tétrachlorométhane (TCM), 5 mg/l de Dichlorométhane (DCM) et 25 mg/l de Cl₂. Le pH de l'effluent était de 9, soit celui de l'eau de mer. Lors de très forts coefficients de marées, les systèmes pouvaient être exondés à basse mer.

Les appareils étaient programmés pour produire une alarme de fermeture, si au moins 5 moules sur 8 étaient fermées simultanément pendant plus de 2 minutes. Une alarme de chute de la moyenne d'ouverture était émise si au moins 5 moules sur 8 montraient une chute de la moyenne d'au moins 25 %, avec des intervalles de 15 minutes.

Sur l'ensemble de la période d'évaluation, 37 alarmes ont été émises, dont 3 en raison des exondations. Pendant 7 alarmes, il n'y avait pas de rejet industriel. Il reste donc 27 alertes pouvant être dues aux rejets toxiques. Seules 4 ont été détectées par les deux appareils simultanément, mais, à plusieurs reprises un des appareils n'était pas opérationnel.

Au total, 12 conditions alarmantes correspondaient à des périodes de rejets fortement toxiques. Le tableau ci dessous présentent les différentes alarmes recensées, pour des jours sans exondation. Les concentrations étaient mesurées par les industries rejetantes et analysées après un échantillonnage journalier.

Toutes les alarmes semblent correspondre à des jours de forts rejets en chlore. Les autres substances restent à des doses inférieures à la limite du moniteur ; soit Cl₂ : 10 microg/l, DCM 150 mg/l, TCM 2,5 mg/l (Kramer *et al.*, 1989 ; Kramer et Foekema, 1992).

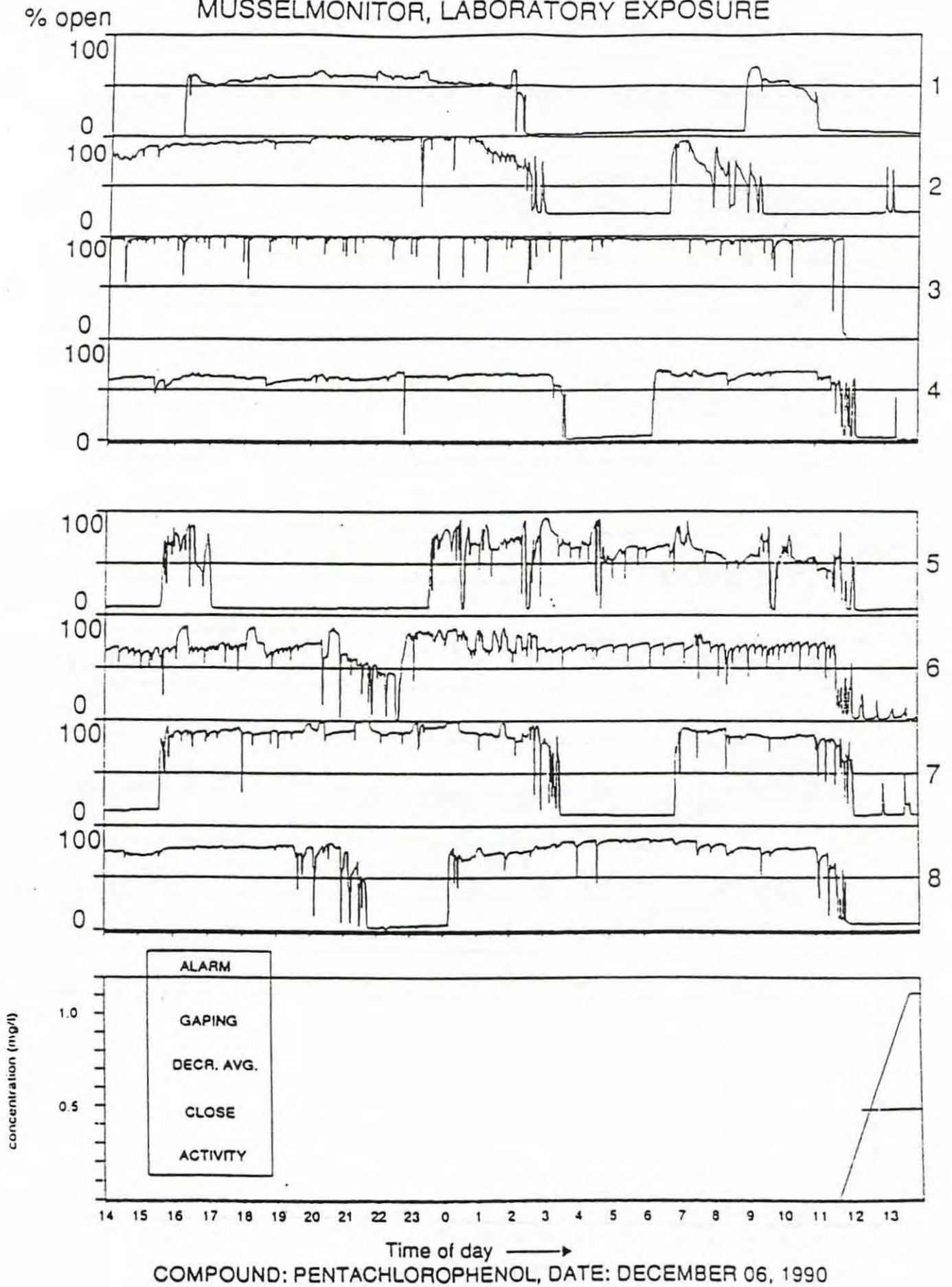
tableau : récapitulatif des résultats obtenus dans l'estuaire de Ems-Dollard entre septembre et décembre 1989

Date	effluent	CL ₂	DCM	TCM	moniteur 1	moniteur 2
unités	m ³ /j	Kg/j	Kg/j	Kg/j		
24/09/89	275	19,3	<0,5	<0,5	-	D
25-Sep	785	27,5	0,8		D	D
26-Sep	364	23,7	<0,5	<0,5	D	D
27-Sep	739	37	0,9	0,9	-	D
1-Oct	669	<10	0,7	0,7	F	-
5-Oct	868	19,1	0,9	0,9	F	-
6-Oct	474	11,9	<0,5	<0,5	-	D
25-Oct	331	11,6	<0,5	<0,5	-	N
26-Oct	303	13,6	<0,5	<0,5	-	N
27-Oct	502	15,1	<0,5	<0,5	-	F
1-Nov	722	<10	0,7	0,7	-	?
2-Nov	510	<10	<0,5	<0,5	-	N
4-Nov	695	<10	0,7	0,7	N	N
5-Nov	740	<10	0,7	0,7	N	N

7-Nov	350	12,3	<0,5	<0,5	C	D
8-Nov	400	26	1,4	<0,5	D	D
14-Nov	506	<10	<0,5	<0,5	N	-
20-Nov	502	<10	<0,5	<0,5	N	?
24-Nov	510	<10	<0,5	<0,5	N	-
28-Nov	523	<10	<0,5	<0,5	N	-

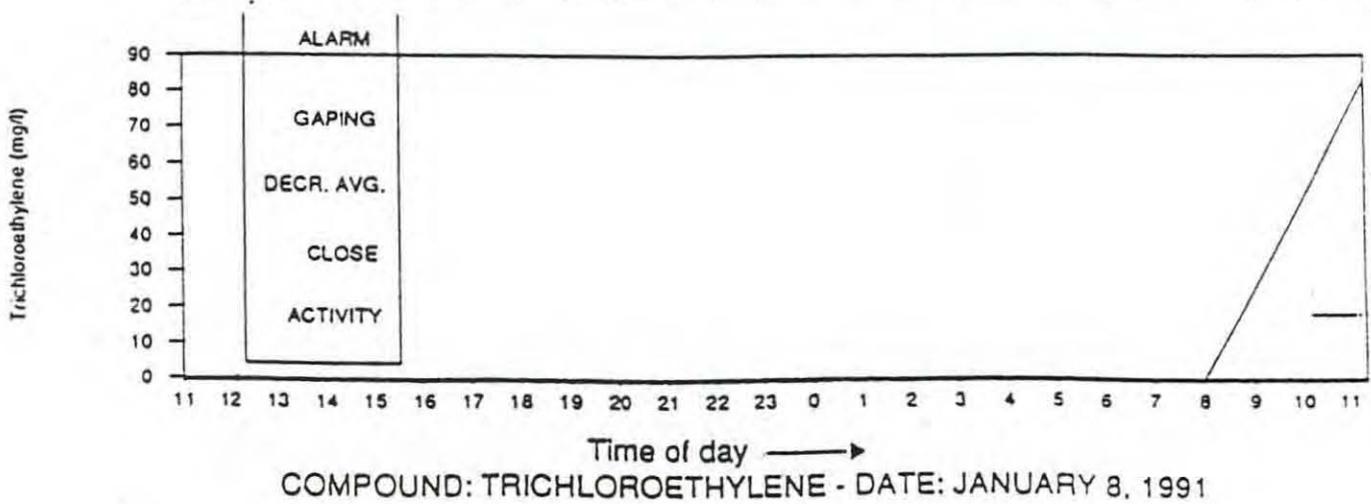
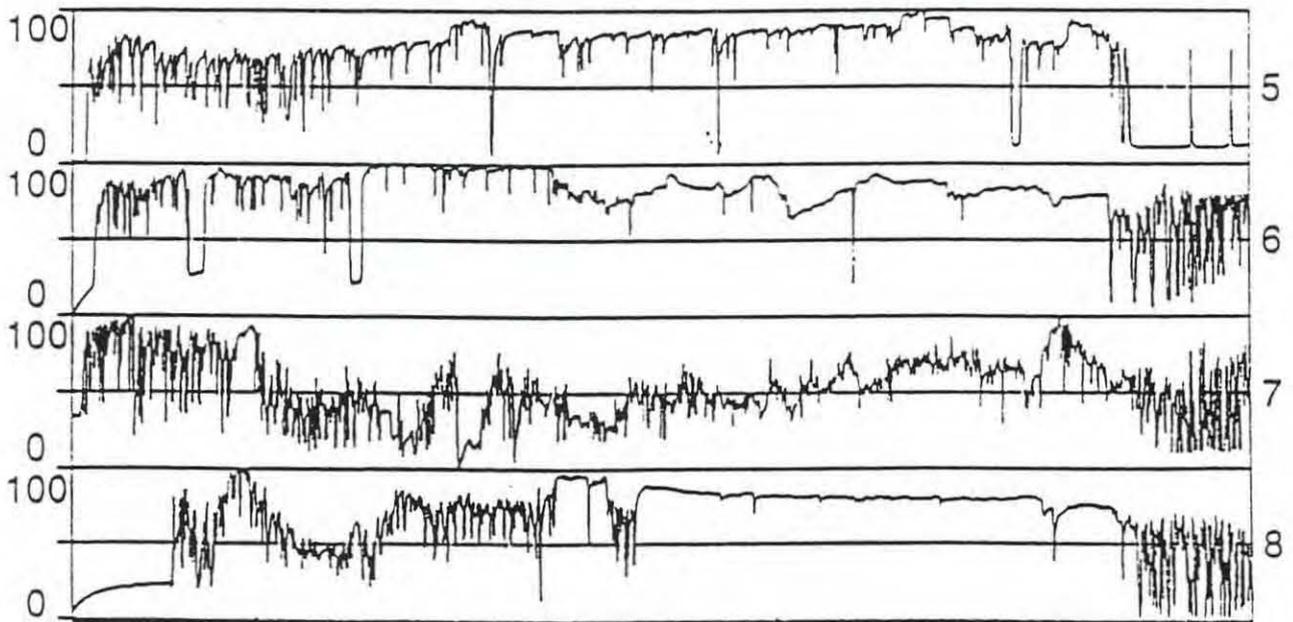
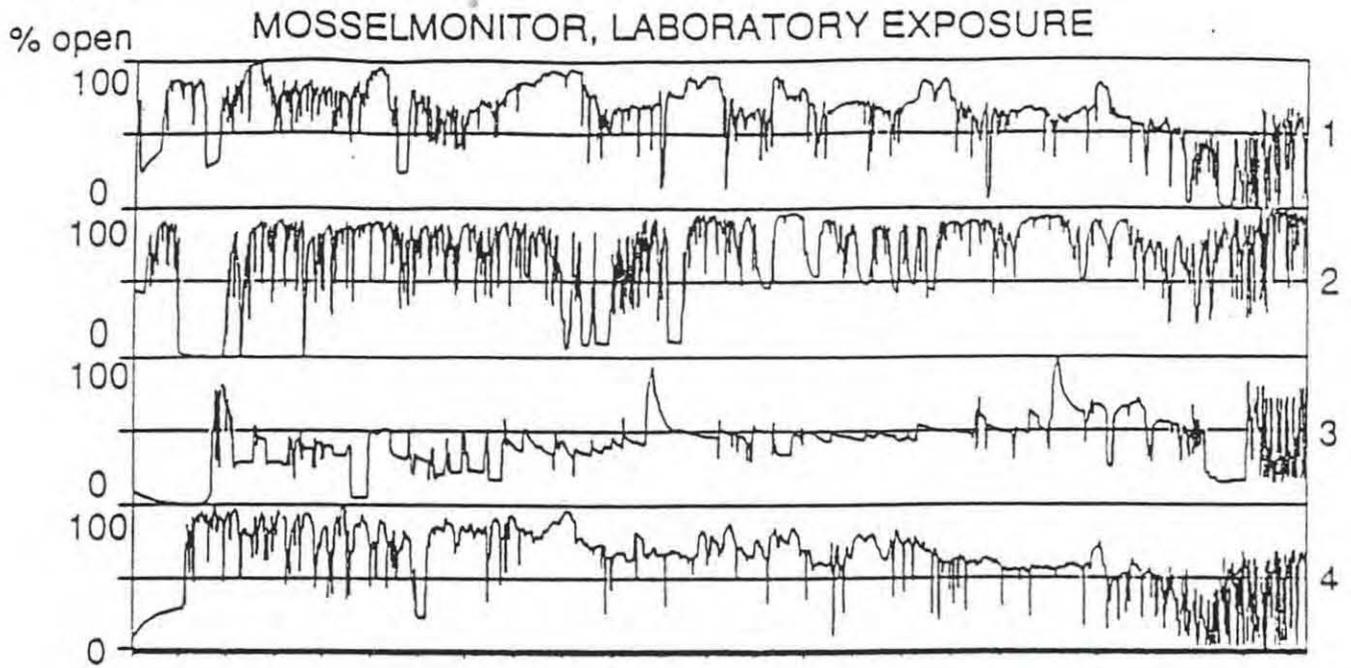
N = pas d'alarme, F = alarme de fermeture, D = alarme de chute de la moyenne d'ouverture
 - = pas opérationnel, ? = artefact

MUSSELMONITOR, LABORATORY EXPOSURE



De Zwart, Kramer et Jenner, 1992

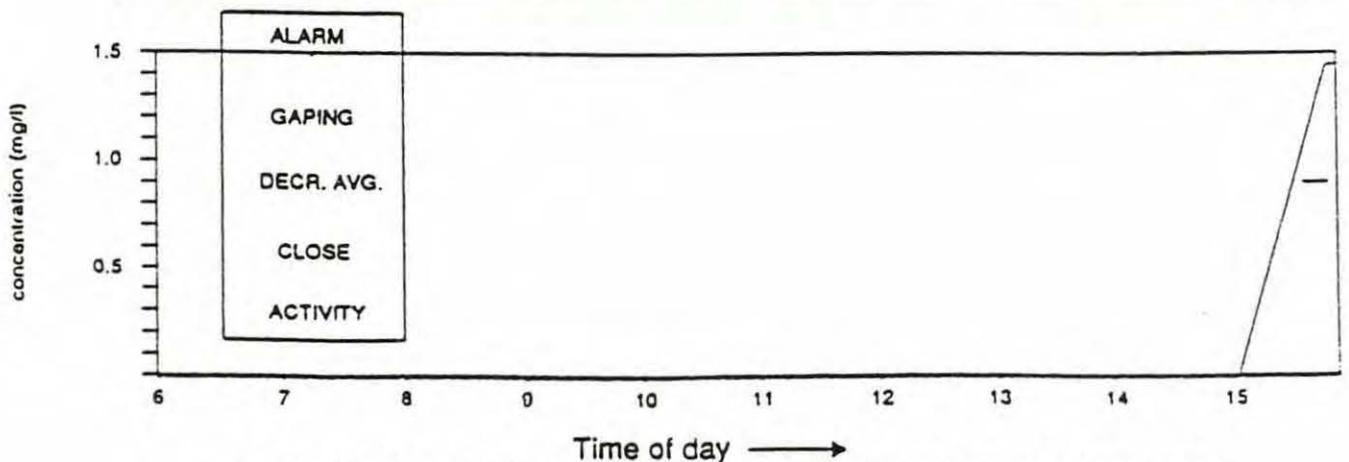
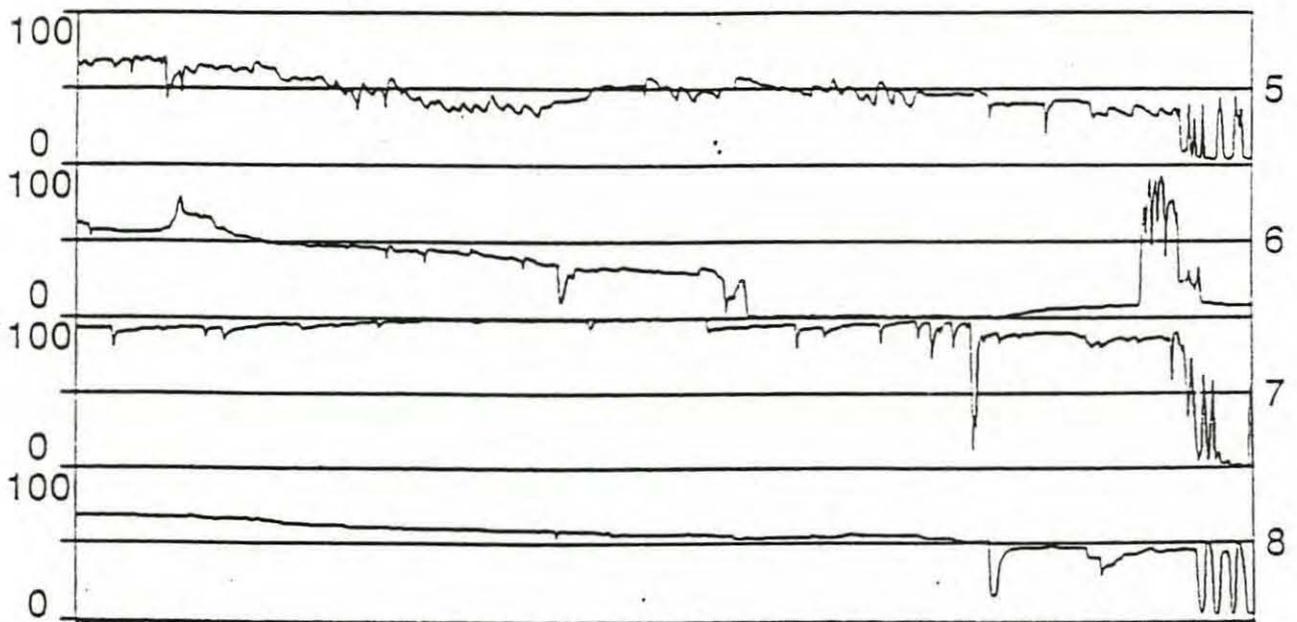
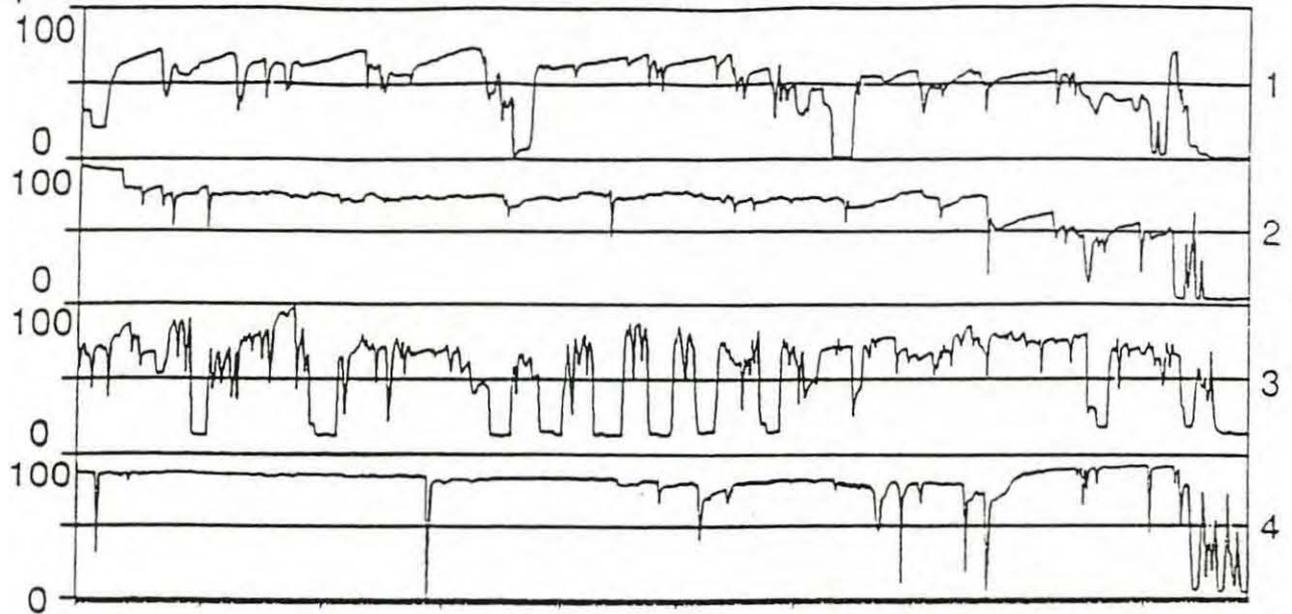
Close Alarm



De Zwart, Kramer et Jenner, 1992

% open

MUSSELMONITOR, LABORATORY EXPOSURE



COMPOUND: HEXACHLOROBUTADIEN, DATE: NOVEMBER 08, 1990

De Zwart, Kramer et Jenner, 1992

Decreasing Average Alarm

BIBLIOGRAPHIE

- ABEL P. D. (1976). Effect of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus*. *Mar. Poll. Bull.*, **7**, 228-231.
- AKBERALI H. B. et J. E. BLACK (1980). Behaviour responses of the bivalve *Scrobicularia plana* subjected to short term copper (CuII) concentrations. *Mar. Environm. Res.* **4**, 97-107.
- AKBERALI H. et E. TRUEMAN (1985). Effects of environmental stress on marine mulluscs. *Advances in marine biology*, **22**, 102-198.
- ALZIEU CL. (1989); L'étain et les organoétains en milieu marin : biogéochimie et écotoxicologie, *Rapport scientifiques et techniques de l'IFREMER*, **17**, 93 pp.
- ALZIEU CL., J. SANJUAN, P. MICHEL, M. BOTREL et J.P. DRENO (1989). Monitoring and assessment of butyltins in atlantic coastal waters. *Mar. Poll. Bull.*, **20**, 1, 22-26.
- AMEYRAW-AKUMFI C. et E. NAYLOR (1987). Temporal patterns of shell-gape in *Mytilus edulis*. *Marine biology*, **95**, 237-242.
- BARUCH J. O. (1994). Le mouloètre qui va révolutionner la mouloétrie. *Le Nouvel Economiste*, février 1994.
- BAYNE B. L. (1975). Aspects of physiological condition in *Mytilus edulis* L., with references to the effects of oxygen tension and salinity. Proceeding of the 9th european Marine Biology Symposium (H. Barnes ed.), 213-238. Aberdeen Univ. Press, Scotland.
- BAYNE B. L. (1976). *Marine mussels their ecology and physiology*. International biological Programme synthesis, vol. 10, cambridge Univ. Press, London and New York. 506p.
- BAYNE B.L., D.A. BROWN, K. BURNS, D. R. DIXON, A. IVANOVICI, D. R. LIVINGSTONE, D. M. LOWE, M. N. MOORE, D. M. MOORE, A. R. STEBBING et J. WIDDOWS (1985). The effect of stress and pollution on marine animals. Preager Scientific, New York, 384 p.
- BAYNE B. L., M.N. MOORE, J. WIDDOWS, D.R. LIVINGSTONE et P. SALKELD (1979). Measurement of the response of individuals to environmental stress and pollution : studies with bivalves molluscs. *Philosophical Transaction of the Royal Society*, London, Serie B 286, 561-563.
- BAYNE B, R.J. THOMPSON et J. WIDDOWS (1976). Physiology I. In *Marine mussels : their ecology and physiology*. International biological Programme synthesis, vol. 10, Baynes eds. Cambridge Univ. Press, London and New York. 506 p.
- BEAUMONT A.R., G. TSERPES et M.D. BUDD (1987). Some effects of copper on the veliger larvae of the mussel *mytilus edulis* and the scallop *Pecten maximus*. *Marine Environ. Res.*, **21**, 299-309.
- BECKMAN Instruments (1978). Microtox model 2055 toxicity analyser system. Carsbad, CA, USA.
- BENECKE G., W. FALKE et C. SCHMIDT (1982). Use of algal fluorescence for an automated biological monitoring system. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **28**, 385-395.
- BENNETT M. F. (1954). The rhythmic activity of the quahog, *Venus mercenaria* and its modification by light. *Biol. Bull.*, **107**, 174-191.
- BLANDIN P. (1986). Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, **17** : 215-307.
- BORCHEDING J. (1992). Another early warning system for detection of the toxic discharges in the aquatic environment based on the valve movements of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie actuelle* vol.4, 127-146.
- BOTTERWEG J., C. VAN DE GUCHTE et L.W. VAN BREEMEN (1989). bioalarm systems : a supplement to traditional monitoring of water quality. *H2O*, **22**, 778-794.
- BROWN V. M. (1976) Advances in testing the toxicity of substances to fish. *Chemy ind.*, **4**, 143-149.
- BULICH A. A. (1979). Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In L. L. Marking and R.A. Kimerle (eds.). *Aquatic toxicology*, ASTM STP 667, 98-106.
- BUTLER R., B.D. RODDIE et C.P. MAINSTONE (1990). The effects of the sewage sludge on the two life-history stages on *Mytilus edulis*. *Chem. Ecol.*, **4**, 211-219.

- CAIRNS J. (1979). Biological monitoring -concept and scope. In J. Cairns, G. P. Patil and W. E. Waters (eds). Environmental biomonitoring, assessment, prediction and management. Int. CO-op Publ. House, Burtonville, Ma, 3-20.
- CAIRNS J. (1986). The myth of the most sensitive species. *Bioscience* **36**, 670-672.
- CAIRNS J., S. ALMEIDA et H. FUJII (1982). Automated identification of diatoms. *Bioscience* **32**, 98-102.
- CAIRNS J. et K. DICKSON (1980). The ABC's of biological monitoring. In C. Mocutt and J. Stauffer Jr (eds). biological Monitoring of fish. Lexington Books, Lexington, Massachusetts, 1-52.
- CAIRNS J. et D. GRUBER (1980). A comparison of methods and instrumentation of biological early warning systems. *Water resources bulletin* **16**, 261-266.
- CAIRNS J., J. HALL, E. MORGAN, R. SPARKS, W. WALLER et G. WESTLAKE (1973b). The development of an automated biological monitoring system for water quality. Virginia Water Resources Research Center bulletin 59, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
- CAIRNS J., G. LANZA, R. SPARKS et W. WALLER (1973 a) - Developing biological informing systems for water quality management. *Wat. Res. Bull* **9**, 81-99.
- CAIRNS J. E. MORGAN et R. SPARKS (1974). The response of the Bluegills (*Lepomis macrochirus* Rafinesque) in a pollution monitoring system to diurnal temperatur change. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **103**, 138-140.
- CAIRNS J., SPARKS R. E. et W. T. WALLER (1972). The design of a continous flow biological early warning system for industrial use. Purdue Univ., *Engng Bull*, **141**, 242-255.
- CAIRNS J. et VAN DER SCHALIE (1980). Biological monitoring. Part I - Early Warning Systems. *Water Research* vol. **14**, 1179-1196.
- CALABRESE A., J.R. MacINNES, D.A. NELSON et J.E. MILLER (1977). Survival and growth of bivalve larvae under heavy metal stress. *Mar. Biol.*, **41**, 179-184.
- CLARKE D.J., W. W. ECKENFELDER et J.A. ROTH (1977). The developpement of an influent monitor for biological treatment systems. *Progress in Water technology*, **9**, 103-107.
- DARDIGNAC-CORBEIL M.J. (1976). Biologie de la moule. La conchyliculture française. publication de l'ISTPM, **2**, 290-319
- DAVENPORT J. (1979). The isolation response of mussels (*Mytilus edulis*) exposed to falling sea-water concentrations. *J. mar. Ass U.K.*, **59**, 123-132.
- DAVENPORT J. (1981). The opening response of mussels (*Mytilus edulis*) exposed to rising sea-water concentrations. *J. mar. Ass U.K.*, **61**, 667-678.
- DAVENPORT J. et A. WOOLMINGTON (1982). A new method of monitoring ventilatory activity in mussels and its use in a study of the ventilatory patterns of *Mytilus edulis*. *J. exp. Mar. Ecol.* **62**, 55-67.
- DEATON E. et M. MANGUM (1978). The cardiac response of the ponderous ark clam, *Noetia ponderosa* to reduced oxygen levels. *Comp. Biochem. Physiol.* **59 A**, 229-230.
- DESLOUS-PAOLI J.M. (1993). Physiologie alimentaire des coquillages : conséquences sanitaires. In Coquillages. Information Technique des Services Vétérinaires (eds), 207-220.
- DE ZWART D., K. J. KRAMER et H. A. JENNER (1992). Pratical experiences with the biological early warning system "Mosselmonitor".
- DIAMOND J., M. COLLINS et D. GRUBER (1988). An overview of automated biomonitoring - past developments and future needs. *Automated biomonitoring : living sensors as environmental monitors* Ellis Horwood, Chichester, 23-39.
- DJANGMAH J.S., S.E. SHUMWAY et J. DAVENPORT (1979). Effects of fluctuating salinity on the behaviour of the west African blood clam *Anadara senilis* and on the osmotic and ionic concentration of the haemolymph. *Marine biology*, **50**, 209-213.
- DORWARD E.J. et B.G. BARISAS (1984). Acute toxicity screening of water pollutants using a bacterial electrode. *Environmental Science and Technology* **18**, 967-972.

- DRUMMOND R. A. et R. W. CARLSON (1977). Procedures for measuring cough (gills purge) rates of fish. Ecol. Res. Ser., US Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota. EPA-600/3-7-77.
- DURAND F. (1993). Polluants toxiques et mollusques. In Coquillages. Information Technique des Services Vétérinaires (eds), 265-280.
- EVANS G.P., D. JOHNSON et C. WHITEHELL (1986). Development of the WRc Mk 3 fish monitor : description of the system and its response to some commonly encountered pollutants. Water Research Center. Environment TR233.
- EVANS G.P. et A.J. SOLMAN (1985). Continuous monitoring of water quality; Patent application, publication n° GB 2.195.543.
- EVANS G.P. et J.F. WALWORK (1988) - The WRk fish monitor and other biomonitoring methods. in D.S. Gruber and J.M. Diamond *Automated biomonitoring : living sensors as environmental monitors*. Ellis Horwood, Chichester, 75-90.
- FLOCH A. (1992). Les bivalves en tant que capteurs biologiques, un exemple : le Water-Pollution Monitor de Delta-Consult. Rapport de stage, RA La Trinité-sur-mer.
- FLOCH A. (1993). Applications d'un biomoniteur enregistrant les mouvements valvaires des moules en surveillance de l'environnement. Rapport de stage, RA La Trinité-sur-mer
- FLOCH A., S. PENNEC, Y. DEGRES, J. MAZURIE, M. KERDREUX, P. GENTIEN et M. BLANCHARD (1994). Nouveau système d'enregistrement des mouvements valvaires de coquillages applicable à la détection d'altérations du milieu aquatique. Acte de colloque EAS Bordeaux Aquaculture 23-25 mars 1994, publication spéciale de l'EAS n°21 (Book of Abstracts).
- FOSTER-SMITH R. L. (1976); Some mechanisms for the control of the pumping activity in bivalves. *Mar. behav. Physiol.*, **4**, 41-60.
- FUJII T. (1977). Measurement of periodic open and shut shell movement of bivalves by the strain-gauge method. Bull. of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **43** (7) 901.
- GALTSOFF P. S. (1964). The american oyster *Crassostrea virginica*. *Fishery bull.* vol. **64** WASHINGTON., 169-175.
- GELLER W. (1984). A toxicity warning monitor using weakly electric fish, *Gnathonemus petersi*. *Wat. Res.*, **18**, 1285-1290.
- GILFILLAN E.S. (1975). Decrease of net flux in two species of mussels caused by extracts of crude oil. *Mar. Biol.*, **29**, 53-58.
- GILFILLAN E.S., L.C. JIANG, D. DONOVAN, S. HANSON et D.W. MAYO (1976). Reduction in carbon flux in *Mya arenaria* caused by a spill of No 2. fuel oil. *Mar. Biol.*, **37**, 115-123.
- GOLDBERG E.D., W. T. BOWEN, J. H. FARRINGTON, G. HARWEY, J. H. MARTIN, P.L. PARKER, R. W. RISEBOROUGH, W. ROBERTSON, E. SCHNEIDER et E. GAMBLE (1978). The mussel watch. *Environm. Conserv.* **5**, 101-125.
- GRASSE P. (1960). traité de Zoologie : Anatomie, systématique et biologie, tome **5**, 2^{ème} fascicule, 1852-1927.
- GRUBER D.S et J. M. DIAMOND (1988). Automated biomonitoring living sensors as environmental monitors. Ellis Horwood, Chichester, 208 pp.
- GRUFFYDD LL. D., R. HUXLEY et J. CRISP (1984). The reduction in growth of *Mytilus edulis* in fluctuating salinity regimes measured using laser diffraction patterns and the exaggeration of this effect by using tap water as the diluting medium. *J. exp. biol. Ass. U. K.*, **64**, 401-409.
- HARGIS J. R. (1976). Ventilation and metabolic rate of young rainbow trout *Salmo gairdneri* exposed to sublethal environmental pH. *J. exp. Zool.*, **196**, 39-44.
- HEALTH A.G. (1972). A critical comparison of method for measuring fish respiratory movements. *Water Research*, **6**, 1-7.
- HEINIS F. et W. R. SWAIN (1986). Impedance conversion as a method of research for assessing behavioural responses of aquatic invertebrates. *Hydrobiological bulletin*, **19**, 183-192.

- HEINIS F., K.D. TIMMERMANS et W. R. SWAIN (1990). Short terms lethal effects of cadmium on the filter feeding chironomid larva *Glyptotendipes pallens*. *Aquatic toxicology*, **16**, 73-86.
- HIGGINS P. J. (1980). Effects of food availability on the valves movements and feeding behaviour of juvenile *Crassostrea virginica* (Gmelin). I. valves movements and periodic activity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **45**, 229-244.
- HIS E. (1970). Un dispositif simple permettant d'étudier le comportement des huîtres sous des conditions expérimentales ou des conditions naturelles de milieu. Sciences et pêche. *Bull. Inst. pêches marit.*, n° **196**, oct 1970.
- HIS E. (1972). Ostréographie sur parc. Communication Conseil International pour l'Exploitation de la Mer C. M. 1972/ K : **24**. 4pp
- HOPKINGS A. E. (1933). Experiments on the feeding behaviour of the oyster *Ostrea gigas*. *J. exp. Zool.*, **64**, 469-494.
- JENNER H. A., NOPPERT F. et T. SIKKING (1989). A new system for the detection of the valve-movement response of bivalves. *Kema Scientific and Technical Reports*, **7** (2), 91-98.
- JENNER H. A., G. VAN AERSSSEN et J. TERWOERT (1992). Valve movement behaviour of the mussel *DREISSENA POLYMORPHA* and the clam *UNIO PICTORUM* for use in an early warning system. The zebra mussel *dreissena polymorpha*. *Limnologie aktuelle* vol. **4**, 115-126.
- JOHNSON D. (1977). Sublethal biological effects of petroleum hydrocarbon exposures : bacteria, algae, and invertebrates. In *effects of petroleum on arctic and subarctic marine environments and organisms*. Vol. II. Biological effects. Malins (eds.), Academic press, New-York, 271-318.
- JOHNSON I., R. DAVIES, K.J.M. KRAMER et E. FOEKEMA (1991). A preliminary evaluation of the shell valve activity monitor. NRA report 061/2/T, National Rivers Authority, Medmenham, UK, pp 50.
- JORGENSEN C. B. (1949). The rate of feeding by *Mytilus* in different kinds of suspension. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **28**, 333-344.
- JORGENSEN C. B., P. S. LARSEN, F. MOHLENBERG et H. U. RIISGARD (1988). The mussel pump, properties and modelling. *Mar. Ecol.*, **45**, 205-216.
- JUHNKE I. et W.K. BESCH (1971). Eine neue Testmethode zur Früherkennung akut toxischer Inhaltstoffen in *Wasser-Gewasser und Abwasser*, **50/51**, 107-114.
- KLÖCKNER K., H. ROSENTHAL et J. WILLFÜRH (1985). Invertebrate bioassays with North Sea water samples. I. Structural effects on embryos and larvae of serpulids, oysters and sea urchins. *Helgoländer. Wiss. Meeresunters.*, **39**, 1-19.
- KNIE J. (1978). Der dynamischen Daphnientest - ein automatischer Biomonitor zur Ueberwachung von Gewässern und Abwasser - *Wasser und Boden*, **12**, 310-312.
- KNIE J. (1982). Der Daphnientest. *Decheniana.*, **26**, 82-86.
- KOCH W. (1917). Der Hertzschlag von *Anodonta* under natürlichen und künstlichen Bedingungen. *Pflügers Archiv für die Gesamte Physiologie der Menschen und die Tiere*, **116**, 281-317.
- KOEMAN J.H., C.L. POELS et W. SLOOFF (1978). Continuous biomonitoring systems for detection of toxic levels of water pollutants. In O. Hutzinger L.H. van Lelyveld and B. C.J. Zoeteman (eds). *Aquatic pollutants: transformation and biological effects*. Pergamon, London, 339-347.
- KRAMER K. J. et J. BOTTERWEG (1991). Aquatic Biological Early Warning Systems : an overview. In *Bioindicators and Environmental Management : Proceedings 6th Intern. bioindicators Symp. Dublin, 23-28th September 1990*. Jeffrey and Madden (eds), 95-126.
- KRAMER K. J. et E.M. FOEKEMA (1992). De gevoeligheid van mosselen voor dichloormethaan en tetrachloormethaan. IMW-TNO report R92/360, TNO, Delft, The Netherlands, pp 14.
- KRAMER K. J. M., H. A. JENNER et D. de ZWART (1989). The valve movement response of mussels : a tool in biological monitoring. *Hydrobiologia* - **188/189**, 433-443.
- LE BEC C. (1989). Croissance de *Crassostrea gigas* en Bretagne en 1989 : mise en place d'un réseau d'acquisition de données. In *Les mollusques marins : biologie et aquaculture*. Ifremer, acte de colloque n° 14, 1992, 61-70.

- LE BEC C. (1990). L'huître creuse *Crassostrea gigas* en Bretagne, étude pilote en Bretagne pour l'élaboration d'un réseau de données en biochimie, croissance, mortalité et pathologie de l'huître creuse sur huit sites conchylicoles bretons. Ifremer, rapport Interne de la DRV, RIDRV 90-52, RA La Trinité sur mer.
- LE BEC C. et MAZURIE J. (1992a). Premières références : l'huître creuse *Crassostrea gigas* en Bretagne : résultats du réseau de suivi de 1990. Ifremer, RIDRV 92-22, RA La Trinité-sur-mer.
- LE BEC C. et MAZURIE J. (1992b). L'huître creuse *Crassostrea gigas* en Bretagne : résultats du réseau de suivi de 1991. Ifremer, RIDRV 92-23, RA La Trinité-sur-mer.
- LE BEC C., A. LITTAYE-MARIETTE et V. CHAPRON (1993). Station de mesure physico-chimique en zone ostréicole sur l'Aber-Benoît. Ifremer, RA La Trinité-sur-mer.
- LE BEC C., J. MAZURIE, C. PONTTHOREAU et V. CHAPRON (1994). Système d'enregistrement en continu de paramètres physico-chimiques (température, salinité, oxygène, pH) en sites conchylicoles estuariens de la côte Atlantique française. Acte de colloque Bordeaux Aquaculture 23-25 mars 94, publication spéciale EAS n°21 (Book of Abstracts).
- LINK M. (1988). Das Dr.Lange-System "LUMISTox" Bestimmung der biologischen Toxizität mit dem Leuchtbakterientest. Anwendungsbericht Bio Nr. 101, Dr Lange GmbH, Düsseldorf.
- LUBET P. (1973). Exposé synoptique des données biologiques de la moule *M. galloprovincialis* (Lamarck, 1819). *Synopsis FAO sur les pêches*, 88.
- MANLEY A. R. et J. DAVENPORT (1979). Behavioural responses of some marine mussels to heightened seawater copper concentrations. *Bull. Environm. contam. toxicol.* **22**, 739-744.
- MARCEAU F. (1909). Recherche sur la morphologie, l'histologie et la physiologie comparée des muscles adducteurs des mollusques acéphales. *Arch. Zool. Exp. Gén.* (ser 5), **2**, 295-469.
- MARTEIL (1974). La conchyliculture française. Publication de l'ISTPM.
- MARTIN J.V. (1988). Biomonitoring of polluted waters : three systems. In D. Gruber and J.M. Diamond (eds) *Automated biomonitoring : Living sensors as environmental monitors*, 172-181. Ellis Horwood, Chichester.
- MARTIN J.V., K. E. OSBORN, P. BILLIG et N. GLICKSTEIN (1981). Toxicity of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Mar. Pollut. Bull.*, **12**, 305-308.
- MILNE A. (1940). Some ecological aspects of the intertidal area of the estuary of the Aberdeenshire Dee. *Transaction of the royal society of Edinburgh*, **60**, p 107-139.
- MORGAN W.S.G. (1977). An electronic system to monitor the effects of changes in water quality on fish operulum rhythms. In J. Cairns, K.L. Dickson and G.F. Westlake (eds.) *Biological Monitoring of Water and Effluent Quality*. ASTM, Special Technical Publication **607**, 38-55.
- MORTON B. (1969). Studies on the biology of *Dreissena polymorpha* pall. II. correlation of the rhythms of adductor activity, feeding, digestion and excretion. *Proc. malac. Soc. Lond.*, **38**, 401-414
- MOUTOU F. (1993). Les animaux sauvages sentinelles de la pollution. *Le Point Vétérinaire* mars 1993, **150**, vol. 24, 11-16.
- NOACK E.L., N. HERDEN, J. LOFFLER, C. WARCUP et M. GORSLER (1985). Kontinuierliche erfassung der Algen-Biomasse mittels Chlorophyll fluoreszenz in Gütesstationen des Gewässerüberwachungsystems in Niedersachsen *Z. Wasser-Abwasser Forschung*, **18**, 177-182.
- OSTGAARD K., I. EIDE et A. JENSEN (1984). Exposure of phytoplankton to Ekofish crude oil. *Marine Environmental Research*, **11**, 183-200.
- PAGE D. S. et J. WIDDOWS (1992). Temporal and spatial variation in levels of alkyltins in mussel tissues : a toxicological interpretation of field data. In 3rd International Organotin Symposium, April 1990, Monaco. *Mar. Environ. Res.*, **32**.
- PANDARD P. et P. VASSEUR (1992). Bio-capteurs pour le contrôle de la toxicité des eaux : application des bioélectrodes algales. *Revue des sciences de l'eau*, **5**, 445-461.
- POELS C. L. M. (1975). Continuous automatic monitoring of surface water with fish. *Water Treatment Examination.*, **24**, 46-56.

- POELS C. L. M. (1977). An automatic system for rapide detection of acute high concentrations of toxic substances in surface water using trout. In: CAIRNS, Dickson I Westlake (Eds). *Biological monitoring of water and effluent quality*. ASTM, STP607, 85-95.
- PRICE D. R. H. (1978). Fish as indicators of water quality. *J. Wat. Pollut. Control. fed.*, 285-296.
- RIVIERE J.L. (1993). Les animaux sentinelles. *Courrier de l'INRA*, n° 20, 59-67.
- SALANKI J. et L. VARANKA, (1976). Effect of copper and lead on the activity of the freshwater mussel. *Annal. Biol. Tihany*, 43, 21-27.
- SALANKI J. et L. VARANKA, (1978) - Effect of some insecticides on the periodic activity of the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Acta. Biol. Acad. Sci. Hung.* 29, 173-180.
- SALANKI J., T.M. TURPAEV et M. NICHAEVA (1991). Mussels as a Test Animal for Assessing Environmental Pollution and the Sublethals Effects of Pollutants. Bioindicators and environmental management. Jeffrey and Madden (eds), 235-244.
- SALAZAR M.H. et S. M. SALAZAR (1992). Mussels as bioindicators : effects of TBT on survival, bioaccumulation and growth under natural conditions. In M. A. Champ and P.F. Seligman eds. , TBT environmental fate and effects, part 3. Elsevier Science Publishers, B.V., New York.
- SCHLUBACH J. (1993). Bio-indicateurs de pollution. *Ingénieurs de la vie*, 429, 75-78.
- SCHURING B. J. et M. J. GEENSE, (1972). Een elektronische schakeling voor het enregisteren van de popeningshoek van de mossel *Mytilus edulis* L.. Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek (TNO, Delft) Report CL 72/47, 9 pp.
- SHIEL W.K. et C.J. YEE (1985). Microbial toxicity monitor for in situ continous applications. *Biotechnology and Bioengineering*, 27, 1500-1506.
- SHUMWAY, S. E. (1977). the effects of fluctuating salinity on the osmotic pressure and Na^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations in the haemolymph of bivalves. *Marine biology*, 41, p 153-177.
- SLOOFF W., D de ZWART et J. M. MARQUENIE (1983). Detection limits of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 30, 400-405.
- SPARKS R.E., J. CAIRNS, R.A. McNABB et G. SUTER (1972). Monitoring zinc concentrations in water using the respiratory response of Bluegills (*Lepomis macrochirus*). *Hydrobiologia*, 40, 361-369.
- SPOOR, W. A., T.W. NEIHEISEL et R.A. DRUMMOND (1971). An electrode chamber for recording respiratory and other movements of free swimming animals. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1, 22-28.
- STROMGREN T. (1982). Effects of heavy metals (Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni) on the length growth of *Mytilus edulis*. *Mar. Bio*, 72, 69-72.
- STROMGREN T. (1986). The combined effect of copper and hydrocarbons on the length growth of *Mytilus edulis*. *Mar. Envir. Res.*, 19, 251-258.
- STROMGREN T. et T. BONGARD (1987). The effects of tributyltin oxide on the growth of *Mytilus edulis*. *Mar. Pollut. Bull*, 18, 30-31.
- SUTEAU P. (1987). Biotransformation des xénobiotiques liposolubles chez un bivalve marin : recherche intégrée pour la définition d'un test de toxicité. Thèse de Doctorat, Biochimie, Bordeaux I, 212 p.
- THAIN J.E. (1983). The acute toxicity of bis, tributyltin oxide to the adults and larvae of some marine organisms. ICES, CM 1983/E : 13.
- THOMPSON R.J. et B.L. BAYNE (1972). Active metabolism associated with feeding in the mussel *Mytilus edulis*. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 9, 11-124.
- TRUEMAN E.R. (1967). Activity and heart rate of bivalve molluscs in their natural habitat. *Nature*, London, 214, 832-833.
- VAN DER SCHALIE W. et M. ZEEMAN (1988). Ventilation an movement responses of rainbow trout exposed to 1,3,5 trinitrobenzene in an automated biomonitoring system. In *Automated biomonitoring : living sensors as environmental monitors*. Ellis Horwood, Chichester, 49-64.

- VAN HOOFF F. (1980). Evaluation of an automatic system for detection of toxic substances in surface water using trout. *Bulletin of environmental Contamination and Toxicology*, **25**, 221-225.
- VERO M. et T. MILLER (1979). Sensitive tension and force transducer. *Medical and biological Engineering and computing*, **17**, 662-666.
- VERO M. et J. SALANKI (1969). Inductive attenuator for continuous registration of rhythmic and periodic activity of mussels in their natural environment. *Med. and biol. Engng.*, **7**, 235-237.
- VIARENGO A. et L. CANESI (1991). Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, **94**, 225-243.
- VINDIMIAN E. et J. GARRIC (1993). Bio-essais et bio-indicateurs de toxicité dans le milieu naturel. Rapport CEMAGREF Lyon pour les Agences de l'Eau et le Ministère de l'Environnement, 120 p.
- VIVARES C. (1990). Consommer des coquillages est il dangereux ? *Larecherche*, **22**, **228**, 120-128.
- WALLER W. et CAIRNS J. (1972). The use of fish movement patterns to monitor zinc in water. *Water research*, **6**, 257-269.
- WIDDOWS J. et BAYNE B. J. (1971). Temperature acclimation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **51**, 827-843.
- WIDDOWS J. et P. DONKIN (1992). Mussels and Environmental contaminants : bioaccumulation and physiological aspects. The *Mussel Mytilus* - Gosling Eds., 383-420.
- WIDDOWS J, P. DONKIN et S.V. EVANS (1987b). Physiological responses of *Mytilus edulis* during chronic oil exposure and recovery. *Mar. Environ. Res.*, **23**, 15-32.
- WIDDOWS J, P. FIETH et C.M. WORRAL (1979). Relationship between seston, available food and feeding activity in the common *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **50**, 195-207.
- WIDDOWS J et D. JOHNSON (1988). Physiological energetics of *Mytilus edulis* : scope for growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **46**, 113-121.
- WIDDOWS J, D.K. PHELPS et W. GALLOWAY (1981). Measurement of physiological condition of mussels transplanted along a pollution gradient in Narragansett Bay. *Mar. environ. Res.*, **4**, 181-194.
- WINBERG G.G. (1960). Rate of metabolism and food requirement of fishes. *Transl. Ser. Fish. Res. Board Can.*, **194**, 1-202.
- WINTER J.E. (1973). The filtration rate of *Mytilus edulis* and its dependence on algal concentration, mesured by a continous automatic recording apparatus. *Marine Biology*, **22**, 317-328.

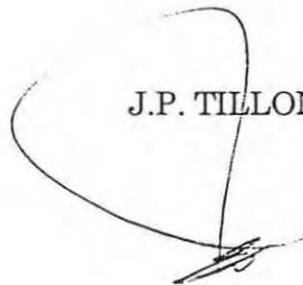
Vu : Le Professeur Rapporteur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire
de Nantes

Professeur

J. Le Bon


Vu/Le Directeur de l'Ecole
Nationale Vétérinaire
de Nantes

J.P. TILLON



Vu : Le Président de la Thèse

Professeur



H. Marijot

Vu : Le Doyen de la Faculté
de Médecine de Nantes

Professeur J.Y. GROLLEAU

Vu et permis d'imprimer