AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

U.F.R. Sciences et Techniques Biologiques

Ecole Doctorale Biologie et Santé de Nancy

Laboratoire de Biologie Appliquée / Aquarium du Musée de Zoologie

BIBLIOTHEQUE SCIENCES UNIVERSITE NANCY 1

THESE

présentée pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARE, NANCY I

Spécialité : Biologie des organismes

par Marielle THOMAS

BIODETECTION EN TEMPS REEL

Contribution à la réalisation d'un nouveau système de détection biologique précoce de la pollution des eaux de surface, fondé sur l'exploitation des décharges autostimulatrices d'un poisson électrique tropical : *Apteronotus albifrons* (Apteronotidae - Gymnotiformes)

Soutenue publiquement le 1 février 1996 devant la commission d'examen :

Membres du jury : M. Jean-Claude BLOCK (Président)
M. Jean-Pierre DENIZOT (Rapporteur)
Mlle Paule VASSEUR (Rapporteur)
M. Denis TERVER (Directeur de thèse)
M. Christian GRAFF (Examinateur)
M. Bertrand KRAFFT (Examinateur)

Membres invités : M. André GEORGES
M. Frank KIRSCHBAUM
M. Jean-Pierre SCHMITT

Laboratoire de Biologie Appliquée - Aquarium Tropical
34, rue Sainte Catherine - 54000 Nancy

REMERCIEMENTS

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance aux nombreuses personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail. Tout particulièrement, je voudrais remercier M. André Georges, Professeur Emérite, Directeur du Laboratoire de Biologie Appliquée, et M. Denis Terver, Maître de Conférences, Directeur adjoint du Musée de Zoologie et de l'Aquarium Tropical (Université Henri Poincaré - Nancy I, Ville de Nancy), qui m'ont toujours accordé leur confiance et m'ont donné tous les moyens nécessaires au bon déroulement de cette étude.

Je suis heureuse que Jean-Claude Block, Professeur au Laboratoire Santé et Environnement (Faculté de Pharmacie - Université Henri Poincaré), m'ait fait l'honneur de participer au jury de cette thèse. Je l'en remercie vivement.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à M. Jean-Pierre Denizot, Chargé de recherche à l'Institut Alfred Fessard (CNRS) et à Paule Vasseur, Professeur au Centre des Sciences de l'Environnement (Université de Metz), pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens également à remercier tout particulièrement M. Bertrand Krafft, Professeur au Laboratoire de "Biologie et Physiologie du Comportement" (Faculté des Sciences - Université Henri Poincaré), qui a très amicalement accepté de faire partie du jury de cette thèse.

Je souhaiterais aussi adresser mes plus sincères remerciements à M. Christian Graff, Maître de Conférences en Neurosciences au Laboratoire de Biologie du Comportement (Université Pierre Mendès-France). Je me souviens de l'intérêt qu'il avait manifesté pour ce travail, lors d'un colloque.

Au travers de ces quelques lignes, j'aimerais aussi exprimer ma gratitude à toute l'équipe du Centre International de l'Eau de Nancy (Nan.c.i.e.).

Tout particulièrement, je remercie M. Claude Gaillard, Président du Nan.c.i.e., et M. Patrick Faivre, Directeur Général, pour la confiance qu'ils m'ont accordée.

Je suis très reconnaissante à M. Alain Marchand, Délégué Général du Pôle de l'Eau, et à Vincent Gauthier, qui les premiers ont cru en ce projet et l'ont soutenu. Je les remercie pour l'intérêt qu'ils ont toujours manifesté pour mon travail.

Je remercie aussi très sincèrement Jean-Pierre Schmitt, Directeur du Service Recherche-Transfert-Innovation, Thierry Coulomb, Directeur Général Adjoint et Anne-Laure Henry, Chargée d'étude, qui ont participé au bon déroulement de cette étude et chez qui j'ai eu souvent l'occasion d'apprécier compétence et dynamisme.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Valérie Dautrement et à Béatrice Nester pour leur sympathique contribution aux tâches les plus variées, ainsi qu'à l'ensemble du personnel du Nan.c.i.e.

Je remercie très sincèrement M. Bruno Condé, Professeur Emérite, Directeur du Musée de Zoologie, pour les informations précieuses qu'il m'a régulièrement apportées, en particulier sur la systématique des poissons électriques.

J'adresse mes plus vifs remerciements à M. Frank Kirschbaum, Professeur (Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Berlin), pour avoir répondu très spontanément et très gentiment à mon invitation et pour les précieux conseils qu'il m'a apportés pour de futures recherches.

Je suis très reconnaissante à M. Jean-Claude Fort, Professeur au Département de Mathématiques (Université Henri Poincaré - Nancy I), pour ses précieux conseils sur les traitements mathématiques et analyses statistiques.

Le bon déroulement de cette étude était suivi au travers d'un comité de pilotage mis en place par le Nan.c.i.e.. Faisaient partie de ce comité de pilotage,
- le District de l'Agglomération de Nancy, représenté par M. Munsch,
- l'Agence de l'eau Rhin-Meuse, représentée par M. Pastant, puis par Mme Cencic,
- et la Société Nancéienne des Eaux, représentée par M. Lukaszka et M. Blachere.
Je voudrais témoigner à toutes ces personnes ma profonde gratitude pour leur aide amicale et les conseils précieux qu'ils m'ont prodigués.

Je remercie très sincèrement M. Michel Morlot et M. Christophe Rosin, du Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique (Université Henri Poincaré - Nancy I), qui ont mis tous les moyens du laboratoire à ma disposition. J'ai beaucoup apprécié leurs conseils et j'associe à ces remerciements toute l'équipe de laborantines qui ont participé activement à cette collaboration.

La qualité des illustrations doit beaucoup au talent et à la patience de Bruno Alenda et d'Astrid Schwaller ; je les remercie très chaleureusement.

J'adresse ma profonde reconnaissance à Pascal Fontaine et à Lakhdar Tamazouzt pour leurs conseils et leurs encouragements. Je remercie aussi l'ensemble du personnel du Laboratoire de Biologie Appliquée, de l'Aquarium Tropical et du Musée de Zoologie.

Je souhaite aussi exprimer mes remerciements à M. Christian Faivre, directeur de *ER Ingénierie*, pour la confiance qu'il accorde à ce travail et qu'il concrétisera prochainement avec la réalisation industrielle du système développé dans cette étude.

Enfin que mes parents trouvent ici l'aboutissement d'un travail auquel ils ont grandement participé au travers de tout ce qui ne saurait être exprimé ici.

Parce qu'ils ont occupé une place essentielle dans la réalisation de ce travail, je souhaite remercier de façon toute particulière mes collègues et amis,

ANDRE FLORION et DIDIER CHRETIEN

Je n'oublie pas qu'André Florion, Professeur de philosophie et inventeur de l'horloge à poisson électrique, fut le premier à avoir l'idée d'exploiter les émissions électriques des poissons pour surveiller la qualité des eaux. Il m'a fait découvrir les poissons électriques, heureux mariage de ses deux passions, l'aquariophilie et l'électronique. Son aide de tous les jours, en particulier sa contribution dans la réalisation des cartes électroniques, et ses précieux conseils m'ont permis de progresser dans ce travail.

Je me rappelle aussi les nuits blanches que Didier Chrétien a passées pour développer le logiciel informatique. Sa grande créativité et sa compétence furent essentielles à la réalisation de cette étude. Je voudrais dire aussi combien j'ai apprécié sa disponibilité et sa promptitude à répondre efficacement à tous les petits et grands problèmes.

L'enthousiasme et l'humour de ces deux personnes ont contribué à rendre très agréable le déroulement de cette étude. Je les remercie très chaleureusement pour tout.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS 11

INTRODUCTION 12

CHAPITRE 1

ETUDE CRITIQUE DES SYSTEMES DE DETECTION BIOLOGIQUE PRECOCE DES POLLUTIONS DES EAUX DE SURFACE

1.1. Historique et définition 20

1.2. Applications - Sites d'utilisation 21

1.3. Caractéristiques des biodétecteurs 23

1.4. Choix des réactifs biologiques 23

1.5. Présentation des biodétecteurs selon la nature du réactif biologique 26

1.5.1. Les poissons 26
1.5.1.1. Critère de létalité 26
1.5.1.2. Critère comportemental 26
1.5.1.2.1. Réactions de fuite - Préférence / Evitement 26
1.5.1.2.2. Comportement locomoteur 27
1.5.1.2.3. Rhéotaxie 29
1.5.1.3. Critère physiologique 30
1.5.1.4. Critère électrique 31

1.5.2. Les mollusques bivalves 32

1.5.3. Les crustacés et les larves d'insectes 33

1.6. Présentation des biocapteurs selon le principe développé 35

1.6.1. Bioluminescence 35

1.6.2. Activité photosynthétique 37

1.6.3. Activité dénitrifiante 38

1.6.4. Activité respiratoire 38

1.6.5. Autres biocapteurs 39

1.7. Analyse des données 40

1.8. Performances des systèmes biologiques d'alerte précoce 41

1.9. Analyse critique des biodétecteurs 43

1.10. Conclusion et problématique 47

CHAPITRE 2

MATÉRIELS ET MÉTHODES
-
DESCRIPTION GÉNÉRALE DU BIODÉTECTEUR DÉVELOPPÉ DANS CETTE ÉTUDE

2.1. Introduction 50

2.2. Matériel biologique 50

2.2.1. Systématique 50

2.2.2. Répartition biogéographique 51

2.2.3. Description morpho-anatomique - Biologie 52

2.2.4. Système électro-sensorimoteur 53
2.2.4.1. Introduction 53
2.2.4.2. Electrogenèse 55
2.2.4.3. Electroréception 57
2.2.4.4. Caractéristiques de la décharge électrique de l'aptéronote 59

2.3. Matériel expérimental : le système thermo-hydraulique 62

2.4. Méthodes de recueil et de traitement de l'information bioélectrique 65

2.4.1. Montages électroniques 65

2.4.2. Procédé et exploitation informatique 66

CHAPITRE 3

ETUDE DE L'INFLUENCE DE PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES SUR L'ACTIVITE ELECTRIQUE D'*APTERONOTUS ALBIFRONS*

3.1. Introduction 69

3.2. Matériel et méthodes 71

3.2.1. Matériel biologique 71

3.2.2. Protocole expérimental 72
3.2.2.1. La température 72
3.2.2.2. Le pH 73
3.2.2.3. La conductivité 73
3.2.2.4. L'oxygène dissous 74

3.2.3. Analyse statistique 74

3.3. Résultats 76

3.3.1. Influence de la température sur les caractéristiques bioélectriques 76
3.3.1.1. Fréquence de décharge 76
3.3.1.2. Forme du signal 79

3.3.2. Influence du pH sur les caractéristiques bioélectriques 80
3.3.2.1. Fréquence de décharge 80
3.3.2.2. Forme du signal 84

3.3.3. Influence de la conductivité sur les caractéristiques bioélectriques 86
3.3.3.1. Fréquence de décharge 86
3.3.3.2. Forme du signal 87

3.3.4. Influence de la concentration en oxygène dissous sur les caractéristiques bioélectriques 88
3.3.4.1. Fréquence de décharge 88
3.3.4.2. Forme du signal 89

3.4. Discussion 90

3.4.1. La température 90

3.4.2. Le pH 93

3.4.3. La conductivité 95

3.4.4. La concentration en oxygène dissous 97

3.5. Conclusion 98

CHAPITRE 4

ETUDE DE L'INFLUENCE DE SUBSTANCES TOXIQUES SUR L'ACTIVITE ELECTRIQUE D'*APTERONOTUS ALBIFRONS*

4.1. Introduction 100

4.2. Matériel et méthodes 100

4.2.1. Matériel biologique 100

4.2.2. Les substances toxiques testées 101
4.2.2.1. Le cyanure de potassium (KCN) 103
4.2.2.2. Le phénol (C_6H_5OH) 104
4.2.2.3. L'atrazine (Atraphyt EL) 104
4.2.2.4. Le trichloroéthylène 105
4.2.2.5. Le chrome hexavalent ($K_2Cr_2O_7$) 105
4.2.2.6. Le gazole 105

4.2.3. L'unité expérimentale 106

4.2.4. L'eau de dilution 106

4.2.5. La procédure des essais toxicologiques 107

4.2.6. L'exploitation mathématique des résultats 109
4.2.6.1. Echantillonnage des données 109
4.2.6.1.1. Fréquence des EOD 109
4.2.6.1.2. Forme des EOD 110
4.2.6.2. Lissage de la courbe 110
4.2.6.3. Calcul des pentes 110
4.2.6.4. Définition des limites supérieures et inférieures 111
4.2.6.4.1. Fréquence des EOD 111
4.2.6.4.2. Forme des EOD 111
4.2.6.5. Attribution d'un rang, d'une déviation et d'un degré 111
4.2.6.6. Critères d'alarme 113

4.2.7. Organigramme récapitulatif du protocole expérimental 115

4.3. Résultats 116

4.3.1. Performances de détection du cyanure de potassium 116
4.3.1.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 116
4.3.1.1.1. Fréquence des EOD 116
4.3.1.1.2. Forme des EOD 119
4.3.1.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 124

4.3.2. Performances de détection du phénol 125
4.3.2.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 126
4.3.2.1.1. Fréquence des EOD 126
4.3.2.1.2. Forme des EOD 130
4.3.2.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 133

4.3.3. Performances de détection de l'atrazine 135
4.3.3.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 135
4.3.3.1.1. Fréquence des EOD 135
4.3.3.1.2. Forme des EOD 140
4.3.3.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 141

4.3.4. Performances de détection du trichloroéthylène 144
4.3.4.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 144
4.3.4.1.1. Fréquence des EOD 144
4.3.4.1.2. Forme des EOD 147
4.3.4.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 150
4.3.4.3. Influence d'intoxications successives au trichloroéthylène sur les performances de détection des aptéronotes 151
4.3.4.3.1. Fréquence des EOD 151
4.3.4.3.2. Forme des EOD 153

4.3.5. Performances de détection du chrome hexavalent 154
4.3.5.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 154
4.3.5.1.1. Fréquence des EOD 154
4.3.5.1.2. Forme des EOD 158
4.3.5.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 160

4.3.6. Performances de détection du gazole 161
4.3.6.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1 162
4.3.6.1.1. Fréquence des EOD 162
4.3.6.1.2. Forme des EOD 166
4.3.6.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2 174

4.3.7. Les fausses alarmes 175

4.4. Discussion 178

4.4.1. Sensibilité et rapidité des réponses 178
4.4.1.1. Le cyanure de potassium 179
4.4.1.2. Le phénol 183
4.4.1.3. L'atrazine 186
4.4.1.4. Le trichloroéthylène 189

4.4.1.5. Le chrome hexavalent 191
4.4.1.6. Le gazole 194

4.4.2. Fiabilité et crédibilité de l'information collectée 199

4.4.3. Variabilité intraspécifique 204

4.4.4. Mécanismes toxicologiques 207

4.5. Conclusions 212

CONCLUSION GENERALE - PERSPECTIVES 214

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 221

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS 240

AVANT-PROPOS

Nous présentons dans cette étude un nouveau système de détection biologique de pollutions accidentelles des eaux de surface, fondé sur une exploitation en temps réel de signaux électriques engendrés par des poissons tropicaux.

Cette recherche s'inscrit dans le cadre d'une convention CIFRE signée entre le Centre International de l'eau de Nancy (Nan.c.i.e.) et le Laboratoire de Biologie Appliquée (L.B.A.) de l'Université Henri Poincaré (Nancy I). Ce travail a bénéficié par ailleurs d'une aide financière de la part du District de l'Agglomération Nancéienne, de l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse et du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.

A l'origine, une première étude[1], dont l'objectif était de définir la sensibilité de truites arc-en-ciel aux hydrocarbures, avait été entreprise au Laboratoire de Biologie Appliquée, au cours des mois de juillet à septembre 1991. Ce travail, réalisé sur la commande du District de l'Agglomération de Nancy et la Société Nancéienne des Eaux, devait évaluer les potentialités de détection d'une pollution des eaux de surface par des hydrocarbures, avec le système de biodétection utilisé au niveau de la station d'alerte de Messein. Le principe de ce biodétecteur est fondé sur la capacité de nage à contre-courant de truitelles, réponse comportementale normalement perturbée lors de l'arrivée d'une vague de pollution. Les conclusions de l'étude montrèrent très clairement qu'en cas de pollution de la Moselle par du gazole, l'aptitude des truites à donner l'alerte était quasiment nulle. Ce travail augurait mal alors de la crédibilité d'un tel système envers d'autres types de polluants. Nous attirions l'attention dans cette étude sur le fait que les truites bénéficiaient d'une réputation d'espèce sensible, en oubliant que si ce poisson n'est pas présent dans des eaux de mauvaise qualité, cette absence ne constitue pas une réponse à court terme à une éventuelle pollution, mais correspond davantage à un processus à moyen voire long terme. Ce problème de sensibilité est d'autant plus aigu que nous avons recours à des poissons provenant d'élevages intensifs, qui favorisent très probablement l'obtention de souches plus résistantes aux conditions du milieu environnant. Aussi est-ce l'ensemble de ces considérations qui a conduit le Laboratoire de Biologie Appliquée à proposer un nouvel axe de recherche, avec le recours à une nouvelle espèce dans le domaine de la toxicologie : *Apteronotus albifrons*, poisson tropical électrogène, pour la détection de pollution des eaux de surface. C'est le sujet de notre travail, que nous présentons maintenant.

---

[1] : Thomas M. (1991). Examen préliminaire traitant de la sensibilité de truites arc-en-ciel aux hydrocarbures. Application à la détection d'une pollution accidentelle dans les stations de pompage des eaux de surface destinées à la consommation. 43 pages.

INTRODUCTION

L'eau est la substance minérale la plus répandue à la surface du globe et la plus essentielle à la vie. Son volume est estimé à 1 370 millions de km^3. Non seulement elle constitue le principal composant du protoplasme cellulaire, mais elle représente les deux tiers du poids de l'homme et jusqu'aux neuf dixièmes du volume des végétaux. Aussi ce constituant majeur est-il surtout **synonyme de vie biologique**.

La simplicité de sa formule chimique, H_2O, contraste avec la **pluralité de ses fonctions** au sein de notre société. L'ensemble des usages domestiques, industriels et agricoles auquel l'eau répond, révèle en effet jusqu'à quel point l'eau peut se définir comme le vecteur privilégié de la vie et de l'activité humaine. Elle est un élément social, elle peut être un instrument politique. De tous les usages de l'eau, la **distribution de l'eau potable** est celui qui mobilise certainement le plus d'attention. Les besoins en eau de l'humanité augmentent avec le niveau de développement économique du pays. Aussi leurs disparités sont-elles significatives : la consommation en eau, tous usages confondus, varie de 100 m^3 par an et par habitant pour les pays en voie de développement à 1 500 m^3 pour les pays les plus industrialisés.

La considération de ces données, aussi bien d'un point de vue biologique et écologique, que social ou économique, nous permet de juger de **l'importance des démarches qui visent à la protection et à la surveillance des écosystèmes aquatiques en général**. En effet, les ressources en eau sont, corollaire obligé, sujettes à des risques croissants de pollution. Dans ce contexte, soulignons que la qualité de l'eau est une notion subjective, qui se réfère à un objectif d'utilisation ou de préservation du milieu. L'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) a fourni en 1961 la définition suivante de la pollution des eaux douces :

> "*Un cours d'eau est considéré comme étant pollué lorsque la composition ou l'état des eaux sont directement ou indirectement modifiés du fait de l'activité de l'homme dans une mesure telle que celles-ci se prêtent moins facilement à toutes les utilisations auxquelles elles pourraient servir à leur état naturel ou à certaines d'entre elles.*"

Cette définition est une perception environnementaliste du problème de la qualité de l'eau ; elle inclut les modifications des propriétés physiques et chimiques aussi bien que biologiques de cette ressource.

L'eau en général et plus encore celle destinée à la consommation humaine doit satisfaire à des **exigences de qualité** toujours plus strictes. Si les traitements appliqués sont aujourd'hui relativement bien maîtrisés, leurs performances sont assujetties en partie à la qualité des eaux brutes. Malheureusement, celle-ci est très variable, ce qui complique nécessairement la gestion

des installations de production d'eau potable. De plus, la vulnérabilité des ressources s'accentue avec l'augmentation de l'activité humaine. On recense généralement 3 sources essentielles de pollution des eaux potables : les industries en amont des stations de traitement, les transports à proximité des voies d'eau et le sabotage. Les dégradations de la qualité des eaux brutes peuvent avoir diverses conséquences : un arrêt momentané de la production, voire même de la distribution d'eau potable, la production d'une eau de mauvaise qualité ou encore une augmentation du coût de production de cette eau. Cette situation appelle en conséquence une **surveillance étroite de la qualité de l'eau**. A terme, cela doit exiger une évaluation des risques potentiels de pollution, une détection en temps réel des variations de la qualité des eaux et une protection des unités de traitement. Longtemps, cette surveillance s'est concrétisée par une **approche exclusivement physico-chimique**. Un échantillonnage périodique de l'eau, son transfert au laboratoire puis une analyse chimique permettent alors la collecte d'informations nécessaires quant à une définition de la qualité du milieu. Ceci est réalisé au moyen de méthodes ionométrique, potentiométrique, ampérométrique, spectrophotométrique, chromatographique, etc... Ce mode de surveillance révèle les résultats des tests à un instant différé par rapport au moment du prélèvement. Aussi la principale critique que nous pouvons formuler touchant cette approche est qu'elle ne permet pas toujours une intervention *in situ* pertinente, compte tenu des délais parfois nécessaires au recueil de l'information.

Face à cette limite essentielle, les stations de surveillance se sont progressivement équipées de **capteurs**, qui permettent un suivi continu ciblé sur un facteur donné. Elles contrôlent des paramètres classiques tels que température, pH, turbidité, oxygène dissous, conductivité, carbone organique total, ammoniaque, nitrite, nitrate, ... Certains capteurs, plus récents, permettent de détecter la présence de polluants potentiels, comme par exemple les hydrocarbures, les métaux (plomb, cadmium, cuivre, zinc, nickel, chrome). Notons cependant qu'un enregistrement continu est irréalisable pour beaucoup de substances xénobiotiques. Parfois même l'analyse est impossible. Selon Botterweg *et al.* (1989), nous pouvons détecter de façon routinière 150 à 200 substances, ce qui est évidemment peu en considération du nombre de composés chimiques existant lequel, qui plus est, croît d'année en année. Par ailleurs, outre l'impossibilité technique d'une analyse complète de l'ensemble des paramètres physiques et chimiques, se posent des problèmes de coût et de maintenance de tels procédés de contrôle. On ne peut raisonnablement pas envisager de développer un capteur pour chaque substance potentielle dans l'écosystème aquatique.

Aussi le problème de la surveillance de la qualité des eaux s'avère-t-il complexe ; il l'est d'autant plus que les méthodes chimiques présentent des limites d'utilisation du fait même de leur principe de fonctionnement. Certaines questions en effet surgissent, comme par exemple de savoir comment détecter et doser une substance en cas de dégradation partielle ou

d'absorption sur un substrat ? Ou bien encore, comment appréhender les effets cumulatifs, synergiques, ... de différentes substances réagissant entre elles ? Comment aborder le problème des micropolluants, substances qui interviennent à des doses infimes dans la pollution des eaux et qui sont très difficiles à mettre en évidence par les procédés d'analyses habituelles ? *etc*...

Aussi le caractère spécifique du suivi physico-chimique ne permet-il qu'une extrapolation limitée, alors qu'une méthodologie plus globale serait souhaitable. L'interaction de substances, le nombre croissant de toxiques, la présence de composés au-dessous des seuils de détection des analyses chimiques, ... autant d'arguments qui appellent la notion d'intégration de l'ensemble des effets des paramètres physiques et chimiques. C'est la raison pour laquelle il apparaît aujourd'hui incontournable de coupler les données physiques et chimiques à des **informations biologiques** (Cairns et Gruber, 1979 ; Gruber *et al.*, 1980 ; Morgan *et al.*, 1981). Ces dernières sont essentielles et il existe dans ce domaine plusieurs types d'investigations, ayant des objectifs propres à chacune, qui sont précisément :

1. UNE EVALUATION : C'est l'*analyse des communautés naturellement présentes* au sein d'un écosystème. Elle permet une évaluation des conditions de ce milieu. Patrick (1949) est le pionnier de ce concept qui vise à la détermination du degré de pollution à partir d'**indices biologiques**. Ceux-ci peuvent être fondés sur une seule catégorie d'organismes, les macro-invertébrés généralement, récoltés directement sur le terrain, témoins de l'état fonctionnel et de la qualité de l'écosystème aquatique. Notons que la présence d'une espèce nous informe que certaines conditions minimales sont rencontrées, alors que la signification de l'absence d'une espèce est considérablement plus difficile à déterminer (Cairns, 1974) : cette espèce est absente soit parce que les conditions environnementales sont impropres, soit parce qu'elle n'a pas été introduite dans ce milieu où elle pourrait vivre si on l'y plaçait. De même, la structure du peuplement, exprimée notamment par la richesse spécifique (nombre d'espèces) et les abondances-dominances des taxons, révèle l'état d'équilibre et de complexité de la communauté. Cependant avant de pouvoir conclure à l'existence d'une perturbation, il est nécessaire de connaître l'état "normal" de cet équilibre. En somme, nous pouvons distinguer différentes approches : la première concerne les méthodes basées sur les **saprobies**, qui s'appuient sur la notion d'espèces indicatrices telles que les macro-invertébrés, les protozoaires et les diatomées (Sladecek, 1969). La deuxième approche est l'étude des **indices biotiques**, qui tiennent compte à la fois des notions de groupes indicateurs et de richesse en taxons (Verneaux et Tufféry, 1967). A titre d'exemple, il existe une norme expérimentale pour la détermination de l'indice biologique global généralisé (norme AFNOR T 90-350, 1992). Enfin, des indices plus fonctionnels, basés sur des paramètres synthétiques de structure de peuplement, comme la **diversité taxinomique** (Cairns et Dickson, 1971) peuvent être évalués.

2. UNE PREDICTION : Ce sont *les tests de toxicité*. Il s'agit essentiellement d'une approche de laboratoire mais ces tests sont aussi parfois réalisés *in situ*. Ils permettent de détecter la présence d'éléments toxiques par l'étude de la mort, de modifications métaboliques ou comportementales d'un "matériel" biologique et donc d'en mesurer les risques. Ceci passe par la mise en place de **tests de toxicité soit aiguë, soit chronique**. Dans ce contexte, une petite précision s'impose quant à la définition des toxicités aiguë et chronique ; la première détermine des effets d'une ou plusieurs substances sur des organismes après un court temps d'exposition, inférieur à 4 jours selon Parrish (1985). En contrepartie, une toxicité chronique se développe après une exposition à long terme. Cependant, ces définitions, vraies au sens général, sont par trop imprécises pour être satisfaisantes. En effet, il est fondamental d'intégrer la notion de durée de vie des organismes pour approcher avec justesse un tel problème. Ainsi une durée d'exposition de 4 ou 5 jours à un toxique est considérée comme un test de toxicité aiguë pour les poissons, mais peut déjà provoquer des effets chroniques sur des micro-organismes dont le cycle de vie est plus court. Aussi actuellement observons-nous, aussi bien pour des raisons pratiques qu'économiques, le développement d'essais chroniques rapides, notamment pour l'évaluation de la toxicité des effluents (Garric *et al.*, 1992). L'évaluation de la toxicité aiguë est exprimée par des résultats de nature statistique, généralement. Elle correspond à la mesure d'une concentration qui entraîne l'effet recherché sur 50 % des individus (ou dans 50 % des répétitions) en un temps limité (6, 24, 48 ou 96 heures, ...). La concentration s'appelle suivant les cas : concentration inhibitrice (CI 50), concentration efficace (CE 50), concentration létale (CL 50). Ces résultats peuvent également être exprimés par l'évaluation de la plus petite concentration qui entraîne un effet significatif sur les organismes (il s'agit de la LOEC, *i.e.* "Lowest Observed Effect Concentration" ou MTC, *i.e.* "Minimal Threshold Concentration") et également par la concentration maximale n'entraînant aucun effet significatif (on parle alors de la NOEC, *i.e.* "No Observed Effect Concentration"). Parmi les différents tests de toxicité aiguë, nous pouvons citer les essais préconisés par l'Association Française de Normalisation (AFNOR). Il s'agit des déterminations de la concentration d'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Strauss, crustacé, Cladocère (norme AFNOR T 90-301, 1983), de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*, bactérie marine (norme AFNOR T 90-320, 1991) ou encore de la croissance de *Scenedesmus subspicatus*, algue verte (norme AFNOR T 90-304, 1980). Cela peut être aussi la détermination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis du poisson zèbre, *Brachydanio rerio* (norme AFNOR T 90-303, 1978). En ce qui concerne la toxicité chronique, nous pouvons déterminer la concentration maximale d'une substance acceptée par l'organisme pendant une période relativement longue (c'est la MATC, *i.e.* "Maximum Acceptable Toxicant Concentration", moyenne géométrique de la NOEC et de la LOEC). D'une façon générale, les tests de toxicité permettent d'étudier les modes d'action toxiques.

3. UNE DETERMINATION : Cela concerne *les tests de bioaccumulation et de biomagnification* qui étudient plusieurs phénomènes biologiques. Dans ce domaine d'étude, nous évaluons généralement la **bioconcentration**, processus par lequel une substance chimique pénètre dans l'organisme, *via* les branchies ou les tissus épithéliaux, et s'y accumule. Les tests de bioconcentration concernent principalement les substances chimiques hydrophobes, qui tendent à s'accumuler dans les tissus graisseux. Nous déterminons alors le facteur de bioconcentration, rapport entre la concentration moyenne d'une substance accumulée dans les tissus et la concentration moyenne de cette même substance dans le milieu ambiant de l'organisme. Ainsi l'objectif des études de **bioaccumulation** concerne précisément l'évaluation de tels processus de bioconcentration ainsi que des investigations sur l'accumulation de substances chimiques par l'intermédiaire des aliments consommés. D'un autre côté, les tests de **biomagnification** regroupent l'ensemble des processus qui se développent durant les phénomènes de bioconcentration et de bioaccumulation. Il s'agit là d'une approche globale par laquelle nous observons une augmentation de la concentration des substances dans les tissus de l'organisme le long de la chaîne trophique.

4. UNE RECONNAISSANCE : C'est *l'utilisation d'indicateurs biologiques* qui permet d'enregistrer d'éventuelles contaminations du milieu environnemental, avec intégration du facteur temps, par l'étude qualitative et quantitative de substances étrangères (des métaux traces le plus souvent) qui se concentrent dans les tissus des organismes sentinelles. On utilise généralement des espèces sédentaires (bryophytes, moules, ...). Il doit exister pour ce type d'étude une corrélation simple entre la concentration de substances étrangères dans l'organisme et les concentrations de ces mêmes substances dans l'eau. Il est également nécessaire de s'assurer que les conditions environnementales du site étudié n'entraînent pas une absorption atypique de substances dans l'organisme. Globalement, le recours à des **indicateurs biologiques** doit permettre d'identifier des zones de pollution, de surveiller les rejets industriels, de s'assurer de l'efficacité de mesures de restauration du milieu dégradé, ...

5. UNE SURVEILLANCE : Cela intéresse *les systèmes d'alerte biologique précoce* - ou *biodétecteurs* - qui sont principalement caractérisés par leur capacité de fournir une information rapide sur la toxicité éventuelle d'effluents et de faciliter la détection de décharges accidentelles de substances étrangères dans le milieu. Cela concerne généralement l'étude des effets sublétaux. Ces derniers peuvent être d'ordre biochimique, physiologique, comportemental, histologique, ... Les activités liées à ce type d'investigation sont la surveillance des effluents industriels et des eaux brutes destinées à la production d'eau potable. Ce dernier point caractérise l'objet de la présente étude, dont l'ambition est la mise au point d'un nouveau **système de détection biologique précoce** de pollutions des eaux de surface.

S'intéresser un tant soit peu aux systèmes de détection biologique précoce, c'est prendre très vite conscience de la multiplicité des procédés, multiplicité qui s'exprime aussi bien du point de vue des organismes utilisés que de celui des principes développés. Aussi la première question qui se pose est-elle la suivante : pourquoi recourir à une nouvelle approche compte tenu de l'arsenal de systèmes déjà existants ? Répondre à cette question sera un des objectifs du premier chapitre. Celui-ci s'articulera globalement autour de deux axes. Le premier concernera une étude descriptive des principes et des limites des divers systèmes de biodétection. Le second axe sera une discussion plus générale sur le concept de tels systèmes et sur les informations qu'ils nous apportent par rapport à ce qu'on en attend. Ce premier chapitre est une partie introductive pour réaliser un **état de l'art de ce domaine de recherche** et identifier **les limites actuelles des biodétecteurs**, ce qui caractérisera à terme, la véritable problématique de notre étude.

Nous entrerons dans le vif du sujet, lors du deuxième chapitre. Celui-ci sera consacré à la **présentation du biodétecteur**, objet de notre recherche, fondé sur la caractérisation automatique et en temps réel des signaux électriques engendrés par un poisson tropical. Ce chapitre "matériel et méthodes" sera abordé sous différents angles, biologique, hydraulique, informatique, électronique et mathématique.

L'un des problèmes majeurs rencontrés avec les biodétecteurs est celui des interférences de facteurs physico-chimiques sur les réponses biologiques enregistrées. Aussi allons-nous étudier dans un troisième chapitre l'**influence de certains paramètres physiques et chimiques sur le signal électrique du poisson**.

Compte tenu de ce que l'espèce ichtyaire retenue dans notre étude n'a jamais été sollicitée dans ce domaine, nous dresserons dans un quatrième chapitre, le **profil de sensibilité toxicologique** du poisson vis-à-vis de 6 polluants de différentes natures et représentatifs des risques majeurs de pollutions accidentelles encourus par la Moselle.

Enfin nous conclurons ce travail, sans oublier une **présentation des perspectives futures** et notamment des améliorations nécessaires à réaliser pour un développement approprié du système, en regard des conditions réelles d'utilisation.

CHAPITRE 1

ETUDE CRITIQUE

DES SYSTEMES DE DETECTION BIOLOGIQUE PRECOCE DES POLLUTIONS DES EAUX DE SURFACE

1.1. Historique et définition

Dès la fin des années 1960, apparaissent les premiers systèmes qui utilisent comme capteurs des organismes vivants, pour collecter des informations sur la qualité de l'eau. Celle-ci est alors mesurée continuellement et automatiquement, en vue d'une surveillance des effluents industriels. Très rapidement, la poursuite des recherches conduisit au développement de systèmes biologiques d'alerte précoce. Dans cette étude, nous les dénommerons sous le terme générique de "*biodétecteurs*"[1]. Ces systèmes sont alors utilisés non seulement pour surveiller la qualité de l'eau mais aussi pour permettre d'entreprendre des mesures correctives lorsqu'une alarme est déclenchée. A ce niveau de développement, le champ d'intervention des biodétecteurs s'est élargi aux eaux brutes destinées à la consommation humaine et plus généralement aux eaux de surface.

Les biodétecteurs se positionnent donc aujourd'hui comme un outil indispensable à la surveillance des milieux aqueux. Ils ne remplacent pas pour autant les contrôles classiques par voie chimique. Au contraire, ils viennent les compléter, en permettant par exemple de prévoir des interactions possibles de nature cumulative ou synergique, ... de diverses substances, même à des concentrations sublétales. En somme, **nous définissons les biodétecteurs comme tout système dévolu à la capture, au traitement et à l'analyse, de façon continue et automatique, de réponses biologiques développées par des organismes aquatiques, pour la surveillance des milieux aqueux.** Des changements (significatifs) d'une ou plusieurs caractéristiques des réponses au cours du temps témoignent de l'apparition d'une modification du milieu surveillé. Malgré la grande diversité des biodétecteurs existants, nous pouvons retrouver chez tous divers éléments constitutifs communs : tout d'abord l'élément sensible (l'organisme ou réactif biologique) qui est continuellement soumis à un flux hydrique. Il développe une réponse (image de son environnement) qui est collectée et traduite en un signal (électrique le plus souvent) par le transducteur (mode de détection). Une unité de traitement permet de convertir ce signal sous une forme appropriée pour une exploitation par exemple informatique et/ou électronique. La lecture de l'information par un algorithme permettra d'établir une discrimination entre une situation normale et l'apparition de conditions toxiques par exemple (déclenchement ou non d'une alarme).

Soulignons aussi, afin de lever toute ambiguïté, la distinction que nous ferons dans cette étude entre les biodétecteurs d'une part et les biocapteurs[2] d'autre part. Ces derniers, *stricto sensu*, résultent aussi de la combinaison de deux éléments de nature différente, un composant biologique (biorécepteur) et un transducteur, mais qui sont fixés l'un à l'autre pour former une

---

1 : Dans la littérature scientifique, on parle de "*Biological Early Warning Systems*" ou BEWS (Kramer et Botterweg, 1991).

2 : Le terme anglais pour les désigner est "*Biosensor*".

entité. Les biocapteurs connaissent actuellement un important développement : c'est le cas par exemple des capteurs enzymatiques, microbiens ou encore immunologiques. Ceux-ci sont généralement dévolus à une surveillance spécifique des polluants, car le réactif biologique est le plus souvent une biomolécule dotée d'une réactivité propre. On peut ainsi cibler le principe chimique ou physico-chimique mis en œuvre, selon la nature du réactif biologique retenue. Au contraire, les biodétecteurs sont des systèmes de détection globale de substances diverses qui peuvent se présenter dans le milieu. Ils sont qualifiés pour cela de systèmes à large spectre de sensibilité. Le réactif biologique est ici un organisme entier (protozoaire ou métazoaire), qui est à même d'intégrer un ensemble de réactions métaboliques : ce sont des poissons, des mollusques, des algues, des bactéries, ... Ces derniers systèmes feront principalement l'objet de l'étude qui suit.

1.2. Applications - Sites d'utilisation

Globalement, les biodétecteurs sont utilisés pour répondre à deux objectifs très différents (Botterweg *et al.*, 1989) : le premier est une **protection des organismes** aquatiques soit dans leur milieu naturel, soit dans des unités de traitement des eaux ; le second objectif est la **sauvegarde de la santé humaine**, en détectant la présence de substances toxiques dans les eaux de consommation. Logiquement, l'extrapolation toxicologique est moins hasardeuse dans le premier cas que dans le second, comme le soulignait d'ailleurs très justement van der Schalie (1986). Aussi cette double utilisation appelle-t-elle l'emplacement des unités de surveillance à des endroits stratégiques (Cairns *et al.*, 1975). Elles sont implantées soit en amont de prises d'eau de surface, à proximité des usines de production d'eau potable, soit sur un champ captant lorsque l'eau potable est produite à partir d'une nappe alluviale. Nous les trouvons aussi dans les zones urbaines et industrialisées, où les risques de pollutions accidentelles ou chroniques sont importants. Ces unités de surveillance sont également placées au niveau des rivières et autres milieux récepteurs, pour donner des informations globales sur la qualité de l'eau et l'état de santé des différentes zones du bassin de drainage (*cf.* figure 1).

En fait, tous les systèmes de détection biologiques précoces des eaux requièrent trois conditions essentielles (Cairns et Gruber, 1979), qui sont :

1. leur emplacement au niveau d'un point stratégique,
2. la génération rapide d'informations à un centre assigné à prendre les décisions idoines,
3. et enfin la présence d'intervenants capables d'actions correctives immédiates.

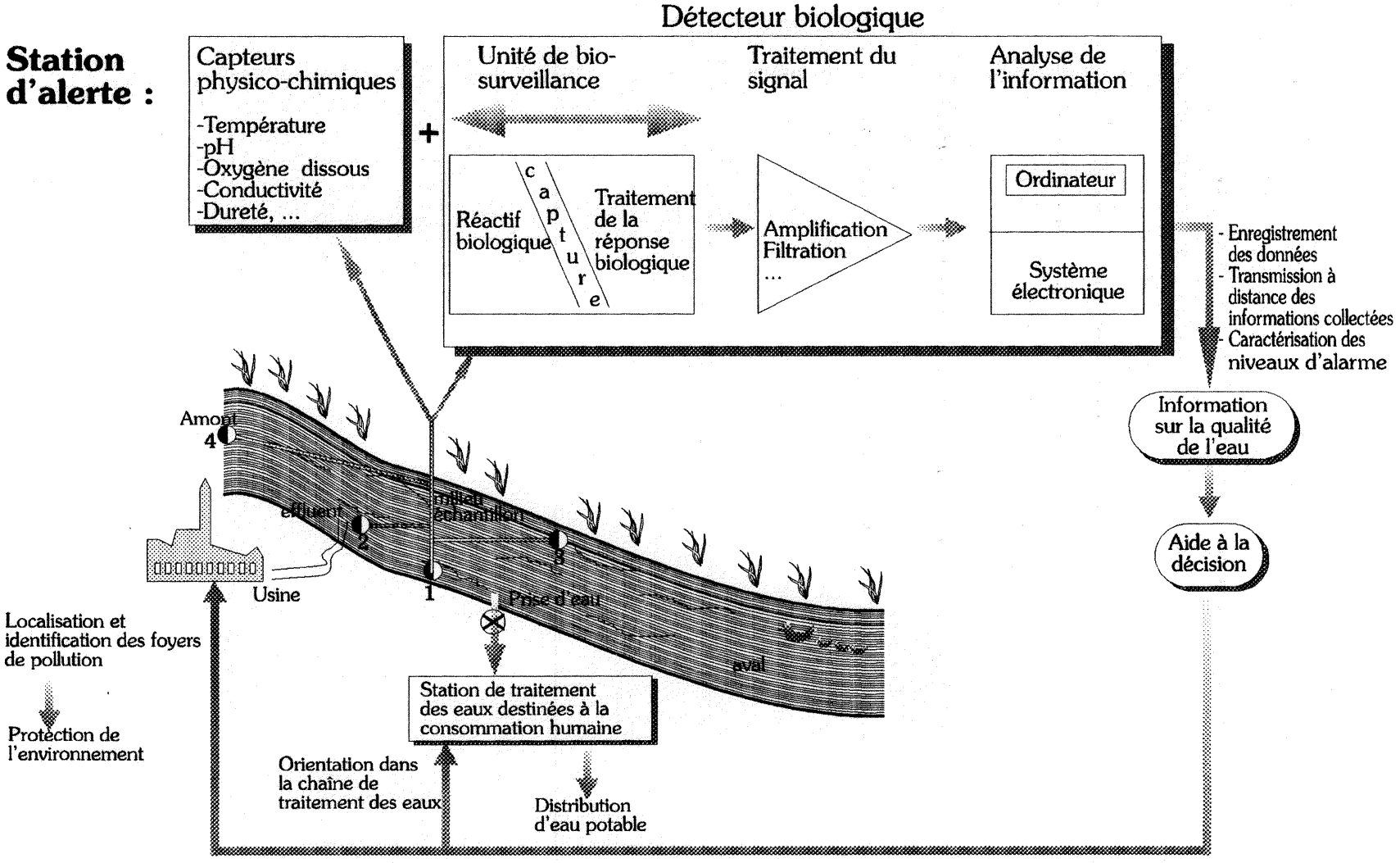


Figure 1 : Eléments constitutifs d'une station d'alerte et sites d'implantation des biodétecteurs.
1. En amont des usines de production des eaux potables. 2. A la sortie des rejets industriels ou urbains. 3 et 4. Le long des rivières.

1.3. Caractéristiques des biodétecteurs

Les systèmes de détection biologiques précoces doivent répondre à certaines exigences qui sont globalement similaires quelle que soit la nature du milieu surveillé (Botterweg *et al.*, 1989 ; Cairns et van der Schalie, 1980 ; Diamond *et al.*, 1988 ; Gruber *et al.*, sous presse ; Kingsbury et Rees, 1978 ; Poels, 1975, 1976). Ce sont :

1. La **capacité des organismes à rester sous les conditions du test**, sans souffrir de désordres métaboliques ou comportementaux.
2. Une "bonne" **sensibilité** des animaux-tests. Ces derniers devront être capables de réagir rapidement à une large gamme de polluants et à de faibles seuils de concentration.
3. L'exploitation d'une réaction biologique qui autorise une **mesure rapide, fiable, automatique**, avec un transfert à distance des données et la possibilité de déclencher une alarme.
4. L'**absence** ou la **maîtrise d'influences extérieures**, hormis les variations de la qualité de l'eau, sur la réponse biologique développée par l'organisme.
5. La **facilité d'obtention des organismes-tests** (contrôle de leur élevage), ainsi que la possibilité d'une standardisation de ces derniers.
6. Une **alimentation ininterrompue du système par l'eau** dont nous souhaitons surveiller la qualité.
7. Une **simplicité** générale du système, aussi bien du point de vue de sa mise en oeuvre, de sa maintenance qu'en ce qui concerne son exploitation (interprétation des résultats).
8. Et enfin, des **aspects économiques** tels que le coût de l'appareillage et la disponibilité commerciale, ce qui sous-entend au préalable une validation du système *in situ*.

1.4. Choix des réactifs biologiques

Le choix du réactif biologique est un problème délicat et nous devons pour cela considérer plusieurs impératifs qui sont : la **sensibilité** vis-à-vis de la plus large gamme possible de polluants, la **disponibilité**, la **maintenance**, la **capacité adaptative** aux conditions du test et enfin le **coût**. Malheureusement, les organismes les plus faciles à élever ou à maintenir sous des conditions artificielles sont aussi souvent les sujets les moins sensibles à la présence de produits toxiques en général (Diamond *et al.*, 1988). D'ailleurs, Cairns (1986) démystifie l'approche qui consiste à vouloir trouver l'espèce la plus sensible. Ceci, il est vrai, n'apparaît plus être d'actualité aujourd'hui. Surgit donc un problème, celui de savoir si le recours à une espèce unique pour la surveillance d'un milieu est approprié, essentiellement en terme de sécurité quant à l'information fournie ? C'est pourquoi certains auteurs prônent une approche à dimension multi-trophique (Blaise *et al.*, 1987 ; Morgan *et al.*, 1987). Cette

solution, qui est de prime abord séduisante, implique en revanche une complexité accrue du système de surveillance, ne serait-ce qu'au niveau de sa maîtrise et de sa gestion. Une deuxième solution consisterait à engager l'effort de recherche vers les techniques d'acquisition et de traitement des données biologiques (développées par une seule espèce) mais qui, avec les outils informatiques et électroniques actuels, peuvent contribuer notablement à une amélioration des performances du biodétecteur. Enfin une dernière solution serait d'établir une adéquation entre la sensibilité du réactif biologique retenu et la nature des risques encourus par le milieu surveillé. Cette possibilité est envisageable en particulier pour la surveillance des effluents industriels ou urbains.

Quoi qu'il en soit de ces considérations, **les poissons sont probablement les organismes les plus utilisés dans le domaine de la biodétection précoce** (Kramer et Botterweg, 1991). Ceci s'explique peut-être par le fait que ce domaine d'étude a été défriché par des ingénieurs chimistes. Aussi la facilité d'identification des poissons aurait-elle concouru à leur recours (Cairns et Gruber, 1980) ! De plus, la commodité de manipulations de telles espèces a contribué probablement à ce fait. Un autre facteur important, social celui-ci, est l'importance des réactions que provoque, chez le grand public, l'apparition d'une mortalité ichtyaire brutale (Lesel et Huez, 1977). Enfin, pour d'autres auteurs (Besch et Juhnke, 1971 ; Jung, 1973), les raisons d'une telle popularité sont davantage d'ordre scientifique. L'utilisation de poissons plutôt que des organismes avec un niveau d'organisation encore inférieur permettrait une extrapolation plus réaliste des résultats à la toxicologie humaine. En réalité, s'il est vrai que les poissons sont des organismes populaires dans ce domaine d'étude, il n'en reste pas moins que nombreuses sont les autres espèces sollicitées pour la mise en place de systèmes d'alerte précoce. Nous recensons ainsi dans la littérature l'exploitation de réponses biologiques développées par des mollusques lamellibranches, des larves d'insectes, des bactéries, des algues jusqu'à l'utilisation récente de biomolécules (*cf.* tableau I).

Un biodétecteur se distingue d'un autre par l'organisme choisi comme réactif. Aussi étudierons-nous les différents systèmes d'alerte biologique selon la nature de l'organisme-test. Les réponses biologiques exploitées se rangent globalement en trois catégories (Schorr et Gruber, 1990) : comportementale (activité locomotrice, rhéotaxie, évitement, ...), physiologique (activité respiratoire, battement cardiaque, émissions électriques ...) et biochimique (consommation d'oxygène, activité de nitrification, ...). Notons que le délai d'obtention de telles informations possède deux composantes (Cairns *et al.*, 1972) : la première est inhérente au processus biologique lui-même. La seconde composante s'inscrit davantage au niveau des moyens techniques de collecte et d'analyse des données. Aussi après une revue des différents systèmes d'alerte biologique précoce des eaux de surface et de leurs principes de fonctionnement, nous ferons une analyse critique de ces différents systèmes.

	Nom scientifique	Nom commun
POISSON	*Oncorhynchus mykiss*	Truite
	Salvelinus fontinalis	Saumon de fontaine
	Pimephales promelas	Tête de boule
	Carassius auratus	Carassin doré
	Cyprinus sp.	Carpe
	Leuciscus idus	Ide mélanote
	Phoxinus phoxinus	Vairon
	Lepomis macrochirus	Crapet arlequin
	Poecilia reticulata	Guppy
	Micropterus salmoïdes	Achigan à grande bouche
	Ictalurus sp.	Poisson-chat
	Gnathonemus sp.	Poisson éléphant
BIVALVE	*Dreissena polymorpha*	Dreissene
	Anodonta cygnea	Anodonte
	Unio pictorum	Unio
CRUSTACE	*Daphnia magna*	Daphnie
	Artemia sp.	Artémie
INSECTE	*Aedes aegypti*	
	Tanytarsus sp.	
	Chironomus sp.	
	Glyptotendipes pallens	
ALGUE	*Chlamydomonas reinhardii*	
	Scenedesmus sp.	
	Selenastrum sp.	
	Haematococcus sp.	
	Chlorella sp.	
	Cladophora glomerata	
BACTERIE	*Photobacterium* phosphoreum	
	Pseudomonas sp.	
	Escherichia coli	
	Synechococcus sp.	
	Nitrosomonas sp.	
	Nitrobacter sp.	
	Brevibacterium sp.	

Tableau I. Liste de réactifs biologiques rencontrés dans les systèmes d'alerte biologique précoce à large spectre de sensibilité.

1.5. Présentation des biodétecteurs selon la nature du réactif biologique

1.5.1. Les poissons

1.5.1.1. Critère de létalité

Le concept de la concentration létale est à l'origine de la **première génération de biodétecteurs** (Henderson et Pickering, 1963). La simple observation visuelle d'une mortalité ichtyaire peut être indicatrice d'une détérioration du milieu environnemental du poisson. Cependant deux inconvénients majeurs surgissent avec l'utilisation d'un tel critère (van der Schalie *et al.*, 1979) : le premier est la possibilité d'un temps très long entre le début de la condition toxique et la mort du poisson ; le second est que cette technique nécessite une surveillance continue des organismes. Face à ce dernier problème, Lesel et Saboureau (1976) ont imaginé un système de détection biologique qui permet une surveillance automatisée du critère de létalité : il s'agit du **testeur à courant d'eau circulaire**. Son principe est d'exploiter l'endurance à la nage de poissons soumis à deux forces hydrauliques (tangentielle et centripète). Lorsque l'organisme est incommodé par la présence d'un toxique, il devient incapable de lutter contre le courant et obstrue la sortie d'eau. Ceci entraîne une augmentation du niveau de l'eau et conduit finalement au déclenchement d'une alarme. Cependant, compte tenu des résultats attendus de ces systèmes en général, il est nécessaire de recourir à un critère plus sensible que la réponse létale (Morgan, 1976), ce que nous allons aborder dans ce qui suit.

1.5.1.2. Critère comportemental

1.5.1.2.1. Réactions de fuite - Préférence / évitement

Dans ce domaine, l'une des premières approches a consisté à enregistrer les **réactions de fuite** des poissons lorsqu'ils sont en présence d'une vague de pollution (Ishio, 1960 ; Jones *et al.*, 1956). La réaction d'évitement appartient à un des 4 ou 5 effets sublétaux probables lors de la dégradation des milieux aquatiques (Sprague, 1968 ; Sprague et Drury, 1969). Deux catégories de chambres expérimentales se rencontrent pour ces études : celles où le gradient de concentration toxique varie brutalement (Kleerekoper *et al.*, 1973 ; Sprague, 1964, 1968), et celles où ce gradient est progressif (Cripe, 1979 ; Ishio, 1965). Ainsi dans le premier cas, le poisson a simplement le choix entre une eau claire et une eau polluée. Dans le second cas, l'organisme se déplace dans des zones plus ou moins polluées. Cette seconde voie est intéressante puisque la réaction d'évitement du poisson vis-à-vis d'une substance est fonction non seulement de la concentration du toxique, mais aussi de ses variations quantitatives dans le

temps (Ishio, 1965). Cependant, si cette approche est séduisante dans la mesure où elle intervient plus tôt qu'une réponse physiologique, elle est généralement de plus faible ampleur (Westlake *et al.*, 1983a). En outre, soulignons que les poissons-tests ne développent pas toujours une réponse d'évitement stéréotypée quelle que soit la pollution. Ainsi Ishio (1965) montre que si certains toxiques, tels que les sulfites, sont détectés et évités par les poissons, d'autres comme l'ammoniaque ou des sels cuivreux exercent une attraction chez ces organismes. Plus curieux encore, Sprague et Drury (1969) observent que la caractéristique de la réponse peut être fonction de la concentration du polluant. Ainsi la truite arc-en-ciel évite des concentrations de chlore de 0,01 et d'1 $mg.l^{-1}$, alors qu'elle est attirée par une concentration intermédiaire (0,1 $mg.l^{-1}$). Ces méthodes ont été revues par Cherry et Cairns (1982) et Giattina et Garton (1983). En somme, cette approche est loin de faire l'unanimité, pour les raisons évoquées ci-dessus mais également du fait qu'elle ne semble offrir que peu d'avantages par rapport aux systèmes de surveillance basés sur la mort des organismes (van Hoof, 1980).

Une autre voie d'étude originale est celle abordée par Peters *et al.* (1991). Ils utilisent la **sensibilité des cellules cutanées électro-réceptrices des poissons-chats** (*Ictalurus nebulosus*), qui sont directement au contact avec le milieu aquatique. On montre électrophysiologiquement que des substances toxiques affectent la transduction sensorielle de ces cellules. Cela entraîne une perte de l'information reçue par le poisson et par conséquent une perturbation comportementale. L'impact de pollution aquatique est quantifié en considérant les performances sensori-motrices d'*I. nebulosus*. L'expérience consiste à apprendre aux poissons à se diriger vers l'endroit où est distribuée une récompense alimentaire, dans un champ électrique contrôlé. La force de ce champ électrique est progressivement diminuée et les seuils de sensibilité sont notés. Ceux-ci sont fonction de la qualité de l'eau. Cette technique pourrait présenter certaines perspectives pour la biosurveillance de la qualité des eaux, mais nécessiterait toutefois un important travail de développement (automatisation) et de validation.

1.5.1.2.2. Comportement locomoteur

Des systèmes d'alerte biologique basés plus directement sur l'**activité motrice** de poissons ont été développés. Ce type de réponse peut être appréhendé selon deux approches (Sherer *et al.*, 1979) : la première s'intéresse aux modes d'activité circadiens, qui sont liés aux besoins de l'organisme en éléments biotiques et abiotiques de son environnement. La seconde voie concerne les niveaux d'activité qui sont le reflet des états métaboliques de l'animal. A ce titre, une étude très intéressante de Schwassmann (1971) détaille les divers aspects de l'activité de poissons qui dépendent de phénomènes rythmiques.

Ainsi dans ce champ d'étude, de nombreuses méthodes, revues par Cairns *et al.* (1970), ont été utilisées pour évaluer l'activité de poissons. La première consiste en une simple **observation visuelle** de ces organismes, méthode qui est bien évidemment limitée dans la mesure où elle réclame la présence constante d'une personne, dont l'examen est en outre entaché de subjectivité. D'autres moyens d'évaluation de l'activité du poisson ont fait appel à des **systèmes mécaniques**. Ces systèmes apparaissent maintenant comme désuet, aussi ne les détaillerons-nous pas. Les techniques d'évaluation de l'activité locomotrice des poissons se sont progressivement dirigées vers des **procédés photoélectriques** (Cairns *et al.*, 1970 ; Cairns *et al.*, 1975 ; Hafeez et Barber, 1976 ; Hall *et al.*, 1975 ; Kleerekoper, 1977 ; Shirer *et al.*, 1968 ; Waller et Cairns, 1972). L'unité expérimentale est traversée, sur sa hauteur d'eau, par 3 faisceaux lumineux. Un compteur d'événements évalue le nombre d'interruption(s) de ces rayons lorsque le poisson les traverse. Morgan (1978, 1979) souligne l'intérêt d'utiliser une source lumineuse infrarouge, car des rayons lumineux dans le visible auraient un effet sur les rythmes exogènes du poisson durant la phase obscure. Malgré tout, l'évaluation de l'activité motrice de ces organismes au moyen d'un procédé photoélectrique est critiquable à plusieurs points de vue. La méthode est en premier lieu limitée du fait de la turbidité occasionnelle de l'eau (Morgan *et al.*, 1982 ; Waller et Cairns, 1972). Elle nécessite également un réalignement régulier des émetteurs lumineux avec les récepteurs, le système se décalant après de légères vibrations (Morgan *et al.*, 1982). De plus, les fortes absorptions et dispersions de la lumière dans l'eau concourent aussi à limiter l'utilisation d'une telle approche (Sherer *et al.*, 1979). Enfin cette technique ne permet pas au poisson d'avoir un cycle nycthéméral normal. L'ensemble de ces inconvénients a concouru au développement de **techniques ultrasoniques** (Byrne, 1971 ; Léger et Camus, 1992 ; Meffert, 1968 ; Morgan *et al.*, 1982 ; Morgan et Kühn, 1988 ; Sherer *et al.*, 1979). Pour cela, deux émetteurs en vis-à-vis créent un champ ultrasonique stationnaire : les déplacements des poissons (généralement des truites) modifient la fréquence du signal sonore réfléchi par leur corps, et seules les fréquences ainsi décalées par effet Doppler sont traitées automatiquement. La société des eaux de Marseille commercialise un appareil, le "Truitosem", basé sur ce principe. Ce système fait l'objet de nombreuses applications *in situ*, particulièrement en France. Cependant, il n'est pas rare de constater que les alarmes déclenchées sont attribuables à une diminution de la teneur en oxygène dissous dans l'eau.

Très récemment, des chercheurs allemands (Blübaum-Gronau *et al.*, 1994) ont abordé ces études comportementales au moyen de **procédés vidéo**. Une caméra braquée sur un aquarium surveille l'activité des poissons en recueillant des images, qui sont décomposées selon divers paramètres puis analysées en temps pseudo-réel à l'aide d'un micro-ordinateur. Ce système est commercialisé sous le nom de "*BehavioQuant*®". Selon Graff et Anthouard (1994), les principes des sciences cognitives, qui facilitent l'analyse et l'interprétation en temps

réel de réponses comportementales, offriraient des perspectives prometteuses, inaugurant une nouvelle génération de biodétecteurs.

D'autres systèmes, plus marginaux dans la mesure où ils n'ont pas fait l'objet de réelles applications *in situ*, pourraient présenter des potentialités d'utilisation future, après quelques améliorations. Il s'agit de l'activité ichtyaire surveillée par des **procédés thermiques** (Heusner et Enright, 1966), **photographiques** (Kress et Nachtigall, 1989) ou **d'induction magnétique** (Petry, 1982).

1.5.1.2.3. Rhéotaxie

La **rhéotaxie** positive est un type particulier de comportement locomoteur chez les poissons et se caractérise par leur aptitude à se tenir face à un courant d'eau. Lors de l'arrivée d'une vague de pollution, deux réactions possibles peuvent alors survenir : soit le poisson tente d'échapper à la vague toxique en nageant vers l'aval, soit il subit un affaiblissement tel que la nage à contre-courant lui devienne impossible. Généralement, les systèmes de surveillance évaluent la **dévalaison de poissons** soit tenus isolément dans des canaux (Poels, 1975, 1977), dans des bacs en forme d'entonnoir (Lesel et Saboureau, 1976 ; Lesel et Huez, 1977) ou dans des tubes à flux d'eau rotatif (Lindhal et Schwanbon, 1971 ; Lindhal *et al.*, 1977), soit groupés dans des aquariums en forme d'arène horizontale (Besch *et al.*, 1977 ; Juhnke et Besch, 1971 ; McLeod, 1967 ; Scharf, 1979). Certaines de ces techniques sont revues par Lesel *et al.* (1977). Le critère de réponse est ici défini comme **l'incapacité des poissons à nager à contre-courant** et se décèle généralement au moyen de procédés photoélectriques (Juhnke et Besch, 1971; Poels, 1975, 1977). On encourage les poissons à se maintenir dans la partie amont du bac de contention en leur appliquant soit de petites excitations électriques (Poels, 1975), soit un stimulus lumineux (Hasselrot, 1975). Parfois, des périodes de stress, c'est à dire l'application d'un courant d'eau, alternent avec des phases de repos (Besch *et al.*, 1977 ; Botterweg *et al.*, 1989). Poels (1977) a testé sur le Rhin ce biodétecteur, connu sous le nom commercial d'*"Aqua-Tox-Control"*, avec *Leuciscus idus*.

Selon Morgan (1979), lorsque la réponse à un toxique dépend non d'un affaiblissement physiologique direct mais de la sensibilité olfactive du poisson, une exploitation de la réponse locomotrice est utilisée avec davantage de succès que la mesure de critères respiratoires par exemple. Mais globalement, ce même auteur note que le rythme des battements operculaires chez le poisson en tant que mesure de la fréquence respiratoire est un moyen plus approprié pour une analyse quantitative de polluants sur de courtes périodes de temps. Aussi allons-nous aborder à présent les réponses d'ordre physiologique pour la surveillance de la qualité des eaux.

1.5.1.3. Critère physiologique

L'attention est principalement portée sur la **fonction respiratoire**, qui constitue vraisemblablement une bonne mesure physiologique d'un large spectre de substances toxiques et de stress environnementaux (Cairns *et al.*, 1970 ; Cairns *et al.*, 1974 ; Gardner *et al.*, 1990 ; Maki, 1979 ; Morgan et Kühn, 1974 ; Morgan, 1976 ; Morgan *et al.*, 1981 ; Morgan *et al.*, 1987 ; Morgan *et al.*, 1988 ; O'Hara, 1971 ; van der Schalie, 1986). En effet, le contact privilégié entre l'eau et les branchies concourt à une grande sensibilité de ces organes vis-à-vis des substances toxiques (Hugues, 1975). De l'observation qu'une grande variété d'animaux aquatiques produisaient des potentiels d'action bioélectriques discrets résultant de leur activité physiologique, est née l'idée d'exploiter ces mesures pour évaluer la qualité de l'eau (Cairns *et al.*, 1970).

Globalement, deux mécanismes de détection existent. Les systèmes les plus anciens utilisent des électrodes directement connectées au poisson (Sparks *et al.*, 1972 ; Heath, 1972). Cependant ces auteurs observent que la cannulation provoque un certain stress chez les organismes. Aussi cette méthode, peu à peu abandonnée, a-t-elle laissé place à une seconde technique : le poisson, libre de ses mouvements, est placé au sein d'un bac de contention équipé à chaque extrémité d'une électrode (Evans et Walwork, 1988 ; Morgan, 1977 ; Spoor *et al.*, 1971 ; Waller et Cairns, 1972). Cette technique a été utilisée pour la première fois par Spoor *et al.* (1971). Ils mesurent des différences de potentiel, de 0,01 µV à 40 µV (Gruber *et al.*, 1977), provoquées par des mouvements respiratoires. Suivant que le polluant a un effet dépresseur ou stimulateur, on enregistre respectivement une diminution ou une augmentation de la fréquence des mouvements operculaires. Le franchissement des limites inférieures et supérieures préétablies enclenche une alarme. Heath (1972), qui a comparé plusieurs méthodes de mesures de l'activité respiratoire, reconnaît toute la valeur de ce dernier procédé, notamment en raison de sa simplicité. Il déplore toutefois l'impossibilité d'étudier l'amplitude de la réponse ventilatoire avec les électrodes placées à distance inévitablement variable du poisson ; or il s'agit d'une caractéristique qui véhicule aussi des informations sur les conditions environnementales du poisson. Il semble cependant que ce problème soit à l'heure actuelle résolu puisque non seulement le rythme des mouvements respiratoires peut être déterminé, mais aussi l'amplitude et la forme de l'onde respiratoire (Gruber *et al.*, 1991 ; Gruber et Frago, 1994).

Selon un même procédé, des systèmes de surveillance biologique de la qualité des eaux exploitent la **toux (ou purge) respiratoire** chez les poissons (Carlson et Drummond, 1978 ; Drummond *et al.*, 1973 ; Koeman *et al.*, 1978 ; Westlake *et al.*, 1983b). Ce dernier phénomène ("*the coughing*") permet à l'organisme de se débarrasser des particules étrangères au niveau de

ses branchies. C'est en réalité une réponse à certaines formes de stimuli mécaniques, qui est plus ou moins régulière selon les espèces (Hugues, 1975). Cette toux respiratoire est en outre une réponse thermo-dépendante (Hugues et Roberts, 1970).

Les réponses enregistrées avec ces biodétecteurs sont rapides, proportionnelles à la concentration du polluant et se présentent à des niveaux sublétaux (Sparks *et al.*, 1972 ; Westlake *et al.*, 1983b). Par ailleurs, plusieurs applications *in situ* ont vu le jour (Morgan *et al.*, 1988 ; Westlake *et al.*, 1976), avec en particulier la possibilité d'une transmission à distance des données par satellite (Morgan *et al.*, 1981). A l'encontre des promesses de tels systèmes d'alerte, notons qu'ils sont souvent à l'origine de fausses alarmes (Botterweg *et al.*, 1989 ; van der Schalie *et al.*, 1979). Celles-ci peuvent être dues à la turbidité de l'eau (Carlson, 1984), mais également à une nage dynamique des poissons (Morgan et Kühn, 1974). On note également que le potentiel d'équilibre des électrodes varie avec des changements de température, d'oxygène, de pH et de conductivité de l'eau (Spoor *et al.*, 1971). De plus, les variations thermiques de l'eau (Cairns *et al.*, 1974), le photopériodisme (Price, 1979 ; Sparks *et al.*, 1972) et le comportement alimentaire des sujets (Morgan et Eagleson, 1983) influencent le comportement ventilatoire des poissons. Slooff (1979, 1983) constate que les systèmes sont plus performants durant la phase nocturne, car l'activité respiratoire est plus faible et moins variable la nuit. Il est également possible que la sensibilité des poissons au toxique en général soit sujette à des rythmes circadiens (Cairns *et al.*, 1974), hypothèse non vérifiée jusqu'à présent. Un autre problème apparaît lorsque ces systèmes sont mis en place dans des eaux faiblement conductrices. Cela nécessite alors l'emploi d'amplificateurs plus performants (Gruber *et al.*, 1977), avec en contrepartie l'apparition de signaux artefacts dus à la turbulence de l'eau (Morgan *et al.*, 1981).

L'étude du comportement ventilatoire est, selon Gruber *et al.* (sous presse), le système qui intéresse le plus de recherches, de développement et d'applications commerciales : ce sont par exemple le *"Biosensor®"* et le *"WRc Fish Monitor"*. Des tests *in situ* ont été conduits en Allemagne, en Grande Bretagne, en Australie, au Canada et aux Etats-Unis avec ces systèmes.

1.5.1.4. Critère électrique

Pour ces systèmes, l'espèce utilisée est *Gnathonemus* sp., poisson électrogène de la famille des Mormyridés. Il sonde son milieu environnant à l'aide d'impulsions électriques pulsatoires, dont les **modulations de fréquence** sont exploitées pour la surveillance biologique de la qualité des eaux (Rauch, 1980 ; Geller, 1984). Une alarme est déclenchée lorsque des variations significatives interviennent au niveau de cette caractéristique électrique. A l'encontre de la simplicité du principe, il faut toutefois souligner la variabilité naturelle de la fréquence des

décharges électriques de *Gnathonemus petersi*, caractéristique commune à la famille des Mormyridés (Kemmer *et al.*, 1972 ; Mandriota *et al.*, 1965 ; Rieger et Zimmermann, 1981). Dans des conditions standards, les fréquences de décharge varient jusqu'à 5 % et plus (Scheich et Bullock, 1974). Elles sont en outre très changeantes suivant le niveau d'activité des poissons, la présence de stimuli photiques, sociaux, ... Un rythme endogène des décharges électriques doit aussi être considéré (Toerring et Serrier, 1978). Notons enfin la dépendance des réponses électriques vis-à-vis de facteurs physico-chimiques, tels que la température (Lewis et Kay, 1991), le pH (Lewis *et al.*, 1992a), la conductivité (Bell *et al.*, 1976 ; von der Emde, 1993) ... ce qui complique encore l'interprétation des résultats.

Les premières recherches ont débuté en Allemagne (Rauch, 1980) et sont actuellement poursuivies en Grande-Bretagne (Kay et Lewis, 1993). Kramer et Botterweg (1991) notent qu'il existe un système commercialisé basé sur ce principe (AZTEC FM1000). On ne trouve cependant pas de données dans la littérature relative à une utilisation *in situ*.

1.5.2. Les mollusques bivalves

Les mollusques bivalves sont considérés comme des organismes adéquats pour la surveillance de la qualité des eaux (Jenner *et al.*, 1989 ; Kramer *et al.*, 1989), ceci pour plusieurs raisons : ils sont sédentaires, abondants et disponibles tout au long de l'année. Leur taille autorise une manipulation relativement facile ; ils sont également robustes, ce qui permet de les transporter sans trop de difficultés.

On compte généralement deux approches distinctes. La première est la collection de populations sauvages directement sur le site : il s'agit d'une **biosurveillance passive**. Ces organismes sont en effet considérés comme de bons bioindicateurs de pollutions environnementales (Camusso *et al.*, 1994 ; Marquenie, 1981 ; Philips, 1976). En milieu marin particulièrement, ils sont de précieux révélateurs de pollution au mercure (Jensen *et al.*, 1981). La seconde approche est l'utilisation d'organismes transplantés, prélevés sur un site de référence, chez lesquels on exploite le phénomène de bioaccumulation des toxiques. C'est une **biosurveillance active**. Enfin la troisième voie s'intéresse à la **détection biologique précoce**. Dans ce domaine, les auteurs ont développé différents systèmes.

Les premiers exploitent les **mouvements valvaires des lamellibranches**. Le principe est simple : en milieu non pollué, les valves de ces organismes sont la plupart du temps ouvertes pour assurer les fonctions respiratoire et nutritive. Par exemple chez *Dreissena polymorpha*, le temps de fermeture maximal est d'une demi-heure à une heure par jour (Kramer *et al.*, 1989). Par contre, en condition de stress (arrivée d'une vague de pollution), il y a

fermeture de la coquille. On établit ainsi une corrélation entre les mouvements valvaires (activité ou fermeture) d'une part et la qualité de l'eau d'autre part. La détermination des mouvements valvaires, qui initialement était établie par un procédé mécanique, se fait actuellement par un **système d'induction électromagnétique** (EMIS), haute fréquence. Deux bobines électriques sont fixées chacune sur une valve ; l'une transmet un champ électromagnétique, l'autre assure la réception de ce champ, de façon partielle ou totale selon le degré de couplage des bobines, autrement dit selon le degré d'ouverture ou de fermeture de la coquille. D'autres paramètres physiologiques chez les mollusques bivalves ont été utilisés pour détecter des changements environnementaux : par exemple le rythme cardiaque (Sabourin et Tullis, 1981), les fréquences respiratoire et de filtration (Manley et Davenport, 1979 ; Slooff *et al.*, 1983). Ces systèmes exploitent donc des phénomènes de perturbation principalement dus à des dommages au système respiratoire (Salanki et Varanka, 1976). En effet, l'hypothèse d'une inhibition des enzymes de la respiration cellulaire a été proposée pour expliquer le mécanisme physiologique des réponses enregistrées (Salanki et Varanka, 1978).

Basés sur des expériences de laboratoire, plusieurs systèmes d'alerte précoce exploitant les réponses valvaires ont été développés et utilisés sur le terrain. Les pionniers de cette approche sont les Pays-Bas qui ont développé le "*Musselmonitor*®" (Baldwin et Kramer, 1994 ; de Zwart *et al.*, 1993 ; Kramer *et al.*, 1989 ; Kramer, 1994). Des études sont actuellement poursuivies en Allemagne avec le *"Dreissena-Monitor"* (Borcherding et Volpers, 1994) et aussi en France sur le *"Valvomètre"* (Woerther et Blanchard, 1994).

Ces systèmes peuvent répondre à plusieurs utilisations. Ils sont en premier lieu adaptés à la surveillance de la qualité des écosystèmes aquatiques en général, des effluents industriels et domestiques ainsi que des affluents destinés à la consommation, aux pisciculture, *etc.* Une autre utilisation dans les systèmes de refroidissement des usines électriques a été décrite (Jenner *et al.*, 1989). Il arrive en effet qu'il y ait un développement important de moules dans les conduites d'eau de refroidissement, qu'elles peuvent finir par obstruer. Pour limiter cette croissance, les gestionnaires des usines électriques ont généralement recours à l'hypochlorite. Or les moules sont extrêmement sensibles à cette substance (inférieure à 0,037 mg/l), si bien qu'elles sont utilisées pour un dosage efficace de l'hypochlorite dans les eaux de refroidissement.

1.5.3. Les crustacés et les larves d'insectes

L'approche la plus ancienne, développée par Knie (1978), définit l'**activité locomotrice de petits crustacés**, les daphnies (*Daphnia* sp.). Le système, connu sous le nom de *"Dynamischer Daphnientest"*, comprend un tube cylindro-conique dans lequel des daphnies

nagent librement. Des sources lumineuses infrarouges, avec à l'opposé des photodétecteurs, sont placées le long du bac. L'activité des organismes est évaluée par le nombre de coupures des rayons lumineux dans le temps. Celui-ci diminue lorsque les conditions environnementales se détériorent. Ce principe est exploité en laboratoire pour déterminer les concentrations de substances qui inhibent la mobilité de *Daphnia magna* : ce sont des tests de toxicité aiguë normalisés (AFNOR, 1983). Ce test est aujourd'hui automatisé pour une application *in situ* (Balk *et al.*, 1994 ; Botterweg *et al.*, 1989 ; Knie, 1988 ; Puzicha, 1994). Cependant quelques défauts s'observent dans un tel système de mesure(s) (Berckmans *et al.*, 1994) : l'activité de nage est déterminée simplement au niveau d'un plan horizontal, à une hauteur spécifique. Par ailleurs, les bulles d'air sont sources de fausses informations lorsqu'elles traversent un rayon lumineux. Mais une étude a montré que l'activité de nage des microcrustacés peut aussi être évaluée par une analyse digitale des images (Berckmans *et al.*, 1994 ; Smith et Bailey, 1988 ; van Hoof *et al.*, 1994). Celle-ci a l'avantage de transmettre une information plus riche et plus rapide selon ces auteurs. Néanmoins, beaucoup de variables environnementales telles que la température de l'eau, le pH, la turbidité ou encore la salinité (Dwyer *et al.*, 1992) influencent le comportement locomoteur des daphnies, autant de paramètres susceptibles d'être à l'origine de fausses alarmes. D'autre part, certains de ces paramètres physico-chimiques peuvent également induire une reproduction précoce des sujets, alors que la taille des organismes est un facteur important pour l'enregistrement de l'activité de nage (Balk *et al.*, 1994).

D'autres biodétecteurs font appel à des **larves d'insectes**. Par exemple, Batac-Catalan et White (1983) détectent la présence de polluants en travaillant sur l'**activité de ventilation** de larves de chironomes au moyen d'un système de fibres optiques. Une approche différente consiste à évaluer les **activités locomotrice et/ou respiratoire de divers invertébrés aquatiques**, par la technique de conversion d'impédance (Heinis et Swain, 1986 ; Heinis *et al.*, 1990 ; Swain *et al.*, 1977). Cette méthode, mise au point dans le domaine médical, est une amélioration de techniques anciennes qui consistaient à implanter chirurgicalement des électrodes dans l'animal, dans le but de mesurer les activités cardiaque et respiratoire, le plus souvent. Elle exploite le fait que les organismes vivants sont assimilables à des diélectriques. Lorsque les animaux sont placés entre un couple d'électrodes, ils engendrent de petits potentiels caractéristiques de certains comportements respiratoires ou locomoteurs, comme les mouvements d'une antenne, des appendices post-abdominaux, ... Cette technique est appliquée pour des organismes dont la taille varie de 600 µm, *e.g.* certains copépodes, jusqu'à 1 à 2 mm de long, e.g. *Daphnia magna* (Swain *et al.*, 1977). Une observation en parallèle du comportement de l'organisme et des potentiels bioélectriques enregistrés constitue un apprentissage nécessaire à l'interprétation des résultats (Idoniboye-Obu, 1977 ; Spoor *et al.*, 1971), qui reste néanmoins délicate. En effet, Idoniboye-Obu (1977) souligne que l'enregistrement de comportements aléatoires se superpose fréquemment à d'autres réponses.

Aussi l'application *in situ* d'un tel procédé réclamerait-elle sans aucun doute davantage de travaux de recherche.

Sur le même principe, des techniques de surveillance traduisent la **contraction musculaire d'écrevisses** en petits signaux électriques, représentatifs de la qualité du milieu (Maciorowski *et al.*, 1977).

La détection de polluants peut également être révélée par l'étude de la **réponse phototactique** développée par des invertébrés aquatiques (Willingham et Anderson, 1966, 1967). Ainsi une étude de Simonet *et al.* (1978) montre que la phototaxie négative de larves de Diptères (*Aedes aegypti*) est inhibée lorsque ces organismes sont exposés à des métaux lourds ainsi qu'à des insecticides organiques. Selon les auteurs, ce phénomène de photomigration s'avère plus sensible que les tests de toxicité aiguë. Le principe comporte donc un certain intérêt, même s'il n'autorise pas, tel qu'il a été conçu par Simonet *et al.* (1978), une automatisation de l'analyse des données.

1.6. Présentation des biocapteurs selon le principe développé

La qualité du milieu peut être estimée au travers de plusieurs événements métaboliques, comme la production de luminescence, le flux d'électrons, la consommation d'oxygène et de substrats, la production de CO_2, ... autant d'approches qui seront abordées ci-après. Notons que la différence essentielle entre ces systèmes est la localisation des réactifs biologiques, qui peuvent être soit libres, soit fixés à un substrat, soit immobilisés à l'intérieur d'électrodes.

1.6.1. Bioluminescence

En laboratoire, l'utilisation d'espèces algales est courante pour déterminer la toxicité relative de substances (Joubert, 1980 ; Payne et Hall, 1979)[3]. Pour la détection biologique précoce de diverses substances, et en particulier des herbicides, le recours à des organismes phototrophes semble être un choix logique (Kramer et Botterweg, 1991). Ainsi il existe des biocapteurs qui mesurent la fluorescence émise par des algues, phénomène qui est représentatif de leur état physiologique (Benecke *et al.*, 1982).

Le principe de **mesure de la fluorescence** de *Scenedesmus* sp. ou *Chlorella* sp. a été décrit par Benecke *et al.* (1982). Les algues sont pompées à partir d'une unité de culture

[3] : Rappelons à ce propos qu'il existe un test de toxicité aiguë basé sur l'inhibition de la croissance d'une algue verte, *Scenedesmus subspicatus* (AFNOR, 1980).

jusqu'à une cellule, où se font les mesures. L'étude des caractéristiques optiques de pigments photosynthétiques indique qu'il y a émission d'une lumière fluorescente à 660 nm. Les valeurs maximales sont atteintes lorsque les algues sont illuminées après une phase d'obscurité. A ce moment précis, le signal est recueilli, amplifié puis enregistré sur un oscillographe. L'intensité de la fluorescence est fonction de la qualité du milieu environnemental. L'exploitation d'une telle réponse est intéressante dans la mesure où les temps de détection de polluants sont très courts. Cependant ce système n'est actuellement pas automatisé ce qui appelle davantage d'études pour un fonctionnement *in situ*.

Les algues ont l'avantage d'être faciles à cultiver. Cependant le contrôle de l'âge et de la composition monospécifique de la culture, ainsi que de la stabilité de la concentration algale est parfois complexe à maîtriser (Benecke *et al.*, 1982) ; ces facteurs peuvent intervenir défavorablement sur la fiabilité des biocapteurs développés.

Ce même principe peut être appliqué sur un support bactérien. Ce sont probablement les biocapteurs les plus populaires qui exploitent les **propriétés luminescentes de bactéries**, telles que *Photobacterium phosphoreum* ou *Vibrio fisheri*. A l'aide de capteurs optiques, on évalue la diminution de l'émission lumineuse, qui est rapide et proportionnelle à la concentration de divers agents de stress environnementaux (Bulich, 1979). Le réactif bactérien, d'origine marine, est conservé sous forme lyophilisée ou congelée, puis régénéré par ajout d'eau et de NaCl (2%). Cette méthode est utilisée pour des tests standardisés de dépistage de toxicité, comme le *"Microtox"* (Beckman, 1978, cité par Kramer et Botterweg, 1991), développé aux USA par Microbics, ou le *"Lumistox"* (Link, 1988, cité par Kramer et Botterweg, 1991). Une étude de synthèse de Kaiser et Ribo (1988) compile les résultats de tests de toxicité d'environ 500 substances avec le *"Microtox"*. Une version automatisée de cette technique existe aujourd'hui, l'*"Auto-Microtox"* pour une utilisation sur site (Chevillion, 1994 ; le Pennec et Ollivier, 1994 ; Levi *et al.*, 1989 ; Rigaud *et al.*, 1992). Caractériser le *"Microtox"* comme une technique simple, rapide et bon marché fait globalement l'unanimité (Curtis *et al.*, 1982 ; de Zwart et Slooff, 1983 ; Qureshi *et al.*, 1984 ; Vasseur *et al.*, 1986). Les résultats sont exprimés par la concentration efficace d'un composé qui entraîne une diminution de 50 % de l'intensité de la luminescence généralement, après un certain temps de contact (5, 10, 15, 20 ou 30 minutes). Selon Ribo et Kaiser (1983), les résultats les plus précis s'obtiennent après 30 mn d'incubation avec le produit. On désigne alors les résultats sous la forme de CE 50 - 30 mn (Concentration Efficace pour une inhibition de 50 % de la luminescence au terme de 30 mn d'exposition). Polman et de Zwart (1994) déterminent quant à eux la CE 20 - 5 mn qu'ils transforment en une valeur normée (*i.e.* la valeur du logarithme décimal du centième de la concentration efficace). Celle-ci relie la toxicité à un critère d'acceptabilité.

Cet outil biologique paraît adapté au contrôle de la qualité des eaux et à la toxicité des effluents (Vasseur *et al.*, 1986). Cependant il est important de noter qu'il s'agit d'une **surveillance semi-continue** (une mesure toutes les 50 minutes). Par ailleurs, le transfert *in situ* du Microtox a révélé plusieurs problèmes, comme celui de la turbidité, de la coloration ou de la concentration de certains échantillons (Qureshi *et al.*, 1984). Selon ces auteurs, ces problèmes sont aujourd'hui en partie résolus, mais il en surgit d'autres. C'est par exemple la sensibilité du réactif bactérien aux conditions de pH, d'oxygénation et de salinité (Vasseur *et al.*, 1986 ; Qureshi *et al.*, 1984). La bioluminescence est également fonction de la température (Bulich et Isenberg, 1981) ; un changement de 1°C entraîne déjà une variation de 10 % de la luminescence. Aussi ces paramètres exigent-ils une régulation qu'il n'est pas toujours aisé de réaliser *in situ*.

1.6.2. Activité photosynthétique

A côté de l'étude de la bioluminescence, une seconde approche consiste à exploiter directement l'**activité photosynthétique de cellules algales** (Ludyanskiy et Pasichny, 1992 ; Pandard et Vasseur, 1992). On développe pour cela des biocapteurs algaux ampérométriques (Naessens et Tran-Minh, 1994 ; Pandard et Vasseur, 1992 ; Pandard et Rawson, 1993), pour lesquels deux dispositifs sont rencontrés. Le premier mesure le **transfert d'électrons** le long de la chaîne photosynthétique, lors d'une illumination des micro-organismes. Le second dispositif quantifie la **production de dioxygène** qui résulte de cette excitation lumineuse. Ce sont ces deux réponses, émission d'électrons et production de dioxygène, qui permettent de traduire l'intensité de l'activité de photosynthèse. La mesure du transfert d'électrons nécessite l'utilisation d'un médiateur (substance oxydo-réductible) qui est toxique pour la cellule algale (Pandard *et al.*, 1993). Aussi la durée de vie des capteurs basés sur le flux électronique n'excède pas 24 heures, ce qui exclut toute utilisation en continu (Pandard et Vasseur, 1992). Par contre, la longévité du second dispositif est d'une semaine, aussi son exploitation *in situ* est réalisable. Mais il existe peu de données relatives à l'exploitation de biocapteurs algaux *in situ* (Gruber *et al.*, sous presse). Ces approches sont principalement développées en France, en Grande Bretagne et en Allemagne. Des études de validation sur le terrain sont en cours pour plusieurs systèmes, comme le *"Biotoxitel"* sur la Moselle (Jacques *et al.*, 1994), le *"FluOx algae test"* et le *"Biosens algae toximeter"* sur le Rhin (Schmitz *et al.*, 1994). L'activité photosynthétique peut être aussi quantifiée par la fluorescence spontanée ou retardée, qui résulte de l'illumination des systèmes photosynthétiques. Sur ce principe, un biocapteur algal a été décrit par Puzicha (1994). Il s'agit du *"DF algae test"* (*Delayed Fluorescence*), qui établit une comparaison directe des courbes de désexcitation entre un échantillon de référence et un échantillon test.

L'activité photosynthétique peut également être appréhendée par le recours à des réactifs microbiens. On utilise pour cela des médiateurs assistés de biocapteurs ampérométriques, qui enregistrent le **transfert d'électrons lors de la photosynthèse microbienne** (Dobbs et Briers, 1988 ; Ramsay *et al.*, 1986 ; Turner *et al.*, 1983 ; van Hoof *et al.*, 1992). Les cellules bactériennes sont déposées au niveau d'un filtre contre une électrode de carbone polarisée par rapport à une électrode de référence. Les médiateurs Redox sont réduits par les micro-organismes, puis réoxydés par l'électrode de travail ; cela produit un courant, dont l'intensité est proportionnelle à l'activité photosynthétique des bactéries. Rawson *et al.* (1987) ont testé toute une gamme de cyanobactéries et d'algues et ont obtenu les meilleurs résultats avec *Synechococcus* sp. Ces auteurs soulignent également l'importance du choix du médiateur, la stabilité du biocapteur en dépendant étroitement.

1.6.3. Activité dénitrifiante

Une première approche a été développée par Holland et Green (1975). Elle exploite l'**inhibition de la nitrification de bactéries** du genre *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, qui se présente en condition de stress environnemental. Ce système réclame un certain temps avant l'établissement d'une flore bactérienne, sans éviter les problèmes de maintenance (Evans *et al.*, 1986). Ceci explique que ce biocapteur, bien que d'un concept intéressant, soit resté à un stade expérimental, sans aucune tentative de transfert technologique *in situ*.

L'étude de l'activité dénitrifiante a été récemment exploitée par Rawson et Rogerson (1994). Ils utilisent pour cela des boues activées en suspension. Un programme de recherche et de développement est en cours, en vue d'optimiser l'ensemble des éléments qui constituent ce biocapteur bactérien.

1.6.4. Activité respiratoire

Des techniques relativement nouvelles permettent l'incorporation de bactéries au niveau de certaines électrodes. Dans ce domaine, Dorward et Barlsas (1984) ont développé un biocapteur qui utilise les bactéries *Escherichia coli* immobilisées à la surface d'une électrode sensible au CO_2. La **détection potentiométrique du CO_2 produit par les bactéries** donne une image des processus respiratoires cellulaires. La présence de polluants inhibe cette production, mesurée par l'électrode. Selon les auteurs, ce biocapteur permet de mesurer la toxicité aiguë d'une large gamme de substances, telles que des métaux, des composés organiques, etc. Cependant des interférences sont possibles entre certains polluants et l'électrode qui mesure la production de CO_2. Aussi des corrections sont-elles nécessaires, ce qui limite singulièrement le champ d'application d'un tel biocapteur.

La **consommation d'oxygène par des bactéries** immobilisées sur un biofiltre a également été exploitée (Solyom *et al.*, 1976). La présence de polluants influence l'état physiologique des micro-organismes. On mesure alors à la sortie du réactif bactérien une certaine quantité d'oxygène dissous, qui aurait normalement été consommée en l'absence d'agents perturbateurs. Ce biocapteur, connu sous le nom de *"Toxiguard"*, convient pour une surveillance en continu *in situ* ; de plus, il est particulièrement adéquat pour assurer la protection des micro-organismes qui participent à l'assainissement de l'eau (Blessing *et al.*, 1992 ; Solyom, 1977). Cependant après une pollution, la régénération de la partie biologique réclame 8 à 12 heures (Solyom *et al.*, 1976). La consommation d'oxygène par des boues activées constitue également une réponse exploitée dans ce domaine (Martin, 1988 ; Shieh et Yee, 1985 ; Vanrolleghem *et al.*, 1994). Certains problèmes de maintenance se posent néanmoins, notamment en ce qui concerne la sonde à oxygène (calibration et remplacement de la membrane et de la solution interne). De plus, ce procédé nécessite, comme le précédent, un temps de régénération variable suivant la sévérité de la pollution, avant d'être à nouveau opérationnel (Shieh et Yee, 1985).

D'autres systèmes, s'appuyant sur une mesure de l'activité respiratoire de *Pseudomonas putida*, sont disponibles commercialement, comme le *"Toxalarm"* et le *"Stiptox-norm"* (Fritz-Langen *et al.*, 1992).

1.6.5. Autres biocapteurs

Il existe tout un arsenal de composés biologiques tels que des cellules, des tissus, des protéines ou des enzymes qui, associés à des dispositifs de mesure, permettent de traduire le phénomène observé en une donnée quantifiable. A ce titre, notons que les réactions mises en jeu sont généralement spécifiques, ce qui, pour les objectifs d'une station d'alerte par exemple, est moins intéressant qu'une surveillance à large spectre de sensibilité. Aussi allons-nous simplement recenser quelques biocapteurs de cette famille.

Les plus usuels sont probablement les **capteurs enzymatiques**, qui peuvent être considérés comme la combinaison de tout type de transducteur avec une fine couche enzymatique destinée, en général, à mesurer la concentration d'un substrat. La réaction enzymatique assure la transformation du substrat en produit de réaction, détectable par le transducteur. Par extension, on peut mesurer la concentration de toute substance pourvu que sa présence affecte la vitesse de cette transformation enzymatique. C'est en particulier le cas des inhibiteurs d'enzymes. Les différents processus par lesquels les polluants inhibent une réaction enzymatique ont été revus par Tran-Minh (1985). L'évaluation de ce pouvoir d'inhibition des composés toxiques sur les enzymes se traduit par la détermination d'une

concentration de produit toxique, qui correspond à une réduction de l'activité enzymatique de 50 % : c'est la CI 50. Tran-Minh (1991) utilise par exemple ce critère pour évaluer les performances d'une électrode à acétylcholinestérase (AChE) par rapport aux résultats du Microtox. Ce principe a également été exploité pour la détection de pesticides grâce à une électrode de verre utilisant la butyryl-cholinestérase (El Yamani *et al.*, 1987). Ces auteurs notent que cette détection est sélective mais non spécifique, dans la mesure où tout inhibiteur de cet enzyme est décelable par cette voie. Notons qu'il existe aussi des électrodes multienzymatiques.

Une autre voie est celle des **capteurs immunologiques** (ou immunocapteurs). Ils exploitent les propriétés de reconnaissance du couple antigène-anticorps, associées à différentes techniques de détection. Celles-ci reposent soit sur la mesure directe des paramètres qui résultent du couplage antigène-anticorps, soit sur l'amplification du phénomène par le marquage enzymatique.

Enfin, outre les enzymes et les immunoagents, on peut adapter sur les différents transducteurs des coupes de tissus animal ou végétal et, par extension, des neuro- ou chémorécepteurs.

L'ensemble de ces voies de recherche est étudié de façon très complète par Tran-Minh (1991). En conclusion de son étude, l'auteur note que l'emploi de ce type de biocapteurs se heurte à des problèmes techniques non encore résolus et insiste sur les applications actuelles (en particulier dans le domaine médical) et futures des biocapteurs.

1.7. Analyse des données

De façon à établir une discrimination fiable entre une situation normale (milieu non dégradé) et anormale (présence d'une pollution), la mise en place d'un algorithme est nécessaire. Beaucoup de systèmes d'alerte précoce exploitent un changement d'une fonction ou d'une propriété biologiques à partir de conditions standards préétablies (Baldwin et Kramer, 1994). Ces dernières peuvent être recueillies chez un lot témoin, mais le plus fréquemment ce sont des références à des données historiques, enregistrées chez les organismes-tests eux-mêmes. Il s'agit, en tout état de cause, d'une comparaison, qui peut se faire par analyse d'une réponse au temps x et par sa confrontation avec l'enregistrement aux temps $x-1$, $x-2$, $x-3$, *etc.* ... Cette démarche est certainement satisfaisante si la réponse concernée n'est pas sujette à des variations nycthémérales ou si elle ne présente pas de dérives dans le temps (Diamond *et al.*, 1988). Or c'est rarement le cas dans les systèmes biologiques. Toutefois, tant que la

réponse mesurée est évidente (*i.e.* soit absence, soit présence) et qu'une grande sensibilité n'est pas exigée, la définition d'un seuil d'alarme établie sur un nombre prédéterminé de réponses biologiques "hors normes" est appropriée. Des techniques d'analyse plus sophistiquées peuvent cependant être réclamées si la réponse mesurée n'est pas du type "tout ou rien" et si nous souhaitons une plus grande sensibilité. Cela pourrait passer par l'examen global de l'ensemble des réponses des divers organismes-tests, réponses dans lesquelles des changements même non significatifs mais répétés chez un nombre suffisant de sujets, suffiraient au déclenchement de l'alerte. C'est là une analyse plus sensible mais, corollaire obligé, davantage exposée à des problèmes de fausses alarmes. A côté de ces analyses comparatives, des outils mathématiques calculent les intervalles de confiance (à 95 % le plus souvent) à l'intérieur desquels se rangent les données enregistrées en l'absence de pollution. Un point en-dehors de ces limites témoigne d'une situation anormale et entraîne de ce fait le déclenchement d'une alarme. Ces limites peuvent être statiques (fixées dans le temps) ou dynamiques (évolution suivant l'historique des enregistrements).

1.8. Performances des systèmes biologiques d'alerte précoce

Une comparaison de différents biodétecteurs du point de vue de leur sensibilité aux toxiques est difficile à entreprendre, même lorsque ces systèmes s'appuient sur un principe identique comme le notent Kramer et Botterweg (1991). De **multiples facteurs biotiques et abiotiques interviennent** sur les temps et les seuils de détection (*cf.* figure 2). En premier lieu, cela concerne le **réactif biologique**, avec le choix de l'espèce, son sexe, son stade de croissance, son état physiologique et sanitaire, son degré d'acclimatation, ... En second lieu, il faut noter que les **caractéristiques physico-chimiques** de l'eau modifient également les performances des biodétecteurs ; ainsi la température, le pH, l'oxygène dissous, la salinité, la dureté, les matières en suspension, ... sont autant de paramètres qui peuvent influencer la toxicité des substances. Il est important de souligner que ces facteurs abiotiques peuvent être à eux seuls la raison du déclenchement d'une réponse, ce qui n'est pas toujours souhaitable. Toutes ces considérations sont bien connues des toxicologistes, qui prennent soin d'établir les conditions dans lesquelles sont réalisés les essais. Néanmoins, Sprague (1985) notait qu'au sein d'un même laboratoire, des expériences faites sur des organismes comparables avec un même toxique donnent des concentrations létales pour 50 % des individus (CL50) variant d'un facteur 5,5. Ceci est possible soit parce qu'il existe une résistance individuelle des organismes aux toxiques, soit parce que des variations involontaires dans les conditions du test interviennent. Il est aussi probable que ces deux hypothèses interviennent simultanément pour expliquer les facteurs de variations. Les performances des biodétecteurs peuvent aussi être fonction des conditions d'exposition du réactif biologique au milieu échantillon, ainsi que de son taux de

renouvellement. Enfin en aval du procédé, des facteurs de variabilité peuvent aussi trouver leur explication dans le mode de traitement et d'analyse des données. Aussi toutes ces raisons justifient-elles les précautions à observer dans la confrontation des résultats enregistrés avec différents systèmes biologiques d'alerte précoce.

En réalité, si une large gamme de polluants doit être détectée, il serait souhaitable de **recourir à différents biodétecteurs**, exploitant les réponses de différents types d'organismes (Kramer et Botterweg, 1991). Il nous semble qu'à ce titre, la connaissance des mécanismes toxicologiques est fondamentale, car elle permet en partie d'expliquer les différences de sensibilité des divers réactifs biologiques d'une part et les diverses performances des biodétecteurs d'autre part. Elle peut en tout état de cause orienter le choix d'un système d'alerte sur un site donné en considération de la nature des risques encourus.

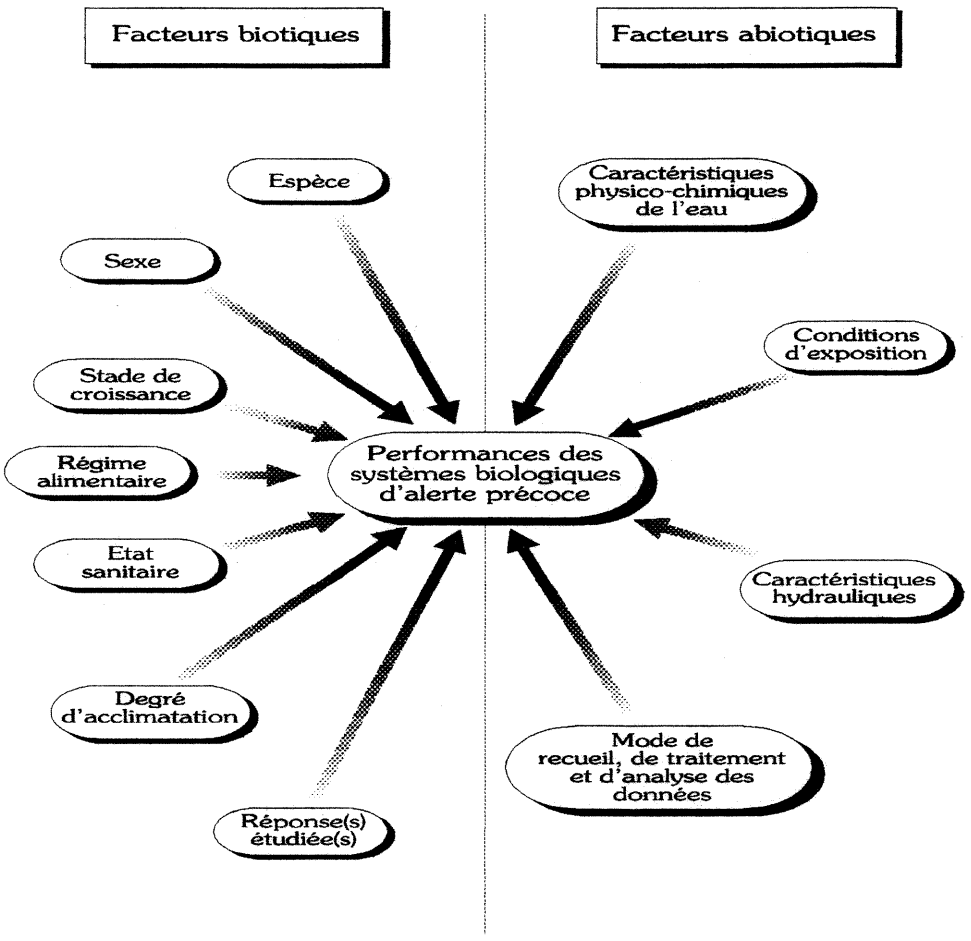


Figure 2 : Synoptique des facteurs biotiques et abiotiques qui interviennent sur la définition des performances des systèmes biologiques d'alerte précoce.

1.9. Analyse critique des biodétecteurs

Ce tour d'horizon des systèmes d'alerte biologique nous montre à quel point nous sommes loin des premières versions où le canari dans sa cage informait les mineurs de dangers atmosphériques et le goûteur de plats, de l'innocuité des aliments pour le roi. Aujourd'hui nous recensons une multitude de biodétecteurs, dont la diversité s'exprime aussi bien du point de vue de l'espèce utilisée que du principe développé ! Kramer et Botterweg (1991), dans un article de synthèse, notaient que s'il est effectivement proposé dans la littérature un grand nombre de systèmes, en revanche très peu ont atteint le stade de procédés opérationnels et l'étape de commercialisation. Si l'on se réfère à l'ensemble des caractéristiques auxquel devraient répondre ces systèmes d'alerte, le biodétecteur souhaité serait **sensible, rapide, fiable, automatique, continu, simple à mettre en oeuvre, avec peu de maintenance, d'une longue durée de vie, de faible coût,** ... A l'encontre de ces souhaits s'opposent toutes les contraintes et difficultés brièvement évoquées ci-dessus. Elles confirment la nécessité de redéfinir ce que l'on peut légitimement attendre de la biosurveillance, voire de reconsidérer les données du problème.

En premier lieu, insistons sur le fait qu'il n'est pas raisonnable d'espérer d'un système plus que ce pour quoi il a été conçu. Les systèmes d'alerte biologique précoce sont dévolus à la **détection de changements à court terme, et relativement marqués, de la qualité d'un milieu.** Pour cela, on a vu que le critère de létalité était insuffisant et il est apparu plus pertinent de mettre en place des biodétecteurs exploitant des réponses sublétales. Sprague (1971) rappelle que la signification de changements sublétaux est plus facile à conceptualiser lorsqu'on raisonne en terme de niveaux d'organisation de l'animal. Il trouve confirmation de cette idée dans Bartholomew (1964) : "... *there are a number of levels of biological integration and ... each level finds its explanation of mechanisms in the levels below, and its significance in the levels above*". Ainsi au niveau de la biochimie intracellulaire, un polluant en lésant un tissu (les cellules sensorielles des bourgeons tactiles du poisson-chat par exemple) détériore le comportement alimentaire de l'individu, donc la croissance de l'animal ou encore la reproduction de l'espèce. Les biodétecteurs constatent une modification sub-létale de performance ou de comportement (modifications de rhéotaxie ou d'activité operculaire par exemple) dont l'explication se situe à un niveau inférieur (et moins immédiatement accessible) d'organisation. C'est en ce sens que les poissons sont souvent, pour la biosurveillance, d'excellents détecteurs et intégrateurs d'accidents écologiques.

La nature des renseignements fournis par les biodétecteurs est très simple : soit il y a un problème, soit il n'y en a pas. **L'objectif de ces systèmes n'est pas de définir quel est le type de problème**, c'est à dire de caractériser la pollution du milieu, même s'il se peut qu'ils le

fassent dans certains cas (Henderson et Pickering, 1963 ; Diamond *et al.*, 1990). Précisons encore que l'absence de réponse(s) de ces biodétecteurs n'est pas une garantie de l'absence de toxiques dans l'environnement surveillé (Botterweg *et al.*, 1989 ; Koeman *et al.*, 1978). L'ensemble de ces considérations justifie que l'on identifie point par point les limites actuelles des systèmes biologiques d'alerte précoce. Cette critique nous permettra de mieux définir notre étude et sa problématique.

Le premier critère auquel on se réfère généralement est celui de "**sensibilité**", lequel est, à notre avis, toujours à combiner avec la notion de **temps**. En effet, le délai dans l'apparition d'une réponse est d'une importance opérationnelle considérable (Price, 1979) ; il devrait, en toute logique, guider les décisions prises au niveau des schémas d'aménagement des réseaux d'alerte. Or ce qui se produit est communément le contraire, à savoir que les réseaux existent et en fonction de leurs caractéristiques, certaines exigences quant aux temps de réponse sont requises (Kramer et Botterweg, 1991). Mais les biodétecteurs n'offrent pas les mêmes performances de détection selon l'organisme-test, la réponse exploitée ("end-point"), les techniques de mesure, le polluant (concentration et mode d'action) et enfin les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (Cairns et van der Schalie, 1980). A ce niveau de l'exposé, il est fondamental de souligner à nouveau combien il est délicat de confronter les résultats enregistrés avec différents biodétecteurs. Cependant des études comparatives de la sensibilité du réactif biologique selon les polluants pourraient orienter utilement le choix d'un système au regard des conditions *in situ*. Avec toute la prudence et la réserve requises en conclusion de telles études (Cairns et Gruber, 1980 ; Gruber *et al.*, sous presse ; Heath, 1972 ; Slooff, 1983 ; van der Schalie, 1986), les auteurs qui ont entrepris un tel travail ne croient jamais à l'existence du système d'alerte idéal, ou encore de l'organisme sentinelle universel. D'ailleurs en ce qui concerne le choix du réactif biologique, nous avons vu que ce sont les poissons qui sont les plus sollicités dans ce domaine. Jung (1973) a montré que sur 970 substances, seules 31 n'étaient pas détectées par les poissons à des niveaux toxiques pour l'homme. Cette étude confirmerait donc toute la confiance qu'on peut accorder au poisson comme indicateur de la qualité de l'eau. Mais cette conclusion appelle selon nous deux réserves : la première est relative à la notion de temps de détection qui fait défaut dans cette étude, la seconde concerne les normes de qualité des eaux potables, qui sont beaucoup plus sévères que les niveaux considérés comme dangereux pour l'homme (Kingsbury et Rees, 1978). A ce titre, nous pouvons nous demander dans quelle mesure les normes définies pour les eaux de consommation sont bien appropriées pour définir les performances des biodétecteurs, vu qu'elles sont déterminées pour protéger la santé humaine contre une ingestion chronique de toxiques et ne reflètent donc pas le risque que constituerait l'exposition à des concentrations plus élevées sur de courtes périodes. Slooff (1983) indique que même lorsqu'on applique aux concentrations seuils détectées un facteur de sécurité égal à 1.000, beaucoup de

substances seraient décelées avant d'atteindre des niveaux dangereux pour l'homme. Ceci pourrait être un élément de réponse face à une critique couramment soulevée, à savoir le décalage qui existe entre les normes de qualité des eaux potables et la sensibilité des biodétecteurs (Morgan, 1977 ; Price, 1979 ; van der Schalie, 1986). Cet argument n'est bien sûr plus valable lorsqu'il s'agit par exemple de protéger la flore bactérienne qui participe à l'assainissement des eaux brutes destinées à la consommation.

En réalité, de telles préoccupations peuvent être abordées par une démarche plus globale, telle qu'une **surveillance multi-trophique**, qui permettrait de mieux appréhender les dangers potentiels de dégradation des milieux aquatiques (Balk *et al.*, 1994 ; Blaise *et al.*, 1987 ; Kramer et Botterweg, 1991 ; Morgan *et al.*, 1984). Nous concevons en effet fort bien qu'étant donné le profil de sensibilité toxicologique propre à chaque espèce, le recours à différents taxons biologiques engage la surveillance vers un champ de détection élargi de substances toxiques éventuelles.

Un second axe de discussion, incontournable pour la caractérisation des biodétecteurs, concerne **le problème des fausses alarmes**. Celles-ci peuvent être l'expression de conditions environnementales soit toxiques mais non détectées, soit non toxiques mais cependant détectées parce que défavorables à la technique employée. Aussi ce paragraphe va-t-il nous permettre de distinguer deux idées, généralement confondues, qui se cachent derrière le terme anglais de "*reliability*". Une fausse alarme peut être enclenchée alors qu'il n'y a aucun changement de la qualité du milieu : c'est ce qu'on appelle un **faux positif**. Le cas inverse peut également se présenter, à savoir qu'une variation des caractéristiques du milieu qui aurait dû être détectée, ne l'a pas été : c'est alors un **faux négatif**. Dans le premier cas (faux positif), on est amené à prendre des mesures qui n'auraient pas été nécessaires, comme par exemple couper les arrivées d'eau avant qu'il n'y ait contamination de la station de traitement des eaux. Cela implique des considérations économiques non négligeables : il s'agit là d'un problème de **crédibilité du biodétecteur**. Dans le second cas (faux négatif), aucune mesure corrective n'est entreprise alors que cela aurait été nécessaire. Ce cas précis constitue un danger par exemple pour la filière de traitement des eaux destinées à la consommation, pour l'environnement, *etc.* : c'est un défaut de **fiabilité du système de détection**, à imputer en fait à un manque de sensibilité. A ce titre, il serait intéressant de s'interroger sur la nature des priorités réclamées pour un biodétecteur. Voulons-nous un système qui, dans le cas théorique de 10 pollutions, entraîne 12 alarmes, c'est à dire un système crédible (on est sûr que lorsqu'il y a une pollution, il y a déclenchement de l'alarme), ou 8 alarmes, c'est à dire un système fiable (on est sûr que lorsqu'il y a déclenchement de l'alarme, il y a une pollution, mais il y a malheureusement des cas de pollution sans alarme) ? Bien sûr, la réponse est évidente : ce que l'on souhaite, c'est 10 alarmes pour 10 pollutions. C'est d'une conception théorique facile, mais d'une mise en pratique

plus complexe. Tout l'art sera de réaliser un compromis entre ces deux notions. A ce titre, Shorr et Gruber (1990) notaient : "*There exists a trade-off between overall system sensivity to toxicants and system reliability with respect to non-toxic changes in water quality. ... Sensivity and reliability (under non-harmful conditions) are usually diametrically opposed in an early warning biomonitoring system.*" Ce choix appartient en fait à l'utilisateur, en considération de la nature du milieu surveillé et peut être partiellement entrepris en agissant au niveau du traitement des données. C'est, nous le verrons, une contribution non négligeable à l'établissement des performances des biodétecteurs, à tout le moins de certains d'entre eux.

Enfin, nous ne pouvons conclure ce chapitre sans évoquer un fait dont les systèmes biologiques d'alerte sont coutumiers, à savoir celui de l'**acclimatation**[4] des organismes aux substances chimiques (Cairns et van der Schalie, 1980 ; Miller *et al.*, 1986). Cette acclimatation métabolique des organismes à des concentrations sublétales de toxiques est un sujet relativement complexe et en même temps fort peu étudié. Elle détermine le taux de détoxication ainsi que d'autres processus, qui gouvernent la survie des organismes à un polluant (Sprague, 1969) et agissent, dans notre cas particulier, sur la sensibilité des biodétecteurs. Maki (1979) montre par exemple que la réponse de *Lepomis macrochirus* exposé à un surfactant est amoindrie après une exposition de 6 jours à ce type de substance. La valeur indicatrice des systèmes d'alerte est directement fonction d'un tel processus et à ce titre nous déplorons qu'il soit si peu étudié. En première approche, un tel problème pourrait être simplement résolu en faisant une rotation ou en remplaçant périodiquement les organismes-tests. En réalité, le problème est plus complexe ; par exemple, comment peut-on décider si un organisme s'est acclimaté à certaines substances ou s'il s'est simplement adapté (non stressé) aux conditions du test ? Il est vrai que de telles préoccupations surgissent plus particulièrement lorsqu'on réalise le transfert *in situ* de techniques de laboratoire. Or c'est un domaine qui, à nouveau, souffre d'un manque de connaissances et de pratique (Baldwin et Kramer, 1994). Il existe en effet une disproportion très nette entre la multitude des systèmes d'alerte décrits dans la littérature scientifique et le petit nombre d'unités réellement exploitées au niveau des réseaux d'alerte et/ou de surveillance. Selon van der Schalie *et al.* (1979) qui considèrent les difficultés qui peuvent survenir lors d'un tel transfert technologique, c'est une omission importante. Le fait que nombre de biodétecteurs restent à la phase prototype est, pour Gruber *et al.* (sous presse), principalement imputable à des problèmes de coût. Ces auteurs dénoncent le manque de dialogue entre les biologistes et la communauté financière. Ils soutiennent que les biodétecteurs en sont encore à leurs premiers balbutiements par rapport à leur développement futur et à leur acceptation par les milieux industriels. Ceci ne doit pas nous faire oublier qu'outre l'aspect

[4] : On fait généralement une distinction entre l'acclimatation et l'accoutumance. Le premier phénomène désigne les processus d'adaptation de populations d'organismes aux changements d'environnement naturels ou aux changements à long terme imposés par l'homme. L'accoutumance concerne aussi des processus d'adaptation de population d'organismes, mais - et c'est là la différence - à des conditions environnementales données modifiées à des fins expérimentales (*cf.* Norme T90-505, 1986).

financier, des raisons d'ordre plus scientifique, expliqueraient le petit nombre de transferts technologiques du laboratoire vers le terrain ; le problème réside essentiellement au niveau des conditions expérimentales qui, de contrôlées en laboratoire deviennent nettement plus drastiques, aléatoires et difficiles à dominer *in situ*.

1.10. Conclusion et problématique

Au terme de ce chapitre, insistons encore sur l'intérêt considérable que présente l'**exploitation de réponses biologiques**, parallèlement à des informations physico-chimiques, pour la détection précoce et en continu de changement(s) de qualité des écosystèmes aquatiques en général. Il semble en effet que l'unanimité soit faite sur la **nécessité d'un tel recours biologique** ; en témoigne d'ailleurs le grand nombre de travaux publiés à ce jour sur ce sujet. Nous avons identifié précisément quels étaient les objectifs des biodétecteurs, ainsi que la plupart des organismes utilisés et les principes développés. Ont été également soulignés les limites actuelles et les besoins de recherche dans ce domaine. C'est à partir de l'ensemble de ces considérations que s'articule notre étude.

Parmi les diverses approches examinées au cours de l'analyse bibliographique, l'**exploitation des décharges électriques émises par des poissons tropicaux** est, à notre avis, remarquable à plus d'un titre : en premier lieu, on dispose ici d'un organisme assimilable à un véritable générateur électrique. Il n'est plus question de traduire un signal physiologique en signal électrique, comme c'était le cas par exemple avec les biodétecteurs travaillant sur la réponse ventilatoire (par exemple le *"Biosensor®"*). Ici, c'est le poisson lui-même qui engendre directement le signal exploité, ce qui simplifie singulièrement le système. Cette simplification apparaît non seulement au niveau du recueil du signal, mais également au niveau du traitement et de l'exploitation de ces informations. Elle se répercute ensuite au niveau des temps de détection qui sont alors diminués.

Néanmoins, nous devons formuler une réserve, non pas sur le principe développé, mais sur le choix de l'espèce. Rappelons qu'il s'agit de *Gnathonemus petersi*, poisson d'Afrique Occidentale, appartenant à l'ordre des Mormyriformes et à la famille des Mormyridés. Comme toutes les espèces de cette famille, *G. petersi* est un poisson électrique pulsatoire à modulation de fréquence. Cette dernière faculté est tout à fait insigne puisqu'il est capable de passer de quelques Hertz au repos - ou même du silence électrique - à plus de 100 Hertz en activité de nage. Or, ce sont précisément les fréquences des décharges électriques qui sont exploitées par ce biodétecteur. L'étude d'un paramètre dont la distribution dans le temps est déjà si irrégulière en l'absence de polluants complique nécessairement le traitement des données. C'est un

inconvénient majeur, d'autant plus que ces variations spontanées de la décharge interviennent pour des raisons non ou mal identifiées (Kemmer *et al.*, 1972 ; Mandriota *et al.*, 1965). Soulignons d'autre part que *G. petersi* est un poisson grégaire ; ce genre de considérations est totalement occulté par les auteurs qui ont travaillé sur cette espèce. Négliger les conditions de maintenance des organismes-tests, c'est aussi s'exposer à d'autres problèmes : perturbations comportementales, désordres métaboliques, durée de vie modifiée par la séquestration et l'isolement et, dans ce cas particulier, influence possible sur les caractéristiques électriques. Bien évidemment, ce sont probablement des questions de commodité qui ont incité les chercheurs à isoler les poissons, évitant ainsi toute interférence électrique d'un sujet à un autre. A terme, ce sont autant de raisons qui compromettent de telles recherches. Il n'en reste pas moins que le principe est intéressant et mérite d'être engagé vers une voie nouvelle, grâce à un poisson à l'origine d'un signal électrique dont les caractéristiques sont radicalement différentes de celles de *G. petersi* ; c'est l'objet de notre étude dont la ligne directrice s'articulera autour des quatre grands thèmes suivants :

1. une **description** du système,
2. l'étude de l'**influence de paramètres physico-chimiques** sur les réponses bioélectriques,
3. la **définition des performances** du biodétecteur vis-à-vis de six polluants,
4. et enfin, la considération des **perspectives d'un transfert technique** du procédé sur site.

CHAPITRE 2

MATÉRIELS ET MÉTHODES

DESCRIPTION GÉNÉRALE DU BIODÉTECTEUR DÉVELOPPÉ DANS CETTE ÉTUDE

2.1. Introduction

Dans le domaine d'étude - très vaste, nous l'avons vu - des biodétecteurs, l'exploitation de signaux électriques directement engendrés par des poissons promet des performances de détection de substances chimiques tout à fait encourageantes en termes de sensibilité et de temps de réponse. Comme nous le déplorions cependant dans le chapitre précédent, l'emploi d'une espèce électrogène qui est grégaire d'une part, et pulsatoire irrégulière d'autre part, ne semble pas être le meilleur choix pour répondre aux premiers objectifs des biodétecteurs, qui sont, rappelons-le, d'être sensibles, rapides et crédibles.

C'est de ce constat qu'est née l'idée d'**exploiter les impulsions électriques émises par un poisson tropical électrogène ondulatoire régulier : *Apteronotus albifrons***. Compte tenu que cette espèce, avant cette étude, n'avait jamais été sollicitée dans le domaine de la toxicologie en général et de la biosurveillance en particulier, nous débuterons ce chapitre par une présentation biologique et électrique détaillée de l'organisme-test. Nous poursuivrons par une description du schéma hydraulique de l'unité expérimentale de laboratoire, cette dernière ayant pour objectif essentiel de dresser le profil de sensibilité toxicologique d'*A. albifrons* vis-à-vis de différentes substances chimiques. A terme, il s'agira de réaliser un transfert de cette unité *in situ*, après avoir apporté les modifications techniques nécessaires à sa bonne adaptation à des conditions de terrain évidemment plus drastiques. Au fil de ce chapitre, nous décrirons aussi le mode de recueil des données et présenterons les divers dispositifs électroniques et procédés informatiques nécessaires au traitement des réponses électriques engendrées par le poisson.

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Systématique

Selon la clé de détermination de le Bail *et al.* (1984), l'organisme-test a été identifié comme étant *Apteronotus albifrons*. Ce poisson a été décrit pour la première fois par Linné (1766) sous le nom de *Gymnotus passan*, puis redécrit par Lacépède (1800) sous le nom de *Apteronotus passan* et enfin par Schneider (1801) sous le nom de *Sternarchus albifrons*. Cette dernière dénomination lui restera jusqu'à une date récente. Au terme de *Sternarchus* (qui fait allusion à la situation pectorale de l'anus), on préfère aujourd'hui celui d'*Apteronotus* (*cf. infra*). La différence spécifique (*albifrons*) a été conservée.

Bien que la systématique soit un domaine très évolutif, et plus encore lorsqu'il y règne une certaine confusion comme c'est le cas ici, nous retiendrons qu'actuellement notre organisme-test se range selon la classification suivante (Gayet *et al.*, 1994) :

Super-ordre : Ostariophysi.
Ordre : Gymnotiformes.
Sous-ordre : Apteronotoidei.
Infra-ordre : Apteronotia.
Superfamille : Apteronotoidea.
Famille : Apteronotidae.
Genre : *Apteronotus*.
Espèce : *albifrons*.

A titre d'anecdote, notons que ce poisson, connu depuis le XVIIIème siècle, n'est devenu populaire en aquariophilie que tout récemment, protégé qu'il était jusqu'ici par le silence sacré des indiens qui, sous le nom d'Esprit noir (*"the black ghost"*) y voient la réincarnation de leurs ancêtres (Florion, comm. pers.).

2.2.2. Répartition biogéographique

Si les Gymnotiformes ont une aire de répartition très étendue en Amérique du Sud, du Guatemala jusqu'en Argentine, *A. albifrons* occupe un territoire plus restreint. On le trouve dans les rivières et les fleuves du **pourtour amazonien**, du Venezuela au Paraguay (Ortega et Vari, 1986). Il est également présent en Guyane française et au Surinam (le Bail *et al.*, 1984 ; Planquette, comm. pers.). *A. albifrons* semble fréquenter les cours d'eau à courant rapide (Hagedorn, 1986 ; Lissmann, 1961). Ces eaux, de type "blanche amazonienne", ne contiennent pratiquement pas d'acides humiques et sont très peu minéralisées ; la conductivité se situe aux alentours de 60 µS/cm et le pH est voisin de la neutralité (Kramer et Otto, 1988). Ces derniers auteurs soulignent encore qu'il s'agit d'un milieu riche en substances nutritives.

A titre d'exemple, *A. albifrons* a été très précisément localisé dans le Moco-Moco, petit affluent du Rupunimi, qui descend des monts Kanuku en Guyana (Hopkins, 1974a). Ce biotope est soumis à un climat tropical à longue saison humide. Ses eaux sont relativement peu minéralisées, mais riches en matières en suspension, en particulier durant la saison des pluies. Le pH est constant et voisin de 7. La température de l'eau varie entre 24°C pendant la saison sèche et 30°C pendant la saison humide (Jacob, 1989).

2.2.3. Description morpho-anatomique - Biologie

Le nom de genre de ce poisson "*Apteronotus*" le décrit déjà partiellement, puisqu'il signifie "**sans nageoire sur le dos**". Le nom d'espèce "*albifrons*" précise qu'il a le **front blanc**. S'il n'a effectivement pas de nageoire dorsale, il est par contre doté de nageoires pectorales, d'une très petite nageoire caudale et d'une nageoire anale. Cette dernière s'étend sur les deux tiers de la longueur de la face ventrale de l'animal, les papilles anales débouchant sous les fentes branchiales. L'ondulation réversible de la nageoire anale, grâce à des rayons spécialisés (Ellis, 1913), lui permet de se déplacer aussi bien vers l'avant que vers l'arrière. Il présente un corps long, étroit et effilé, morphologie tout à fait caractéristique des Gymnotiformes en général, et de cette espèce en particulier. Cela leur vaut le nom vernaculaire de **poisson-couteau**.

Son corps de couleur noire a un aspect velouté, dû à de très petites écailles arrondies. Une bande dorsale blanche (qui vire au jaune avec l'âge) le parcourt de la tête à la queue. Dans la partie postérieure apparaissent deux bandes caudales verticales, également de couleur blanche (ou jaunâtre). Il possède des yeux de petite taille qui seraient voilés par une membrane, un caractère propre aux Gymnotes selon Lacépède (1800). Cet auteur insiste aussi sur une conformation singulière chez cette espèce : la présence d'un long **filament dorsal** qui prend naissance au premier tiers de la longueur du corps et reste immobilisé dans un sillon. Ce filament n'apparaîtrait cependant que chez des individus fixés (Kirschbaum, comm. pers.). L'aptéronote, dont la taille peut atteindre une quarantaine de centimètres (Ellis, 1913), est un prédateur à forte mâchoire et de moeurs nocturnes (Schwassmann, 1978). Il est aussi **solitaire, territorial, agressif** et n'est **pas facilement perturbé, en aquarium, par son environnement extérieur** (Bullock, 1969 ; Knudsen, 1974). Dans la nature, il se nourrit de proies vivantes (larves d'insectes, vers, crustacés et petits poissons). En milieu confiné, il s'accommode très bien d'aliments inertes tels que des artémies ou des larves de chironomes congelés. L'aptéronote, comme la plupart des espèces de poissons électriques, **se reproduit durant la saison des pluies**. Sa reproduction artificielle en aquarium reste délicate[1] ; deux tentatives, l'une par une équipe russe, l'autre au Laboratoire de Gif-sur-Yvette (CNRS), montrent qu'en aquarium, la maturation des gonades peut être facilement obtenue par simulation des conditions régnant durant la saison des pluies. En revanche, la ponte est très difficile à obtenir. Aucun résultat n'a été publié à ce jour sur la reproduction de cette espèce, en milieu artificiel.

Du point de vue anatomique, notons que la cavité abdominale est placée juste derrière la tête. Seules la vessie gazeuse et les gonades s'étendent légèrement en arrière des viscères. Le

[1] : Très récemment, nous avons appris l'existence d'une pisciculture indonésienne (PT. Vivaria Indonesia) qui fournit le marché aquariophile en aptéronotes reproduits artificiellement.

reste du corps ne contient que l'axe nerveux, les muscles et l'organe électrique. C'est justement la **faculté électrogène de l'aptéronote** que nous allons aborder ci-après.

2.2.4. Système électro-sensorimoteur

2.2.4.1. Introduction

Parmi les poissons électriques, nous distinguons généralement deux groupes (Moller, 1980). Le premier concerne les organismes qui possèdent uniquement des électrorécepteurs. Ces poissons perçoivent des champs électriques qu'ils n'ont pas eux-mêmes engendrés : c'est le groupe des **électrosensoriels passifs**. Appartiennent à celui-ci certaines espèces de squaliformes, de siluriformes et de rajiformes. Le second groupe réunit les poissons qui, en plus des électrorécepteurs, sont munis d'organes électriques spécialisés. Ces animaux, à la fois électrogènes et électrorécepteurs, perçoivent et les champs électriques étrangers et ceux qu'ils ont eux-mêmes activement produits. C'est le groupe des **électrosensoriels actifs**[2]. Dans celui-ci se rangent les poissons électriques à forte décharge, assez rares en eau douce (*Electrophorus electricus*, *Malapterurus electricus*, *Malapterurus microstoma*, *Malapterurus minjiriya*). L'émission électrique intervient par rafales occasionnelles et répond principalement à des fonctions de défense et de prédation. Dans ce même groupe des électrosensoriels actifs se classent aussi des **poissons dits faiblement électriques**. Leurs faibles décharges électriques peuvent être soit **pulsatoires**, soit **ondulatoires** (Bennet, 1971). Rappelons que dans le premier cas, il s'agit d'impulsions électriques brèves séparées par de longs intervalles (plusieurs millisecondes ; cas de *Gnathonemus petersi*, Mormyriformes). Au contraire, la seconde catégorie concerne des décharges électriques de forme quasi-sinusoïdale, ne présentant aucune discontinuité entre deux périodes successives (cas d'*Apteronotus albifrons*).

Les décharges des poissons faiblement électriques sont dévolues à des fonctions d'**électrolocalisation** et d'**électrocommunication**. Notons que la transmission des signaux électriques peut être considérée comme instantanée, comparable à une transmission visuelle et auditive respectivement pour la vitesse et l'efficacité (Hopkins, 1974b, 1977). Très rapidement, décrivons le principe de l'électrolocalisation. Nous pouvons assimiler l'organe électrogène à un **dipôle électrique alternatif**, formé d'un pôle positif antérieur et d'un pôle négatif postérieur pour la première alternance, et inversement pour la seconde. Le courant qui, à l'intérieur de l'organisme, se dirige dans un premier temps de l'arrière vers l'avant, referme son circuit de l'avant vers l'arrière à travers l'eau ambiante. Il se forme autour du poisson un champ alternatif, sorte de **halo électrique** (*cf.* figure 3). Tout objet présentant une impédance électrique

[2] : D'où l'expression de "décharges auto-stimulatrices" couramment employée dans la littérature pour désigner les émissions de sondage de ces poissons électriques.

différente de celle de l'eau produit une distorsion dans ce champ (allongement et dispersion ou au contraire court-circuit et concentration des lignes de courant, suivant la mauvaise ou la bonne conductivité de cet objet). Il s'ensuit à la surface le l'animal une modification locale de l'intensité du courant transcutané. L'ombre électrique des objets environnants se projette en deux dimensions sur la peau du poisson, véritable rétine électrique. Le champ efficace pour l'électrolocalisation est environ 10 fois inférieur à celui de l'électrocommunication (Westby, 1984). En effet, l'électrolocalisation est possible jusqu'à 10 cm environ autour du poisson, alors que l'électrocommunication peut se faire dans les 2 ou 3 m qui entourent le poisson (Granath *et al.*, 1968), selon les conditions extérieures (principalement la conductivité de l'eau). Notons aussi qu'une multiplicité de messages peut être communiquée électriquement (Hopkins, 1977 ; Westby, 1984), relativement au sexe, à l'âge, à la taille, à l'intention (menace, soumission, parade, cohésion du groupe, ...) du poisson émetteur.

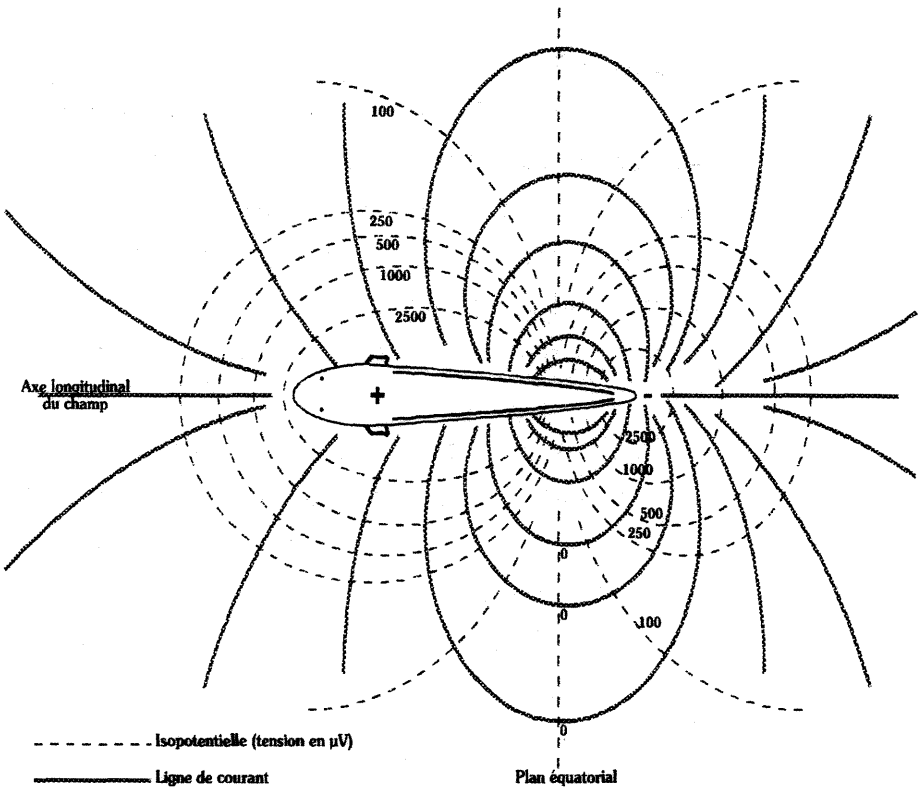


Figure 3 : Représentation schématique de la répartition spatiale du champ électrique engendré par *Apteronotus albifrons* (modifiée d'après Knudsen, 1975).

Nous retiendrons que le sens électrique est dû à l'association d'un organe électrique émetteur et d'organes récepteurs spécialisés, les électrorécepteurs. Le tout est sous la commande du système nerveux central. La figure 4 présente la morphologie de l'aptéronote. A présent, examinons plus en détail les facultés électrogènes et électroréceptrices de l'aptéronote.

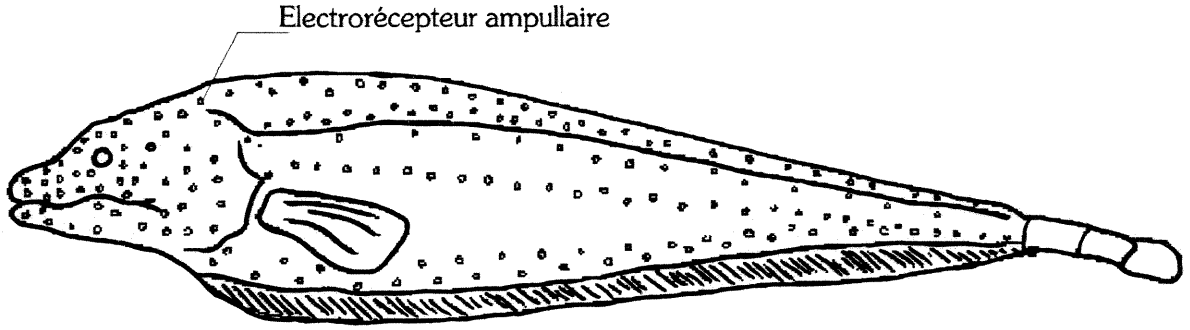


Figure 4 : Morphologie d'*Apteronotus albifrons*. Précision de la localisation des électrorécepteurs de type ampullaire (d'après Szabo, 1965)[3].

2.2.4.2. Electrogenèse

La faculté électrogène des poissons électriques s'explique par la présence d'un **organe électrique**. Il est constitué de plusieurs colonnes de syncythia, appelées **électroplaques** ou **électrocytes**, dont seule la face postérieure est innervée. L'origine embryonnaire de ces cellules est en général myogénique (modification évolutive de cellules musculaires), sauf pour la famille qui nous intéresse, les Apteronotidae, chez laquelle les cellules sont **évolutivement dérivées de fibres nerveuses** (Bennet, 1971 ; Couceiro *et al.*, 1955). Avec cette particularité, cette famille se démarque des autres poissons électriques, en s'affranchissant des jonctions neuro-musculaires, ce qui autorise la fréquence d'émission la plus haute et leur permet d'exploiter un canal de communication inutilisé par les autres espèces. L'organe électrique de l'aptéronote, très particulier, est formé par les **prolongements axoniques des électromotoneurones,** disposés tout le long de la moelle en position dorsale ou latérale par rapport au canal de l'épendyme. Le diamètre de ces cellules est d'environ 40 à 60 µm. Elles sont dépourvues de prolongements dendritiques, en revanche elles sont reliées entre elles par des jonctions électrotoniques[4] (Pappas *et al.*, 1975). L'organe électrique s'étend longitudinalement et ventralement, juste sous la colonne vertébrale, sur une grande partie de la longueur du corps de l'animal (Bennet, 1971). La gaine de myéline des électromotoneurones prend naissance au contact du soma de ces neurones ; elle entre dans l'organe électrique et forme un électrocyte (*cf.* figure 5). L'activité de l'organe électrique est sous la commande d'un centre rythmeur, le **pacemaker**, qui se trouve dans la médulla.

---

[3] : Les organes tubéreux ne sont pas mentionnés sur la figure qui est proposée. Szabo (1965) estime la concentration de ces derniers à 2 par mm² pour l'épiderme du dos, 5 par mm² pour celui de la tête et 12 par mm² pour l'épiderme entourant l'ouverture buccale. D'une façon générale, ils sont beaucoup plus abondants que les organes ampullaires.

[4] : Ceci explique la synchronisation de la décharge de chaque électrocyte et peut-être aussi la grande stabilité de la fréquence des émissions électriques (Denizot, comm. pers.).

Intéressons-nous d'un peu plus près à la naissance et à la propagation du champ électrique dans le cas des électrocytes myogènes. D'un point de vue fonctionnel, chaque unité excitable est une cellule électrique limitée par une membrane, qui sépare deux milieux de compositions chimiques différentes. La perméabilité sélective de cette membrane maintient activement une différence de concentrations en ions (donc en charges) entre le milieu extérieur (riche en cations sodium, Na^+) et le milieu intérieur (riche en gros anions organiques prisonniers de la membrane et en ions potassium, K^+ qui, compte tenu de leur faible dimension, diffusent à travers la membrane et vont enrichir sa charge positive externe). Cela se traduit par une différence de potentiel de quelques dizaines de millivolts : c'est le **potentiel de repos**. Durant la phase de repos, la cellule est chargée positivement à l'extérieur de la membrane et négativement à l'intérieur. Sous l'effet de l'influx nerveux - lequel est une onde de dépolarisation -, la région innervée de la membrane entame à son tour sa dépolarisation. Elle devient pour un moment, à l'endroit stimulé, perméable aux ions Na^+. Ces derniers, qui profitent non seulement du gradient de concentration mais aussi du champ électrique, font irruption dans la cellule. Cela rend positive la face interne de cette région innervée et négative la face externe (par raréfaction des charges positives). Pendant ce temps, la polarité de la région opposée (non innervée) de la membrane reste inchangée[5]. Les deux faces opposées sont alors électriquement en série, comme les éléments d'une pile. Il y a ainsi création d'un **potentiel d'action**. La décharge synchronisée de toutes les cellules engendre un courant électrique, dont le potentiel global est la **somme des tensions cellulaires différentielles**.

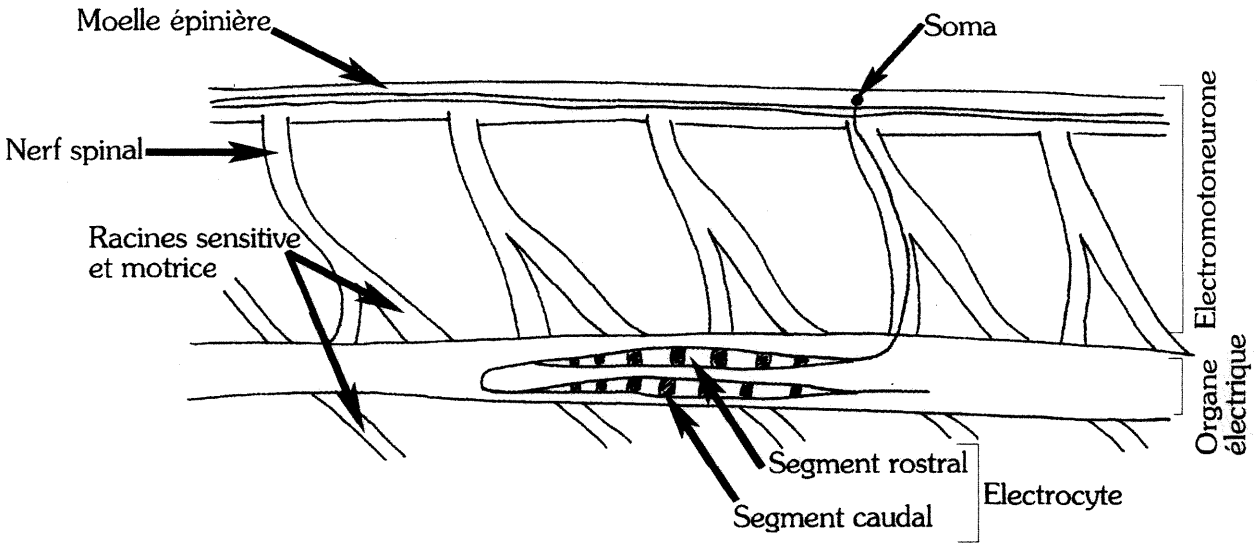


Figure 5 : Schéma de l'organisation de l'organe électrique et détail d'un électrocyte (modifié d'après Bennet, 1971).

[5] : Cas des électrocytes myogènes.

Les lignes de courant électrique qui entourent continuellement le poisson, en sortent et y entrent au travers de structures cellulaires particulières, que sont les **électrorécepteurs**. Nous allons les décrire ci-après. Toutefois, notons préalablement que le champ électrique qui entoure le poisson n'a pas la régularité de répartition du champ d'un dipôle théorique. Ainsi la densité des lignes de courant est extrêmement élevée dans la région caudale ; ceci explique l'approche en "nage arrière" du poisson vers un objet inconnu. En effet, cela maximise les distorsions du champ électrique et contribue à une meilleure estimation de la taille et des qualités électriques de l'objet (impédance, réactance capacitive). Ce comportement permet en même temps au poisson de garder simultanément intactes ses facultés de détection d'un éventuel prédateur à l'aide des lignes de courant de la région antérieure de son champ (Knudsen, 1975).

2.2.4.3. Electroréception

Un organisme est toujours sollicité par un certain nombre de stimuli. Il est à même de les percevoir plus ou moins fortement grâce à l'existence de sensibilités qui sont de 2 types. La première est la **sensibilité générale ou cénesthésique**, essentiellement proprioceptive. La seconde, **extéroceptive**, traite l'information en provenance de récepteurs sensoriels bien définis. Cette dernière sensibilité peut être visuelle, olfactive, auditive, ... et dans le cas qui nous intéresse plus particulièrement, électrique. Les poissons possèdent pour cela des électrorécepteurs, organes sensoriels qui répondent sélectivement à des champs électriques naturels. Ils traduisent en informations nerveuses les variations électriques du milieu. Ces récepteurs sont distribués dans les téguments internes de la peau, cette dernière étant par ailleurs très peu conductrice. Chez les Gymnotiformes, il existe plusieurs types de cellules électroréceptrices : **ampullaires** et **tubéreuses** (*cf.* figure 6).

Les **électrorécepteurs ampullaires** sont situés immédiatement sous la surface de la peau et sont constitués d'un canal plus ou moins long contenant une gelée de polysaccharides neutres. L'extrémité distale s'ouvre sur le milieu extérieur et l'extrémité proximale s'élargit pour former une ampoule dans laquelle se trouve un épithélium sensoriel. Les fibres nerveuses afférentes, issues des organes ampullaires, acheminent vers les centres nerveux supérieurs l'information relative à l'intensité des champs détectés. Ce sont les électrorécepteurs les plus sensibles, en particulier aux champs électriques continus ou de basse fréquence (Bullock et Chichibu, 1965). Ils renseignent l'animal sur la présence de proies éventuelles. Chez l'aptéronote, les seuils de détection sont aussi bas que 0,6 à 0,9 μV/cm (Knudsen, 1974).

Les **électrorécepteurs tubéreux** forment une capsule épidermique contenant des cellules sensorielles, mais sans communication directe avec l'extérieur. Situés dans une invagination de la membrane basale de l'épiderme, ils sont nettement moins sensibles que les

électrorécepteurs ampullaires. Signalons l'existence de deux types de récepteurs tubéreux : les premiers sont aptes à coder les variations d'amplitude d'un signal reçu. C'est à eux qu'est spécialement dévolue la fonction d'électrolocalisation et de navigation sans visibilité. Ils sont spécifiquement accordés à la gamme de fréquence des EOD de l'espèce à laquelle ils appartiennent. Une harmonie parfaite existe entre la sensibilité de ces électrorécepteurs tubéreux et les caractéristiques des décharges de l'organe électrique du poisson (encore désignées par les abbréviations EOD pour *"Electric Organ Discharge"*). De plus, leurs seuils de sensibilité varient de façon synchrone avec l'émission électrique de sondage, de telle sorte qu'entre deux impulsions consécutives de son organe émetteur, l'animal reste sourd à tout phénomène électrique parasite. En outre, il existe un dispositif antibrouillage ("*Jamming Avoidance Response*" ou JAR[6]) qui améliore encore la capacité d'électrolocalisation. Les différentes valeurs d'intensité recueillies par les électrorécepteurs tubéreux pourront ainsi être codées selon diverses modalités (modulation de fréquence, durée de salve, modulation de latence, probabilité [Fessard, 1974 ; Szabo, 1973]).

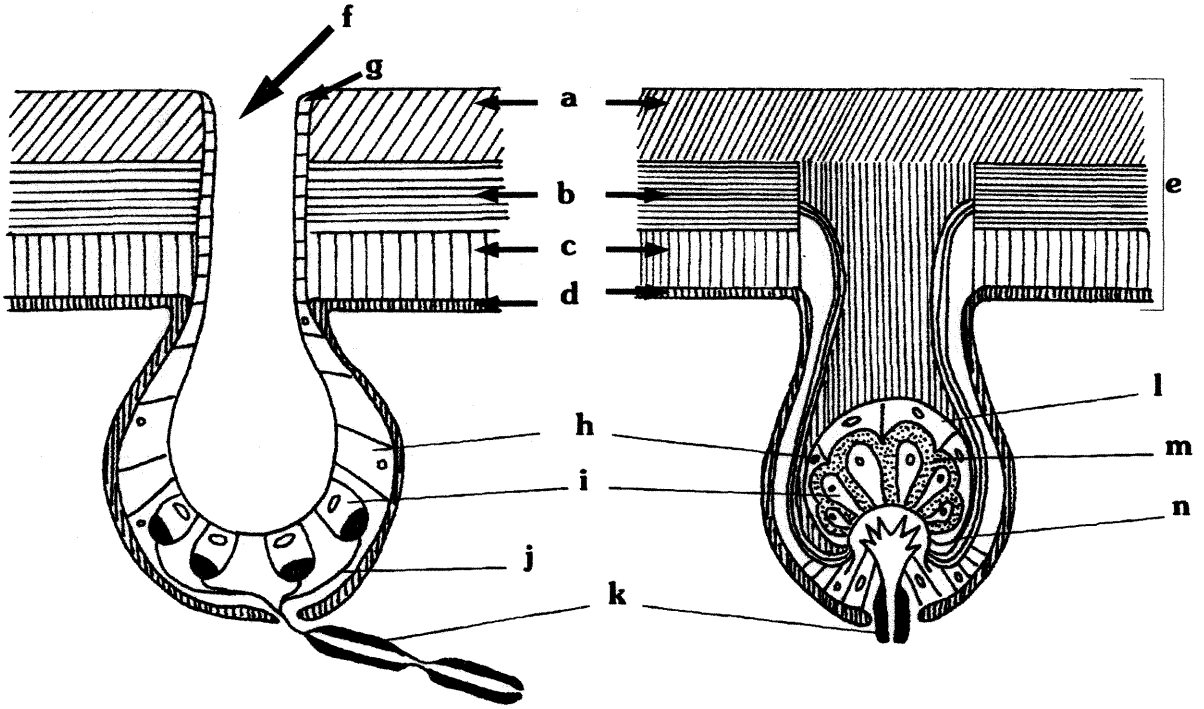


Figure 6 : Schéma de l'anatomie des organes électrorécepteurs (d'après Szabo, 1974). 1. Electrorécepteur ampullaire ; 2. Electrorécepteur tubéreux.
a : Couche superficielle. b : Couche de cellules aplaties horizontalement. c : *Stratum spinosum* et couche interne. d : Membrane basale. e : Peau. f : Gelée de mucoplysaccharides. g : Cellules accessoires apicales. h : Cellules accessoires basales. i : Cellules sensorielles. j : Division de la fibre nerveuse nue parmi les cellules accessoires, en contact avec une ou plusieurs cellules sensorielles. k : Fibre nerveuse myélinisée. l : Cellule couvrante. m : Espace périsensoriel. n : Cellule du *stratum spinosum*.

[6] : La JAR est un changement réflexe de la fréquence des EOD du poisson, lorsqu'il est stimulé par un courant alternatif d'une fréquence proche de la sienne, de façon à ce qu'il y ait une augmentation de la différence entre les deux fréquences (celle du poisson et celle du stimulus, ce dernier pouvant être l'émission électrique d'un congénère). La signification de ce mécanisme est probablement le maintien d'une fréquence privée pour la détection des objets lorsque d'autres poissons de fréquences proches sont dans le voisinage. Ce mécanisme a été découvert par Watanabe et Takeda en 1963.

Le deuxième type d'électrorécepteur tubéreux n'a pas vocation d'évaluer l'intensité d'un champ ; il répond avec une extrême sensibilité et une très grande rapidité à tout événement électrique bref par une impulsion nerveuse unique. Ces électrorécepteurs jouent apparemment un rôle important dans l'identification et la communication entre individus.

L'ensemble des informations recueillies sera véhiculé par des fibres afférentes jusqu'au système nerveux central (SNC) pour répondre donc à des fonctions de localisation et de communication (Heiligenberg, 1973).

2.2.4.4. Caractéristiques de la décharge électrique de l'aptéronote

La structure de l'organe électrogène régit pour une grande partie la forme de la décharge électrique (***"Electric Organ Discharge"*** ou **EOD**). Celle-ci est, chez tous les Apteronotidae, continue et régulière. Ce sont des poissons à ondes (*"wave fish"*).

La forme de l'EOD chez *A. albifrons* est d'allure **pseudo-sinusoïdale**, comme l'illustre la figure 7a. La transition entre les alternances positive et négative se singularise graphiquement par un décrochement plus ou moins long : le signal n'est donc pas rigoureusement sinusoïdal. Son analyse spectrale révèle un certain nombre d'**harmoniques** (voir figure 7b). Il faut souligner que la fondamentale et l'harmonique 2 fournissent à eux seuls la plus grande partie de l'énergie du signal (Bastian, 1981). D'autre part, chez les Apteronotidae, les EOD n'ont pas ou peu de composante continue (Bennet, 1971), propriété qui, selon nos propres observations, mériterait une plus ample vérification.

> *Remarque : Soulignons que l'étude de la forme de l'onde permet, chez les poissons électriques, une identification très fiable des espèces.*

L'EOD ondulatoire de l'aptéronote est de **faible amplitude** et nous enregistrons seulement quelques millivolts dans les électrodes de captage. Sa gamme d'émissions électriques est comprise **entre 750 Hz et 1.250 Hz**, pour une température de l'eau de 25°C (Scheich et Bullock, 1974). Il semble que la fréquence des EOD chez les femelles soit inférieure à celle des mâles. Plus précisément, on indique une gamme de 1000 à 1200 Hz chez les mâles alors que les femelles auraient une fréquence d'émissions comprises entre 700 et 800 Hz (Jacob, 1989). Cette variation sexuelle de la fréquence des décharges électriques n'est cependant pas toujours très fiable. En réalité, Meyer (1983) observait que parmi les Gymnotiformes, seul le genre *Sternopygus* possède une différence sexuelle prononcée de la fréquence.

En ce qui concerne l'aptéronote, il est probable que l'étude de l'amplitude pic à pic du signal additionnée de considérations morphologiques (épaisseur du pédoncule caudal) puisse apporter des éléments plus probants pour la détermination du sexe (Jacob, 1989).

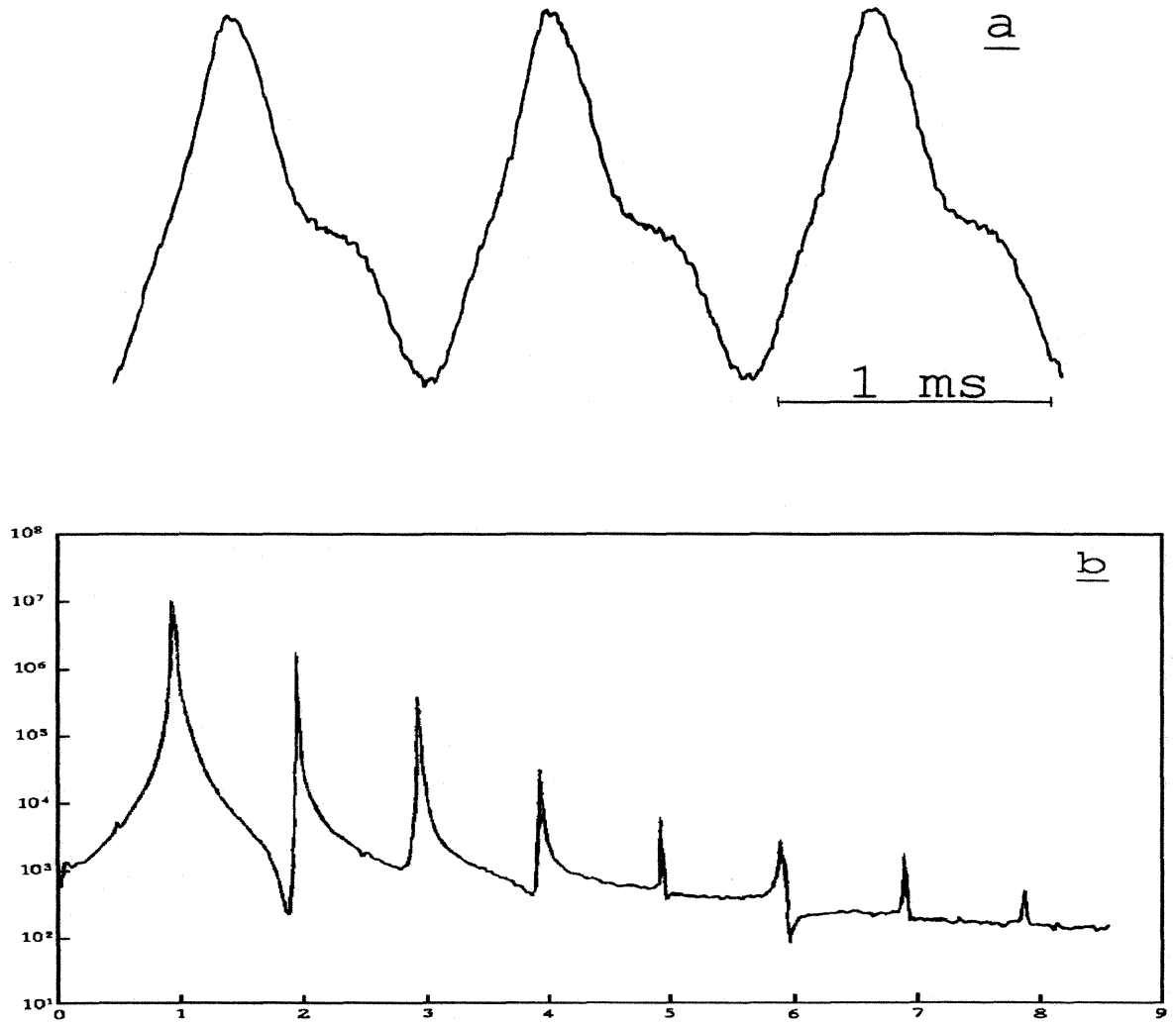


Figure 7 : La décharge électrique engendrée par *Apteronotus albifrons*.
a. Présentation de l'allure pseudo-sinusoïdale de la forme de l'EOD.
b. Décomposition spectrale du signal électrique à partir de la transformée de Fourier (FFT ou "*Fast Fourier Transform*") : spectre de puissance des 8 premiers harmoniques
(ordonnée : échelle logarithmique).

Toujours est-il qu'*A. albifrons* possède une caractéristique électrique remarquable : il s'agit de la **constance de la fréquence** de son EOD, avec un coefficient de variation inférieur à 0,1 % (Erskine *et al.*, 1966), voire à 0,01 % (Bullock, 1969, 1970). Ce dernier auteur note que le changement de fréquence des EOD est rare et n'apparaît pas même en ayant recours à toute une gamme de stimuli, comme :

~ toucher le poisson avec une petite baguette,

~ agiter l'eau,

~ le nourrir,

~ allumer ou éteindre les lampes,

~ et parfois l'exposer à de petits stimuli électriques.

Nous n'enregistrons pas non plus de réponses chez *A. albifrons* après une stimulation acoustique (de 50 à 60 dB), à la différence de ce qui est observé chez *Hypopomus* sp., poisson électrique de type pulsatoire (Kramer *et al.*, 1981). Ces auteurs pensent que ceci est dû au fait que l'aptéronote (par suite de l'origine neurogénique de ses organes émetteurs) a une fréquence de décharge indépendante de l'activité motrice et des stimuli externes (mis à part ceux de nature électrique). Meyer *et al.* (1987) quant à eux, attribuent la grande stabilité du taux de décharges chez l'aptéronote, au grand nombre de cellules dans le pacemaker médullaire.

Apparemment le seul stimulus efficace, mis à part la température (qui a accès au centre rythmeur des décharges électriques) consiste dans les entrées sensorielles au niveau des électrorécepteurs. Cette régularité est probablement l'apanage des **organes électrogènes neurogéniques** (Florion, 1984).

Etant donné cette constance, des modulations de fréquence de seulement quelques Hertz peuvent être significatives (Hopkins, 1988). Cependant, des signaux d'information sur la motivation, comme la menace, peuvent apparaître sous forme de "***chirps***" (Black-Cleworth, 1970 ; Bullock, 1969 ; Hopkins, 1977 ; Scheich et Bullock, 1974) ; ce sont de brusques élévations de 10 % à 30 % de la fréquence sur une durée de 20 ms à 100 ms. Ces pics de fréquence sont imprévisibles et apparaissent de façon isolée ou en série à un taux irrégulier. Ils sont suivis par un retour progressif à la fréquence de départ. Erskine *et al.* (1966) ont aussi enregistré des "***spikes***" : il s'agit également d'une augmentation de fréquence, mais de plus faible amplitude (de 2 % seulement) et de plus longue durée (0,1 s à 100 s) que les "*chirps*". Ce comportement électrique est principalement lié aux relations intra-spécifiques et développé par le poisson dominant (Bullock, 1969).

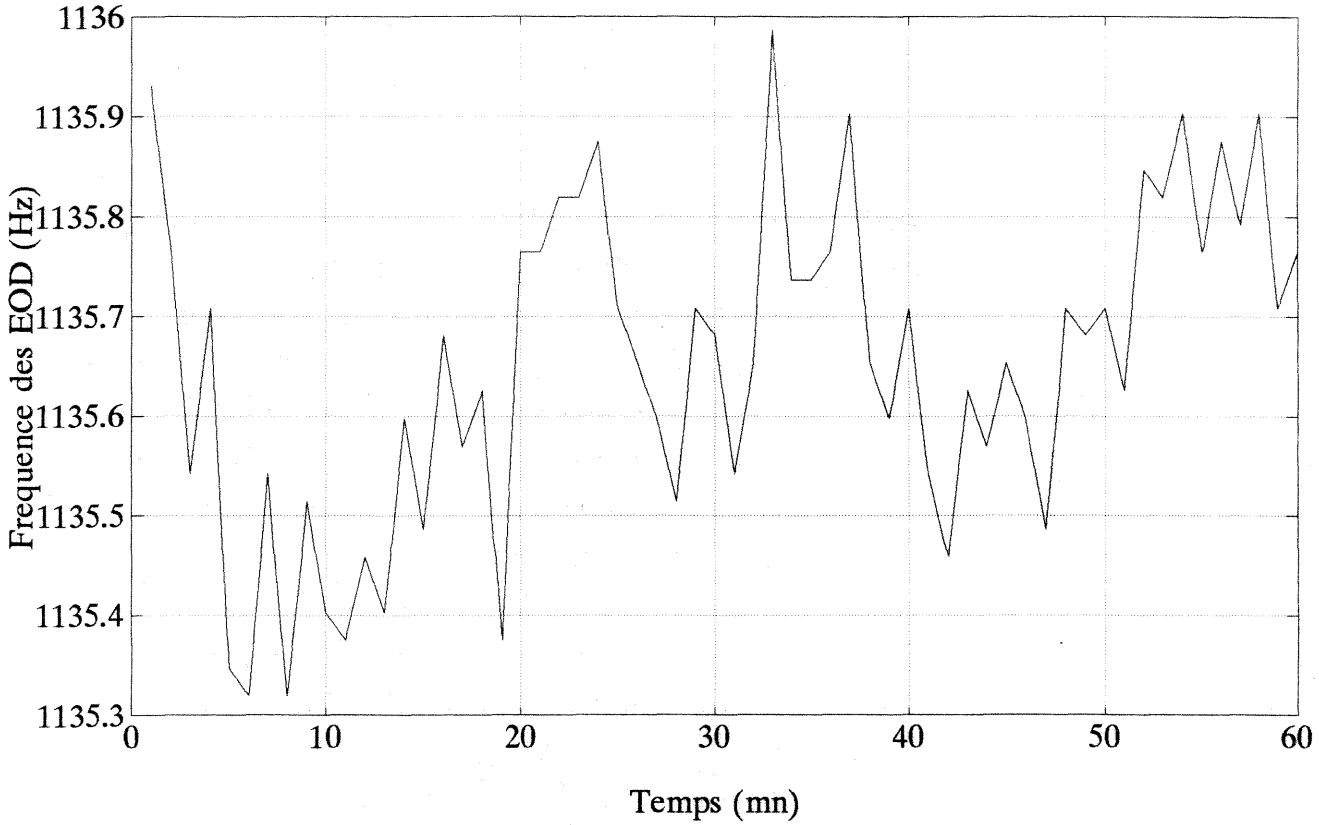


Figure 8 : Evolution temporelle de la fréquence de décharge de l'organe électrique chez *Apteronotus albifrons* (température de l'eau durant l'enregistrement : 27°C). Moyenne = 1135,7 Hz ; Ecart-type = 0,1.

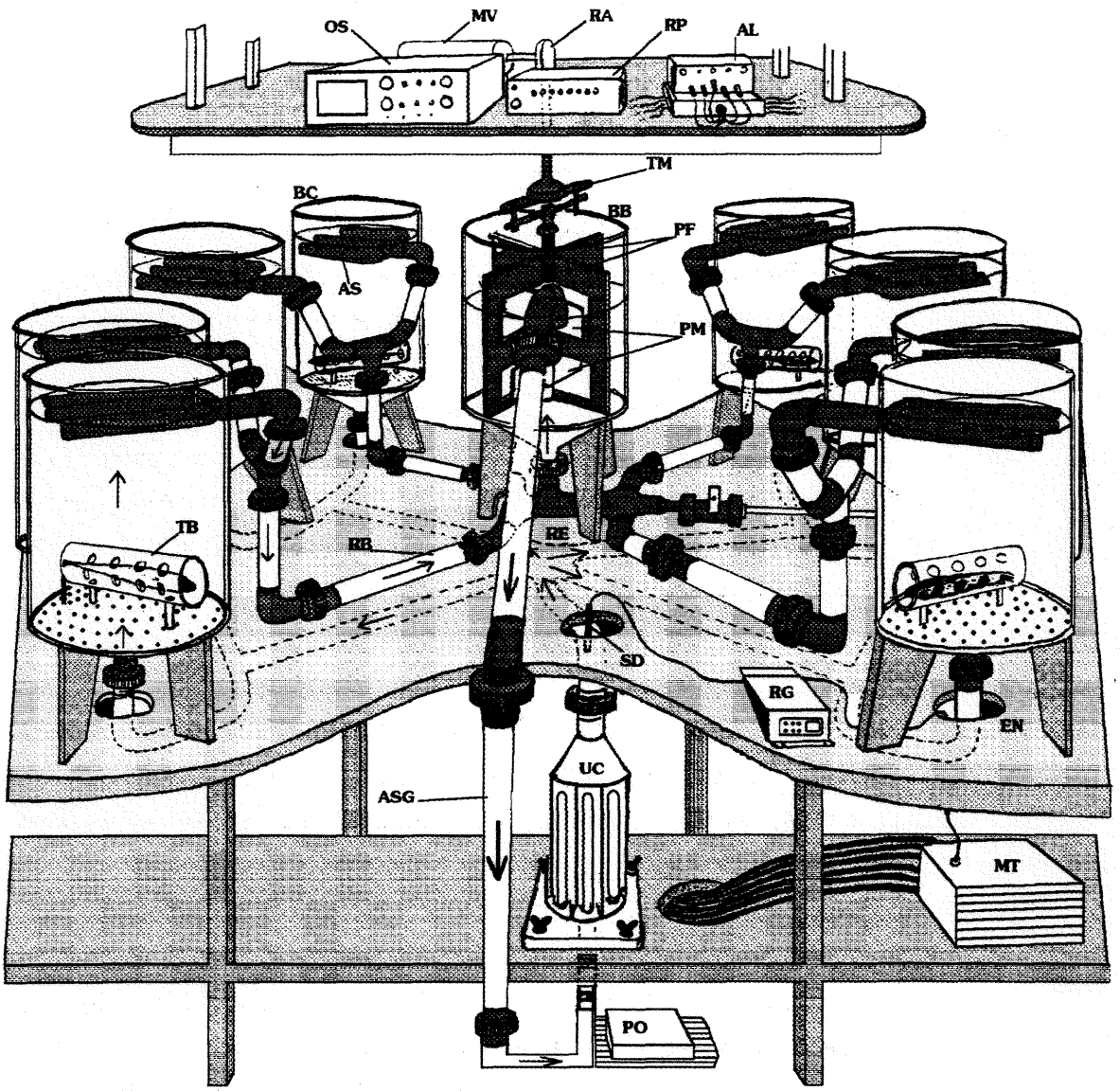
Enfin, Hopkins (1974b) et Larimer et McDonald (1968) notent que chez les Apteronotidae, il ne se produit jamais de cessation momentanée de l'émission électrique, comme c'est le cas par exemple chez l'ondulatoire africain *Gymnarchus niloticus* (Szabo et Suckling, 1964). A titre d'exemple, la figure 8 présente un enregistrement des variations de la fréquence de décharge en fonction du temps, chez *A. albifrons*.

2.3. Matériel expérimental : le système thermo-hydraulique

Le schéma de notre dispositif hydraulique expérimental est conçu de façon à résoudre le problème des contraintes thermiques liées à la biologie de l'espèce et à la dépendance de sa réponse électrique vis-à-vis de la température de l'eau. Cette unité de laboratoire, qui fonctionne en circuit fermé, est apte à répondre ultérieurement aux exigences plus drastiques d'un système opérant en circuit ouvert (débit, taux de renouvellement).

Le dispositif est schématisé figure 9. Il comprend 8 bacs de contention cylindro-coniques, d'un volume unitaire de 45 l (40 l pour la partie cylindrique, 5 l pour la partie conique). Ils sont constitués d'une double paroi de PVC transparent - ce qui permet une surveillance visuelle du comportement des poissons et une meilleure protection thermique de leur milieu. Ces 8 bacs sont implantés circulairement autour d'une cuve de brassage de mêmes caractéristiques. A la base de cette dernière est disposé un système d'injection des substances à tester. Le mélange intime eau-produit toxique est réalisé par des pales animées d'un mouvement circulaire à vitesse contrôlable. Prélevé en surface, ce mélange vient ensuite alimenter un réchauffeur de forme cylindro-conique et d'un volume de 5 l. Le liquide qui y pénètre est distribué à la base du cylindre, lequel est occupé, en son centre, par un déflecteur de faible capacité calorifique. Celui-ci ménage des espaces où la vitesse du flux hydraulique est maximale et dans lesquels se logent 6 résistances chauffantes en inox (diminution du phénomène d'inertie calorifique). Une sonde platine type Pt 100 en sortie du réchauffeur informe un thermorégulateur de la température de l'eau. Cette unité thermorégulatrice délivre un signal variable de 0 à 20 mA à un gradateur (unité de puissance à thyristors), qui le convertit en une variation proportionnelle de la puissance des résistances par modulation continue de l'intensité du courant qui les traverse. L'eau, ainsi brassée et thermorégulée avec précision, est ensuite répartie de façon synchrone à la base des 8 bacs de contention. Dans ces derniers, des plaques perforées sont aménagées dans la partie conique ; elles permettent une distribution homogène du liquide sur la section entière du cylindre. Des essais colorimétriques ont été effectués de façon à vérifier cette homogénéité. Un poisson-test est placé dans la partie cylindrique de chaque bac de contention. Il se loge à l'intérieur d'un tube de PVC transparent, largement perforé. Ces perforations ont une triple fonction : 1. elles sont indispensables à la mise en contact permanente du poisson avec le mélange hydrique ; 2. elles permettent le passage des lignes de courant dont s'entoure continuellement le poisson et facilitent un captage omnidirectionnel du signal ; 3. elles sécurisent le poisson dont le système de détection ne rencontre pas l'obstacle d'une paroi électriquement infranchissable. Le tube lui-même est perçu par le poisson comme un abri rigide dans lequel la lumière est atténuée. Et c'est d'ailleurs très spontanément qu'il s'y réfugie durant la phase diurne. C'est une des raisons pour lesquelles les scientifiques américains attribuent à l'aptéronote le qualificatif de "coopératif". Chaque poisson est ainsi soumis continuellement à un courant d'eau ascendant. Le liquide, par un système de collecte en surface, est renvoyé à la base de la cuve de brassage. La circulation de l'eau dans le circuit hydraulique complet réclame 3 à 4 minutes.

En conclusion, le principe de ce système thermo-hydraulique a l'avantage de pouvoir s'adapter aussi bien en circuit ouvert pour la biosurveillance de la qualité des eaux qu'en circuit fermé pour des études toxicologiques.



Dessin : A. Florion & B. Alenda.

Figure 9 : Schéma de l'unité expérimentale de laboratoire.

AL : Alimentation électrique des préamplificateurs et amplificateurs modulaires annexés à chaque bac (tensions : - 12V ; - 5 V ; 0 V ; + 5V ; + 12 V). AS : Aspiration superficielle de l'eau dans chaque bac. ASG : Aspiration générale de l'eau à tester dans chaque bac. EN : Entrée de l'eau à la base de chacun des 8 bacs de contention. BB : Bac de brassage. BC : Bac de contention. MT : Modulateur de puissance thermique à thyristors. MV : Moteur à variation électronique de vitesse. OS : Oscilloscope double trace (contrôle de la présence du signal bioélectrique dans chaque bac et visualisation du signal carré exprimant sa fréquence). PF : Pales fixes. PM : Pales mobiles. PO : Pompe assurant la circulation de l'eau dans l'ensemble du circuit hydraulique. RA : Réducteur mécanique de vitesse et renvoi d'angle sous carter. RB : Retour de l'eau vers le bac de brassage. RE : Répartition symétrique de l'eau thermorégulée et brassée vers les 8 bacs de contention (schéma en pointillé). RG : Thermorégulateur. RP : Répartiteur électronique des informations, sous la commande de l'ordinateur (allumage séquentiel de 8 leds, pour indiquer à tout instant quel bac est interrogé). SD : Sonde générale de thermorégulation (Pt 100). TB : Tube de sécurisation diurne d'*Apteronotus albifrons*. TM : Transmission mécanique du mouvement de brassage à pseudo-cardan. UC : Unité de chauffage à faible inertie calorifique (l'intensité qui traverse les 6 résistances de 2 KW est constamment modulée par MT). L'ensemble des tubulures est entièrement démontables (pour nettoyage) grâce à des joints toriques à serrage manuel molletté.

2.4. Méthodes de recueil et de traitement de l'information bioélectrique

2.4.1. Montages électroniques

L'information électrique de l'aptéronote est recueillie, dans chaque bac de contention, par **deux électrodes** en inox plongées verticalement dans un plan médian. Son captage[7] est optimal lorsque le poisson se tient dans le plan déterminé par le couple d'électrodes. Cette position est favorisée par l'**orientation du tube** dans lequel se loge l'animal-test (*cf.* figure 10). Une troisième électrode est immergée en surface, au centre de chaque bac et reliée à la masse des appareils et au zéro des alimentations symétriques (+12 V, 0 V, -12 V ; +5 V, 0 V, -5 V). Les variations périodiques de tension électrique ainsi collectées par les deux premières électrodes sont faibles (de l'ordre du millivolt). Elles font donc l'objet d'une **amplification** qui porte leur valeur à 2,5 V (ou plus si nécessaire) sans modification de la forme du signal. Nous procédons pour cela en deux étapes.

La première consiste en une **pré-amplification** à l'aide d'un circuit intégré linéaire TLC 272, dont le premier étage est monté en amplificateur différentiel. La symétrie particulièrement soignée entre le réseau de contre-réaction vers l'entrée inverseuse et le diviseur de tension de l'entrée non-inverseuse est réalisée grâce à l'emploi de résistances de précision rigoureusement identiques (à couche métallique). Le taux de réjection en mode commun ainsi obtenu est si satisfaisant qu'il a permis de s'affranchir du filtre à résistances-capacités primitivement prévu pour éliminer les traces de 50 Hz du secteur (qui ne manquent jamais de parasiter le signal du poisson). Les risques d'une perturbation artificielle des caractéristiques spectrales du signal par les circuits RC sont ainsi écartés.

La deuxième étape est une **amplification** proprement dite, à très grand gain (1.000 fois et plus), réalisée par le second étage du même TLC 272 et les deux étages d'un circuit intégré linéaire LM 1458. Un dernier circuit intégré µA 741 sert au réglage d'offset exigé par l'entrée de l'interface de l'ordinateur.

Chaque bac est ainsi équipé de son bloc autonome de pré-amplification-amplification. L'avantage de ce dispositif, apparemment dispendieux en électronique, est de fournir au répartiteur chargé d'interroger séquentiellement les bacs, un signal déjà suffisamment puissant pour n'être pas affecté par d'éventuels bruits de commutation.

---

[7] : Convenons une fois pour toutes qu'on procède indifféremment à la "capture" ou au "captage" d'un signal.

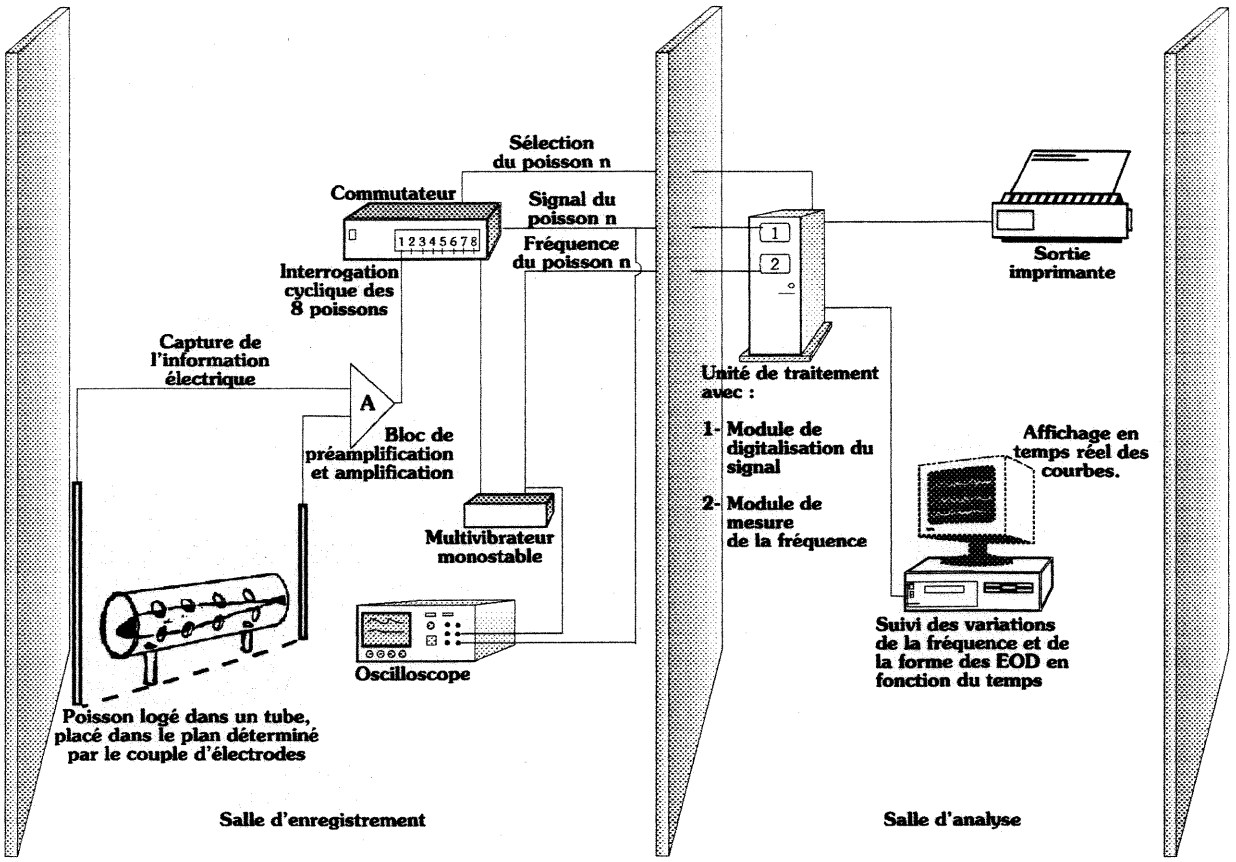


Figure 10 : Schéma simplifié du dispositif électronique pour la capture et le traitement des signaux électriques engendrés par *Apteronotus albifrons*. De façon à prévenir tout stress visuel et auditif, la capture et l'analyse de l'information électrique sont réalisées dans deux salles distinctes.

2.4.2. Procédé et exploitation informatique

Par l'intermédiaire d'un commutateur qu'il pilote, un système informatique récupère cycliquement l'**information électrique** de chaque poisson afin d'en exploiter les caractéristiques. Cette unité de traitement du signal est constituée d'un ordinateur à architecture IAPX 486 et d'interfaces destinées à **la mesure de la fréquence** et à **la numérisation**. La décharge électrique de chaque poisson sélectionné par le commutateur est donc digitalisée à l'aide d'un convertisseur analogique / numérique à une fréquence d'échantillonnage de 420 kHz, avec une résolution de 8 éléments binaires (bits). Cette **digitalisation** permet de stocker 10.000 points correspondant à environ 25 alternances du signal, auxquelles on applique une analyse spectrale précise par la **transformée de Fourier** (FFT ou *"Fast Fourier Transform"* ; voir figure 7). Dans le même temps, un multivibrateur monostable utilisant 2 des 4 entrées d'un circuit intégré CMOS 4001 (quadruple porte N.OR) transforme le signal quasi-sinusoïdal en **impulsions rectangulaires** ; ce dispositif permet logiciellement le **chronométrage** rigoureux d'un nombre fixe de passages à zéro. Cette méthode non seulement assure une mesure rapide (0,05 secondes) correspondant donc à la

fréquence quasi instantanée du poisson mais, de plus, fournit une précision de l'ordre du centième de Hertz indispensable au suivi des variations. Les caractéristiques des signaux ainsi collectées et numérisées peuvent être stockées et traitées mathématiquement par l'ordinateur. L'ensemble de ces étapes est synthétisé dans un organigramme présenté figure 11.

Le biodétecteur développé dans cette étude a fait l'objet d'un **dépôt de brevet** (Florion *et al.*, 1994), qui le décrit de façon détaillée en termes biologique, hydraulique, thermique, électronique et informatique.

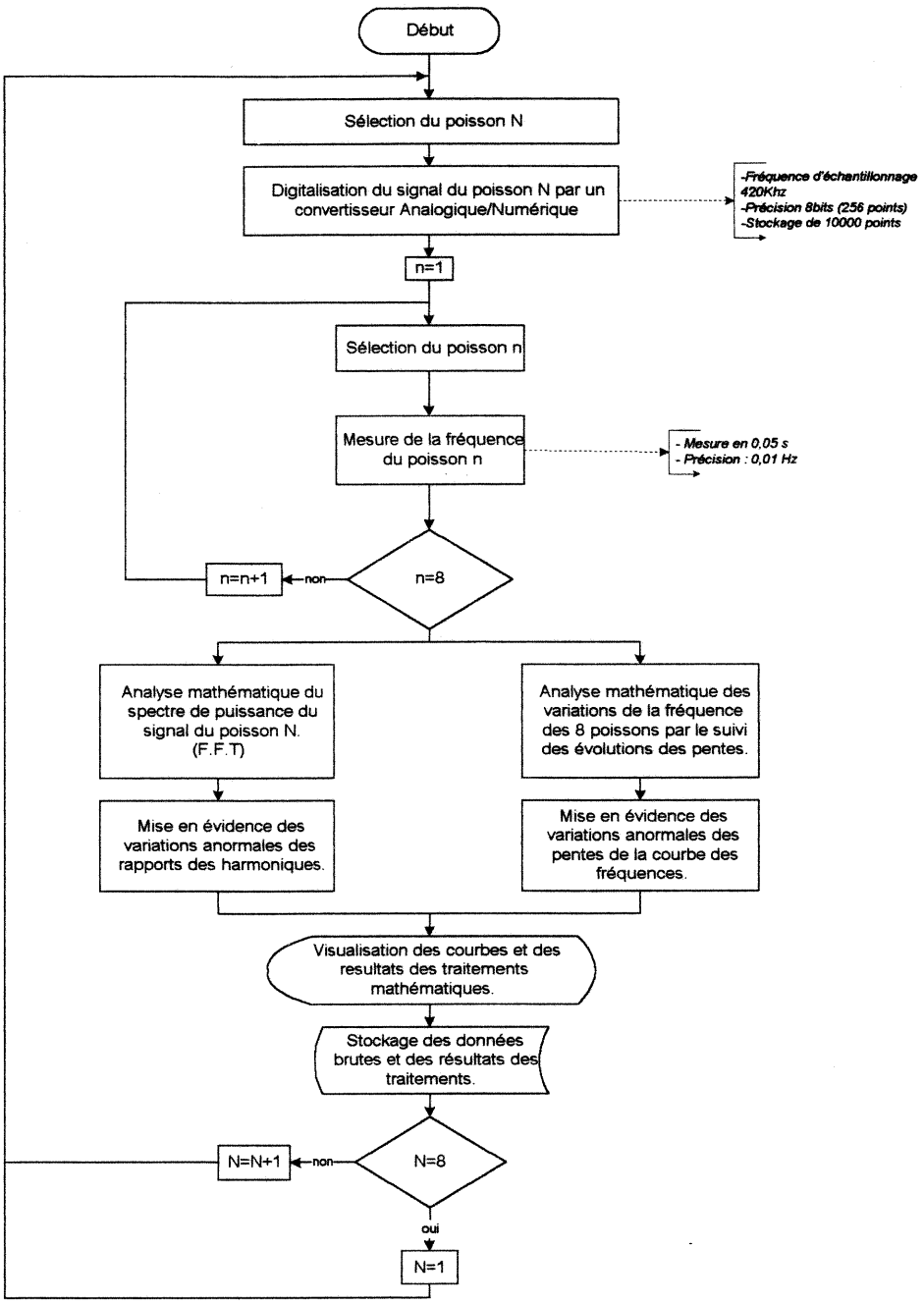


Figure 11 : Organigramme des différentes étapes de recueil, traitement et analyse des données.

CHAPITRE 3

ETUDE DE L'INFLUENCE DE PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES SUR L'ACTIVITE ELECTRIQUE D'*APTERONOTUS ALBIFRONS*

3.1. Introduction

D'une façon très générale, pour la réalisation d'un biodétecteur, il est fondamental de connaître non seulement la sensibilité du réactif biologique vis-à-vis d'une large gamme de polluants, mais aussi ses réponses consécutives à des changements de paramètres physico-chimiques qui n'entrent pas forcément dans le cadre d'une pollution. Il est effectivement important de pouvoir faire une discrimination entre ces deux cas de figure, de façon à éviter le déclenchement d'une alarme lors de variations environnementales normales. Aussi l'objectif de ce chapitre est-il de **définir les relations qui peuvent éventuellement exister entre les caractéristiques des EOD d'*A. albifrons* et des facteurs exogènes**, tels que la température, le pH, la conductivité et l'oxygène dissous.

Il est couramment admis que chez les Gymnotiformes faiblement électriques, à la différence des Mormyriformes, **la fréquence des EOD reste constante tant que les entrées sensorielles (ou stimuli) ne varient pas** (Grundfest, 1957 ; Lissmann, 1958, 1961). Cette stabilité est remarquable puisque par exemple chez *A. albifrons*, comme nous le précisions chapitre 2 (§ 2.2.4.4.), la variation de fréquence reste comprise entre 0,1 % (Erskine *et al.*, 1966) et 0,01 % (Bullock, 1969, 1970). Nous connaissons cependant plusieurs facteurs externes qui affectent la fréquence des EOD des Gymnotiformes. Le premier - et probablement le plus étudié - est **la température de l'eau** qui, lorsqu'elle s'élève, entraîne une augmentation de la fréquence des décharges électriques. Ceci se vérifie d'ailleurs aussi bien chez les Gymnotiformes (Boudinot, 1970 ; Coates *et al.*, 1954 ; Enger et Szabo, 1968 ; Feng, 1976 ; Lissmann, 1958) que chez les Mormyriformes (Lewis et Kay, 1991 ; Toerring et Serrier, 1978). Par contre, nous ne possédons que peu d'informations en ce qui concerne l'influence de la température sur la forme des décharges. Enger et Szabo (1968) trouvent que chez *Steatogenys* sp., Gymnotiforme basse fréquence, les plus petites températures testées (*i.e.* à partir de 20°C) affectent aussi bien la forme que la fréquence des décharges. La dépendance de la forme de l'onde biphasique d'*Eigenmannia lineata* vis-à-vis de la température a aussi été montrée (Zupanc, 1986 ; Mahr, 1988).

D'autres facteurs interviennent aussi sur les caractéristiques des décharges électriques. A commencer par **le pH** : ce paramètre nous intéresse au moins autant que le précédent, car il est l'objet - en milieu naturel - d'évolutions aussi bien saisonnières que journalières. Les variations de pH sont partiellement liées aux activités photosynthétique et respiratoire de la flore aquatique. Ceci est particulièrement vrai durant les basses eaux (saison chaude). Participent également aux variations de ce paramètre la composition de la roche-mère, les processus d'oxydation de la matière organique, les précipitations, ... Bien qu'il n'existe que peu d'études qui traitent de l'influence de ce paramètre sur les réponses électriques des poissons,

nous savons qu'une diminution du pH de l'eau provoque une brusque chute de la fréquence des EOD chez *A. albifrons* et *Eigenmannia virescens* (Pimentel-Souza, 1988). Plus récemment, Lewis et ses collaborateurs (1992a) ont montré que l'apparition progressive de conditions alcalines (jusqu'à un pH de 9) provoque une augmentation significative de la fréquence des EOD chez *Gnathonemus tamandua*. Une acidification de l'eau (diminution du pH jusqu'à 4,5) entraîne chez cette espèce une réponse électrique inverse. Par contre, aucune étude ne s'est attachée à définir l'influence du pH sur la forme des décharges de poissons faiblement électriques.

Un autre paramètre, indissociable du précédent, est celui de **la conductivité** de l'eau. Il s'agit d'une propriété physique des eaux qui permet une bonne appréciation quantitative des éléments transportés sous forme ionique. Sous nos climats, la conductivité des eaux subit des variations saisonnières (Dadi, 1991), étant en moyenne plus basse en saison froide qu'en saison chaude. La faible minéralisation des eaux en saison froide s'explique par le fait que durant cette période de hautes eaux relatives, la part des eaux souterraines - riches en substances dissoutes - est modeste en comparaison des apports - fréquents et abondants - des eaux de ruissellement superficielles, peu chargées en éléments chimiques. Cette diminution de la conductivité est aussi due à un ralentissement de l'activité biologique durant cette période. Qu'en est-il de l'influence de ces variations sur les décharges électriques de poissons ? Bratton et Kramer (1988) ont montré que des changements d'amplitude dans les différentes phases de l'EOD se présentent chez les Mormyriformes consécutivement à des variations de la conductivité électrique de l'eau. Plus récemment, on observait que non seulement l'ampleur, mais aussi la cinétique des variations de la conductivité de l'eau intervenaient sur les caractéristiques des décharges électriques. Par exemple, von der Emde (1993) signale que lorsque la conductivité de l'eau augmente progressivement, seule l'amplitude du signal de *G. petersi* diminue. Par contre, Kramer et Kühn (1993) relèvent que de brusques changements de ce paramètre se répercutent aussi sur la forme du signal, chez *Campylomormyrus tamandua* et *Campylomormyrus rhynchophorus* (Mormyriformes).

Enfin un dernier paramètre, non moins intéressant à considérer en vue d'une application *in situ* du système de biodétection proposé, concerne **la teneur en oxygène dissous**. Il s'agit là aussi d'une variable environnementale de première importance puisqu'elle contribue, au moins partiellement, à mesurer la qualité d'une eau. Des variations de la concentration en oxygène dissous peuvent être le fait d'une pollution des eaux par des matières organiques fermentescibles mais sont aussi le résultat des activités photosynthétique et respiratoire de la flore aquatique. Comme nous le disions chapitre 1 (§ 1.5.1.2.2.), des fausses alarmes sont souvent imputables à ce paramètre, et notamment pour les systèmes qui font appel à des organismes exigeants vis-à-vis de ce facteur (comme les truites par exemple). Aucune étude à

ce jour ne s'est attachée à mesurer l'influence de ce paramètre sur les EOD de poissons électrogènes.

Finalement, compte tenu des recherches antérieures et parce qu'une parfaite connaissance de l'influence de facteurs exogènes sur les caractéristiques des EOD d'*A. albifrons* est indispensable à la mise en place du biodétecteur, l'objectif de ce chapitre sera de **définir la fonction qui lie les variations de température, de pH, de conductivité et d'oxygène dissous à la fréquence et à la forme du signal bioélectrique de l'espèce-test**.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.1. Matériel biologique

Des *Apteronotus albifrons* juvéniles, provenant de la région de Manaus (Brésil), sont stockés en laboratoire. Ils sont répartis par lot de trois dans des aquariums compartimentés, de 180 l (dont 10 % pour le volume de filtration). Compte tenu du caractère "agressif" de cette espèce, chaque poisson est isolé spatialement de son voisin par une paroi de PVC perforé, qui autorise malgré tout une communication électrique inter-individuelle. Chaque poisson dispose d'un tube de PVC transparent - également percé de plusieurs trous - dans lequel il se réfugie le jour. Un cycle comprenant 12 heures d'éclairement et 12 heures d'obscurité est respecté, en accord avec les phases diurnes et nocturnes des régions tropicales. En revanche, les caractéristiques de l'eau dans laquelle ils sont maintenus en laboratoire sont relativement différentes de celles de leur milieu naturel (*cf.* tableau II).

Paramètres physico-chimiques	**Moyenne**	**Ecart-type**	**Minimum**	**Maximum**
pH	7,7	0,1	7,6	7,9
Température (°C)	26,5	0,5	25,7	27,6
Oxygène dissous ($mg.l^{-1}$)	7,1	0,3	6,8	7,6
Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	245	43,5	194	409
Dureté totale ($mg.l^{-1}$ de $CaCO_3$)	110	46	50	180
Ammoniac ($mg.l^{-1}$)	0,015	$8,9.10^{-3}$	$< 10^{-4}$	0,021
Nitrite ($mg.l^{-1}$)	0,030	0,037	$< 10^{-4}$	0,103
Nitrate ($mg.l^{-1}$)	0,555	0,075	0,447	0,678

Tableau II : Conditions physico-chimiques de stabulation des poissons en laboratoire.

Pour les différentes expériences, 4 lots de 8 *A. albifrons* sont utilisés. Les poissons sont pesés avant leur répartition dans les différents bacs de contention. Les gammes de poids mesurés sont de (6,6 à 13,8 g), (6,8 à 13 g), (3,4 à 20,7 g) et (4,2 à 13,3 g) respectivement pour l'étude de l'influence de la température, du pH, de la conductivité et de l'oxygène dissous sur les caractéristiques bioélectriques.

3.2.2. Protocole expérimental

Les expériences sont réalisées au niveau de l'unité expérimentale décrite chapitre 2 (§ 2.3.). Le recueil et l'amplification des signaux électriques des 8 poissons-tests obéissent au protocole également présenté dans ce dernier chapitre (§ 2.4.). Avant le début de chaque expérience, une période de 48 heures au moins est observée pour acclimater les organismes aux conditions expérimentales. Durant les tests, les poissons sont nourris normalement (une distribution de vers de vase tous les jours en fin d'après-midi). L'ensemble des essais est réalisé en circuit fermé avec de l'eau du réseau (*cf.* tableau III).

Paramètres physico-chimiques	**Expérience 1**	**Expérience 2**	**Expérience 3**	**Expérience 4**
Température (°C)	32	27	27	27
pH	7,4	8	7,7	7,7
Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	205	234	213	223
Oxygène dissous ($mg.l^{-1}$)	8,1	8,1	8,4	7,7
Dureté totale ($mg.l^{-1}$ de $Ca\,CO_3$)	65	76	70	64

Tableau III: Caractéristiques physico-chimiques de l'eau du réseau (District de l'Agglomération de Nancy), enregistrées en début de chaque expérience. Etude de l'influence de la température (expérience 1), du pH (expérience 2), de la conductivité (expérience 3) et de l'oxygène dissous (expérience 4) sur les caractéristiques des signaux bioélectriques des aptéronotes.

3.2.2.1. La température

Pour étudier l'influence de la température sur les EOD, nous soumettons les poissons-tests à une diminution puis à une augmentation de 10°C de la température de l'eau (étude sur l'intervalle [22°C, 32°C], qui correspond à la gamme de variations de leur milieu naturel). Ces organismes sont normalement maintenus à 27°C. Nous les acclimatons donc progressivement à la première température à laquelle ils seront exposés en début d'expérience (*i.e.* 32°C), de

façon à éviter tout choc thermique. Les variations thermiques de l'eau se font par paliers de 1°C. Elles sont réalisées par le thermorégulateur, qui pilote l'intensité des résistances chauffantes à l'aide d'une unité à thyristors. Ceci permet l'étude exclusive de l'influence du paramètre "température" sur les caractéristiques des EOD (fréquence et forme). Chaque nouvelle température est appliquée durant une heure et seules les 10 dernières minutes servent de base de référence pour l'enregistrement des données électriques. Une sonde Pt 100 de contrôle est placée dans l'un des bacs de contention[1] ; elle permet une surveillance de l'évolution de la température de l'eau, précisément à l'endroit où se trouve l'organisme-test, parallèlement à l'enregistrement des caractéristiques électriques des 8 poissons.

3.2.2.2. Le pH

En début d'expérience, l'eau qui circule dans l'unité expérimentale a un pH voisin de la neutralité. Dans un premier temps, nous évaluons l'influence des pH acides sur les caractéristiques électriques des EOD de 8 *A. albifrons*. L'eau est acidifiée par un déversement d'acide chlorhydrique dilué. Celui-ci est déversé en goutte à goutte directement dans le bac central de brassage. Les caractéristiques électriques du signal émis par chacun des 8 poissons sont enregistrées tout au long de la diminution progressive du pH. Celui-ci est mesuré toutes les 10 minutes, parallèlement aux variations de conductivité de l'eau.

Dans un second temps, nous testons l'influence des pH basiques sur les caractéristiques des EOD des 8 poissons-tests. Une augmentation progressive du pH jusqu'à une valeur de 10,6 est réalisée par ajout d'hydroxyde de sodium (NaOH). De la même façon que précédemment, nous enregistrons toutes les 10 minutes les valeurs de pH et de conductivité de l'eau, pendant que nous exploitons en continu les réponses électriques des 8 poissons.

3.2.2.3. La conductivité

Une série d'expériences est conduite pour évaluer l'influence de la charge ionique sur la fréquence et la forme des EOD de 8 aptéronotes. Différentes valeurs de conductivité sont ainsi testées, soit 54, 103, 155, 213, 280, 400 et 484 $\mu S.cm^{-1}$. Elles dépassent la gamme de variations qui se présente dans les eaux de surface de nos régions (Dadi, 1991). La charge ionique de l'eau est abaissée en remplaçant progressivement l'eau du réseau qui circule dans l'enceinte expérimentale par de l'eau distillée. Au contraire, l'augmentation de la conductivité de l'eau est obtenue par déversement progressif de chlorure de sodium dans le milieu environnant du poisson. Dès lors que la conductivité se stabilise, nous enregistrons sa valeur parallèlement

[1] : La parfaite symétrie du montage hydraulique et le calorifugeage des bacs de contention rendent inutiles (comme nous l'avons vérifié thermomètre en main) la présence d'une sonde dans chaque bac.

à celle du pH et nous commençons alors la capture des signaux électriques. Pour chacune des 7 valeurs de conductivité testées, les caractéristiques électriques (fréquence et forme du signal) sont enregistrées durant 30 minutes. Comme précédemment, seules les 10 dernières minutes serviront de base de référence pour l'analyse des données recueillies.

3.2.2.4. L'oxygène dissous

Cette expérience consiste, à partir d'une eau correctement oxygénée (taux de saturation de 95%), à diminuer la concentration en oxygène dissous dans l'eau. Nous utilisons pour cela de l'azote gazeux qu'on insuffle à l'aide d'un diffuseur placé dans le bac central de brassage. Ce gaz remplace progressivement l'oxygène dissous de l'eau. Nous enregistrons continuellement l'évolution temporelle des caractéristiques électriques des signaux émis par chaque poisson-test. Toutes les 5 minutes, la concentration en oxygène dissous est mesurée.

3.2.3. Analyse statistique

Les données sont traitées à l'aide du logiciel Statview 512 (étude de la régression linéaire par le test de t). L'objectif de cette analyse statistique est d'étudier comment une variable Y dépend d'une autre variable X. La variable X représente le facteur contrôlé. Ce sera selon les expériences, la température, le pH, la conductivité ou l'oxygène dissous. La variable Y est au contraire un facteur non contrôlé, dont on cherche à savoir de quelle façon il dépend de X. Cette variable Y sera représentée par les valeurs des données électriques (soit la valeur de la fréquence fondamentale, soit celle des harmoniques du signal). Par la méthode dite des moindres carrés, nous calculons la droite de régression ajustée et d'équation :

$$Y = a + bX$$

La valeur des coefficients est donnée par :

$$a = \overline{Y} - b\overline{X}$$

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{N}(X_i - \overline{X})(Y_i - \overline{Y})}{\sum_{i=1}^{N}(X_i - \overline{X})^2}$$

avec : $\overline{X}$ et $\overline{Y}$: moyenne des X_i et Y_i.

a : ordonnée à l'origine de la droite ajustée.

b : pente de la droite ajustée (ou coefficient de régression empirique).

Nous calculerons aussi la variance de Y (avec X connu), que nous appellerons s^2. La meilleure estimation de s^2 est donnée par la formule suivante :

$$s^2 = \frac{\sum_i (Y_i - Y_i')^2}{N-2}$$

s^2 représente la variance résiduelle. Les Y_i' sont les ordonnées des points de la droite de régression ajustée.

Nous nous intéresserons par la suite à la distribution de b avec le calcul de son écart-type s_b selon la formule :

$$s_b = \sqrt{\frac{s^2}{\sum (X - \bar{X})^2}}$$

Nous appliquerons alors le test de t avec l'hypothèse nulle[2], *i.e.*

$$t = \frac{|b - 0|}{s_b}$$

Les valeurs de t ainsi calculées seront ensuite comparées à celles lues dans la table de Student à (N - 2 d.d.l.[3]).

Dans le cas particulier de l'étude de l'influence de la température sur la fréquence des EOD, il nous faudra pour chaque poisson comparer les deux coefficients de régression observés soit après une augmentation, soit après une diminution de la température de l'eau. En définissant b_1 et b_2 comme étant les pentes des droites de régression calculées respectivement après une élévation et après une diminution de la température de l'eau,
la variance de la différence $|b_1 - b_2|$ est égale à la somme des variances $(s_{b_1}^2 + s_{b_2}^2)$ et on calculera t selon la formule :

$$t = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{(s_{b_1}^2 + s_{b_2}^2)}}$$

La valeur de t sera alors comparée au seuil lu dans la table de Student pour $N_1 + N_2 - 4$ d.d.l.

---

2 : A noter que cette méthode de calcul est strictement équivalente à celle d'une analyse de variance avec le test de F (table de Fisher-Snedecor), laquelle sera utilisée lors de l'étude de l'influence du pH sur les caractéristiques des signaux bioélectriques.

3 : d.d.l. : Degré de liberté.

3.3. Résultats

3.3.1. Influence de la température sur les caractéristiques bioélectriques

3.3.1.1. Fréquence de décharge

Cette étude montre qu'il existe une **relation linéaire entre la température de l'eau d'une part et la fréquence des décharges électriques chez *A. albifrons* d'autre part** ($R = 1$). Les résultats de l'analyse de régression linéaire (test de t), donnés tableau IV, l'indiquent clairement. Nous observons ainsi que la fréquence des EOD augmente très significativement avec une élévation de la température de l'eau ($t \geq 246,9$; d.d.l. = 108 ; $P < 0,001$), et inversement. L'examen des pentes des droites de régression ajustées nous informe également de combien de Hertz la fréquence augmente (resp. diminue) lorsque la température de l'eau s'élève (resp. chute) d'1°C. Ainsi suivant les poissons, nous enregistrons une **gamme de variations comprise entre 45,4 et 63,9 Hz/°C**.

Un examen détaillé des équations des droites de régression chez les 8 poissons testés montre qu'elles diffèrent légèrement suivant que la variation de la température de l'eau a le sens d'une augmentation ou celui d'une diminution (tableau IV). Effectivement, les valeurs brutes des fréquences enregistrées après une augmentation de la température de l'eau sont habituellement inférieures à celles obtenues lors d'une diminution de ce facteur. En témoignent d'ailleurs les valeurs des coefficients de régression empiriques, obtenus respectivement après une diminution et une augmentation de la température de l'eau. Si nous définissons b_a et b_d comme étant les coefficients empiriques calculés respectivement après une augmentation et une diminution de la température de l'eau, nous constatons que dans tous les cas, b_d est supérieur à b_a. Un exemple est illustré figure 12.

La question qui se pose alors est de savoir si les deux coefficients de régression calculés chez un même poisson, lors des deux séries d'expériences (augmentation ou diminution) sont ou non significativement différents. Le tableau V présente les résultats de cette étude comparative à l'aide d'un test de t. Nous voyons qu'il existe une **différence très significative au seuil 1 pour 1000 entre des coefficients de régression calculés soit après une augmentation, soit après une diminution de la température de l'eau**, chez 6 poissons parmi les 8 testés ou encore dans 75% des cas ($6,167 \leq t \leq 18,024$; d.d.l. = 216 ; $P = 0,001$).

Numéro des poissons	Equation de la droite de régression ajustée (ou encore droite des moindres carrés)	R	Variance résiduelle s^2	Ecart-type de la pente sp	Test de t	Probabilité P
1	$y_d = 53,697\ x_d - 373,414$	1	24,764	0,150	357,877	< 0,001
	$y_a = 52,660\ x_a - 342,759$	1	6,327	0,076	694,381	< 0,001
2	$y_d = 51,821\ x_d - 357,855$	1	13,104	0,109	474,785	< 0,001
	$y_a = 50,731\ x_a - 328,246$	1	3,494	0,056	900,139	< 0,001
3	$y_d = 59,309\ x_d - 440,068$	0,999	63,473	0,240	246,901	< 0,001
	$y_a = 56,821\ x_a - 378,209$	0,999	36,871	0,183	310,355	< 0,001
4	$y_d = 54,750\ x_d - 370,336$	1	24,207	0,148	369,070	< 0,001
	$y_a = 53,707\ x_a - 337,353$	1	12,914	0,108	495,670	< 0,001
5	$y_d = 45,486\ x_d - 277,150$	1	13,678	0,112	407,911	< 0,001
	$y_a = 45,480\ x_a - 283,816$	1	3,502	0,056	806,052	< 0,001
6	$y_d = 54,628\ x_d - 315,226$	1	10,205	0,096	567,173	< 0,001
	$y_a = 53,767\ x_a - 286,831$	1	10,938	0,100	539,182	< 0,001
7	$y_d = 63,900\ x_d - 432,178$	1	7,606	0,083	768,453	< 0,001
	$y_a = 61,059\ x_a - 374,751$	1	19,792	0,134	455,201	< 0,001
8	$y_d = 61,188\ x_d - 401,35$	1	12,015	0,105	585,471	< 0,001
	$y_a = 60,944\ x_a - 390,799$	1	8,565	0,088	690,669	< 0,001

Indice d : Diminution de la température de l'eau, avec N = 110 et d.d.l. = 108.
Indice a : Augmentation de la température de l'eau, avec N = 110 et d.d.l. = 108.

Tableau IV : Résultat de l'analyse de régression linéaire entre la variable contrôlée *x* (température de l'eau) et la variable non contrôlée *y* (fréquence des EOD), lors des deux séries d'expériences.
(avec : N = nombre de mesures ; d.d.l. = degré de liberté).

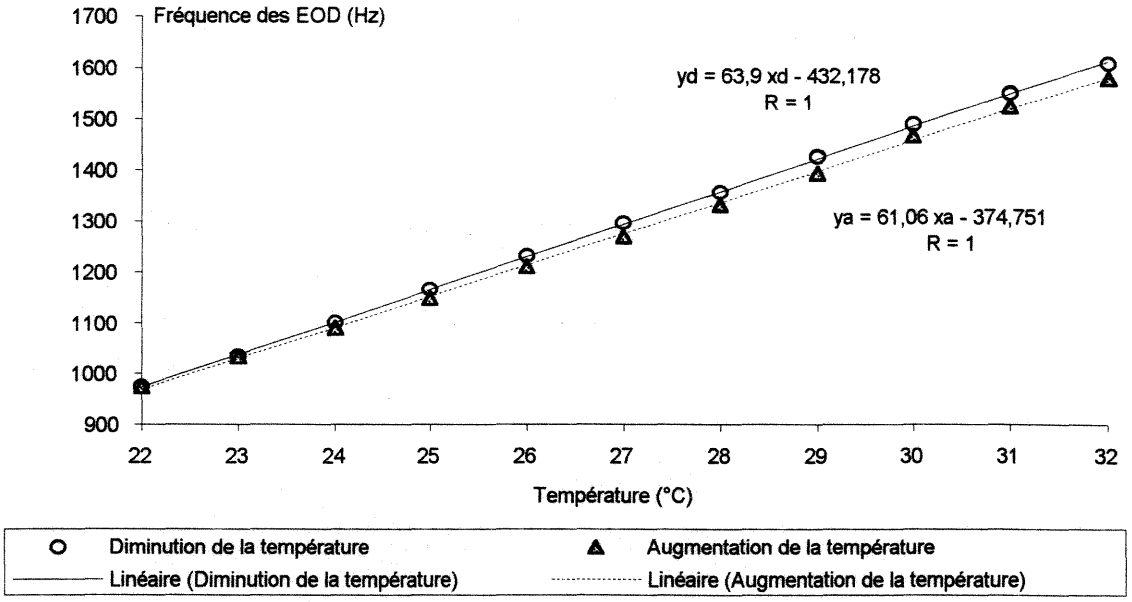


Figure 12 : Relation linéaire entre la fréquence des EOD émises par les aptéronotes et la température de l'eau, avec une variation appliquée dans le sens soit d'une diminution (indice d), soit d'une augmentation (indice a).

Numéro des poissons	Coefficients de régression b_a	b_d	Ecart-type des pentes S_{ba}	S_{bd}	Test de t
1	52,660	53,697	0,076	0,150	6,167*
2	50,731	51,821	0,056	0,109	8,895*
3	56,821	59,309	0,183	0,240	8,244*
4	53,707	54,750	0,108	0,148	5,693*
5	45,480	45,486	0,056	0,112	0,048**
6	53,767	54,628	0,100	0,096	6,211*
7	61,059	63,900	0,134	0,083	18,024*
8	60,944	61,188	0,088	0,105	1,781**

Tableau V : Etude comparative des coefficients de régression b_a et b_d, obtenus respectivement soit après une augmentation, soit après une diminution de la température de l'eau. (N = 220 ; d.d.l. = 216).
* : Très significatif (P = 0,001) ; ** : Non significatif (P > 0,05).
(avec N : nombre de mesures ; d.d.l. : degré de liberté ; P : probabilité).

Se trouve ainsi mise en évidence l'existence d'un **phénomène d'hystérésis pour la fonction qui lie la fréquence et la température de l'eau**. Nous appuyant sur la formule,

$$\% \text{ d'hystérésis} = 100 - \frac{b_a \times 100}{b_d}$$

nous estimons que l'hystérésis est comprise, chez les aptéronotes, dans un intervalle de 0,34% à 4,45% de la valeur brute des fréquences de décharges. En moyenne, pour les 8 poissons testés, ce phénomène est évalué à 2,07% (écart-type = 1,47).

Dans la mesure où nous voulons identifier une pollution accidentelle à partir d'une variation de la fréquence des organismes-tests, il est du plus haut intérêt d'apporter une correction mathématique aux données enregistrées, de façon à annuler l'influence de la température de l'eau sur la fréquence des EOD des poissons. Il faut pour cela calculer le Q_{10}, selon la formule suivante :

$$\log Q10 = \frac{10}{|T_1 - T_0|} \times \log \frac{f_1}{f_0}$$

avec : f_1 : Fréquence à la température de correction ;
f_0 : Fréquence à la température initiale de l'enregistrement ;
$|T_1-T_0|$: Valeur absolue de la différence entre les températures initiale et finale de l'eau.

Par cette formule, quel que soit le poisson considéré parmi les 8 testés, nous calculons un **Q_{10} égal à 1,6 dans une gamme de températures d'eau comprise entre 22 et 32°C**.

3.3.1.2. Forme du signal

Pour cette étude, nous n'identifions **aucune relation de cause à effet entre la température de l'eau d'une part et les rapports des harmoniques d'autre part** (*cf.* figure 11). Ces derniers désignés par H2, H3, H4 et H5 représentent respectivement les rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fréquence fondamentale. Ainsi pour la gamme de température de 22 à 32°C, la valeur de ces différents rapports se répartissent au sein d'un nuage de points. La figure 13 illustre ce résultat pour les différents harmoniques[4].

Etant donné que nous regardons (provisoirement) l'exploitation de ces rapports comme une étude pertinente de la forme du signal, nous pouvons conclure qu'il n'existe pas d'influence des variations de la température de l'eau, dans la gamme de 22 à 32°C, sur la forme des EOD des aptéronotes.

---

[4] : A noter que dans ce cas, il n'est pas question de recourir à une étude de régression, la distribution des résidus ne satisfaisant pas à la loi de Gauss, ce qui apparaît clairement sur les graphiques.

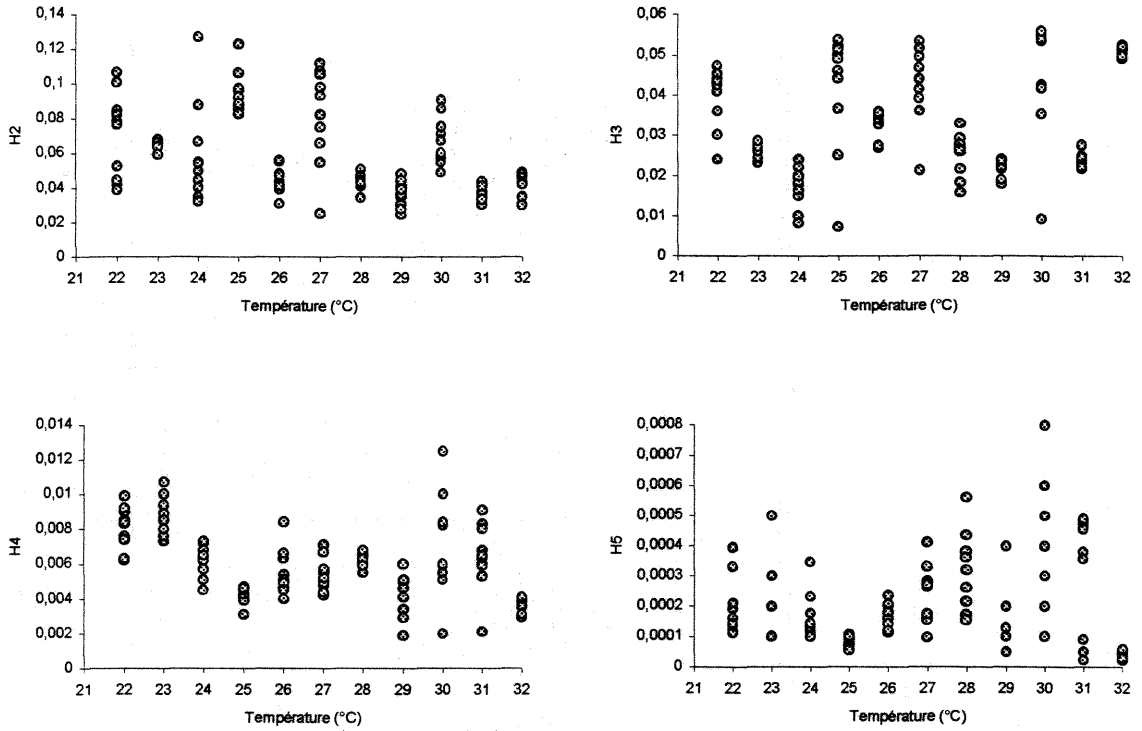


Figure 13 : Variations des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale (respectivement désignés par H2, H3, H4 et H5) en fonction de la température de l'eau.

3.3.2. Influence du pH sur les caractéristiques bioélectriques

3.3.2.1. Fréquence de décharge

Le modèle mathématique qui décrit de la façon la plus satisfaisante **les variations de fréquence en fonction du pH est un polynôme du troisième degré**. Le tableau VI présente les résultats d'une analyse de régression polynomiale entre la variable contrôlée (pH) et la variable non contrôlée aléatoire (fréquence des EOD).

En nous reportant à la table de Fisher-Snedecor, on constate que dans tous les cas, **les fréquences de décharge des aptéronotes varient de façon très significative en fonction du pH de l'eau** (*cf.* tableau VI pour les données chiffrées).

Numéro des poissons	Equation des droites de régression polynomiale	R	Variance résiduelle s^2	Test de F			Probabilité P
				x	x^2	x^3	
1	$y_a = -0,94\ x_a^3 + 17,31\ x_a^2 - 97,16\ x_a + 1230,03$	0,993	1,173	188,536	180,726	155,503	< 0,001
	$y_b = -6,75\ x_b^3 + 196,28\ x_b^2 - 1890,66\ x_b + 7114,82$	0,967	1,255	37,387	38,115	38,561	< 0,001
2	$y_a = -0,93\ x_a^3 + 16,69\ x_a^2 - 89,53\ x_a + 1199$	0,987	3,000	62,618	65,785	60,062	< 0,001
	$y_b = -18,07\ x_b^3 + 520,75\ x_b^2 - 4982,89\ x_b + 16.911,63$	0,977	1,510	215,949	223,107	229,521	< 0,001
3	$y_a = -1,11\ x_a^3 + 20,7\ x_a^2 - 118,41\ x_a + 1353,38$	0,991	1,794	183,144	169,164	141,713	< 0,001
	$y_b = -6,74\ x_b^3 + 194,45\ x_b^2 - 1861,79\ x_b + 7081,42$	0,988	0,241	188,524	194,523	199,462	< 0,001
4	$y_a = -0,39\ x_a^3 + 7,41\ x_a^2 - 41,04\ x_a + 1133,33$	0,950	4,906	8,044	7,933	6,419	< 0,001
	$y_b = -10,1\ x_b^3 + 294,96\ x_b^2 - 2860,32\ x_b + 10.294,29$	0,937	2,146	50,046	50,341	50,402	< 0,001
5	$y_a = -1,14\ x_a^3 + 19,88\ x_a^2 - 107,06\ x_a + 1104,63$	0,975	3,072	87,442	91,087	86,885	< 0,001
	$y_b = -8,84\ x_b^3 + 257,56\ x_b^2 - 2490,69\ x_b + 8928,28$	0,881	4,324	18,838	19,055	19,173	< 0,001
6	$y_a = -1,81\ x_a^3 + 31,57\ x_a^2 - 169,17\ x_a + 1226,88$	0,994	2,106	318,455	335,065	319,71	< 0,001
	$y_b = -6,63\ x_b^3 + 194,79\ x_b^2 - 1902,42\ x_b + 7153,88$	0,889	0,986	48,199	47,798	47,246	< 0,001
7	$y_a = -1,53\ x_a^3 + 27,25\ x_a^2 - 147,96\ x_a + 1160,01$	0,994	2,021	253,8	260,197	239,904	< 0,001
	$y_b = -5,31\ x_b^3 + 153,34\ x_b^2 - 1470,20\ x_b + 5614,71$	0,829	1,721	16,489	16,966	17,373	< 0,001
8	$y_a = -1,15\ x_a^3 + 20,69\ x_a^2 - 114,68\ x_a + 1220,96$	0,989	1,810	170,274	167,547	150,04	< 0,001
	$y_b = -10,44\ x_b^3 + 297,57\ x_b^2 - 2819,24\ x_b + 9911,47$	0,944	0,749	139,305	146,809	154,262	< 0,001

Indice a : Résultats pour les pH acides avec N = 80 et d.d.l. = 76.
Indice b : Résultats pour les pH basiques avec N = 70 et d.d.l. = 66.

Tableau VI : Résultat de l'analyse de régression polynomiale entre la variable contrôlée *x* (pH) et la variable non contrôlée *y* (fréquence des EOD).
(avec N, nombre de mesures et d.d.l., degré de liberté).

Ce résultat apparaît tout aussi clairement sur la figure 14 qui illustre la réponse électrique des poissons en fonction du pH de l'eau. D'une façon générale, les aptéronotes ont une fréquence d'émission qui chute pour des pH acides et qui s'élève pour des pH basiques. Un examen plus détaillé conduit à remarquer que les fréquences des poissons sont relativement stables pour des pH très acides (de 3,6 à 5,4) ; elles augmentent ensuite au fur et à mesure que l'on se dirige vers des pH proches de la neutralité. Une relative stabilité de la réponse électrique est alors observée pour des pH compris entre 7,4 et 9. A nouveau, plus le milieu dans lequel se trouve le poisson devient basique, plus la fréquence des poissons s'élève jusqu'à atteindre son maximum à un pH voisin de 10,5. Au-delà, la fréquence du poisson tend à diminuer légèrement[5]. L'évolution de la fréquence qui vient d'être décrite pour des valeurs de pH allant de 3,6 à 10,6 se retrouve précisément chez tous les poissons, comme le confirment par ailleurs les équations des droites de régression polynomiale (tableau VI).

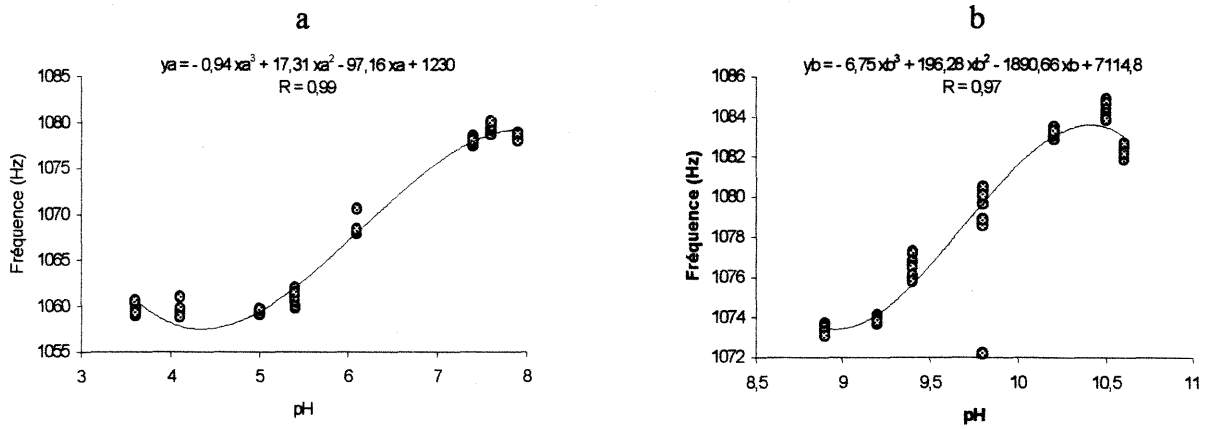


Figure 14 : Evolution de la fréquence des EOD chez *Apteronotus albifrons* en fonction du pH de l'eau dans des gammes de 3,6 à 7,9 (a) et de 8,9 à 10,6 (b), décrite par un polynôme du troisième degré.

Mais les fonctions polynomiales n'offrent pas *a priori* les interprétations les plus aisées des résultats recueillis. A ce titre, il apparaît intéressant de considérer les données dans des gammes de pH qui autoriseraient une étude de régression linéaire. C'est ce que nous avons fait pour des pH allant de 5 à 7,6 d'une part, et de 9,2 à 10,5 d'autre part. Les résultats de cette analyse sont consignés tableau VII.

[5] : Notons qu'il paraît difficile d'étudier de façon exclusive l'influence du pH sur les caractéristiques électriques des aptéronotes, c'est à dire en s'affranchissant complètement de variations d'autres facteurs physico-chimiques (comme la conductivité de l'eau) qui se présentent nécessairement dans un tel cas. Cependant les implications des variations de la charge ionique de l'eau sur les caractéristiques électriques des poissons sont limitées comme nous le comprendrons au paragraphe 3.3.3.

Numéro des poissons	Equation de la droite de régression ajustée (ou encore droite des moindres carrés)	R	Variance résiduelle s^2	Ecart-type de la pente sp	Test de t	Probabilité P
1	$y_a = 8,057\ x_a + 1018,431$	0,995	0,812	0,122	65,948	< 0,001
	$y_b = 8,061\ x_b + 1000,168$	0,955	1,534	0,362	22,247	
2	$y_a = 8,858\ x_a + 1007,029$	0,994	1,025	0,137	64,532	< 0,001
	$y_b = 10,165\ x_b + 982,198$	0,875	7,723	0,813	12,500	
3	$y_a = 9,052\ x_a + 1094,155$	0,991	1,645	0,174	52,058	< 0,001
	$y_b = 5,52\ x_b + 1115,223$	0,927	1,205	0,321	17,188	
4	$y_a = 6,138\ x_a + 1032,676$	0,988	1,082	0,141	43,526	< 0,001
	$y_b = 7,913\ x_b + 1009,098$	0,924	2,592	0,471	16,797	
5	$y_a = 6,288\ x_a + 893,386$	0,959	3,904	0,268	23,47	< 0,001
	$y_b = 7,845\ x_b + 858,693$	0,849	5,807	0,705	11,127	
6	$y_a = 10,704\ x_a + 892,085$	0,980	5,367	0,314	34,079	< 0,001
	$y_b = 3,924\ x_b + 934,017$	0,938	0,510	0,209	18,782	
7	$y_a = 10,804\ x_a + 856,206$	0,986	3,868	0,267	40,521	< 0,001
	$y_b = 3,42\ x_b + 902,556$	0,703	2,916	0,500	6,845	
8	$y_a = 8,186\ x_a + 980,294$	0,988	1,908	0,187	43,709	< 0,001
	$y_b = 2,363\ x_b + 1014,302$	0,666	1,705	0,382	6,186	

Indice a : Résultat pour une gamme de pH de 5 à 7,6 avec N = 50 et d.d.l. = 48.
Indice b : Résultat pour une gamme de pH de 9,2 à 10,5 avec N = 50 et d.d.l. = 48.

Tableau VII : Résultat de l'analyse de régression linéaire entre la variable contrôlée *x* (pH) et la variable non contrôlée *y* (fréquence des EOD).
(avec N, nombre de mesures et d.d.l., degré de liberté).

Nous voyons que la fréquence des EOD augmente très significativement avec le pH de l'eau, pour les deux gammes testées, soit de 5 à 7,6 d'une part ($t \geq 23,47$; d.d.l. = 48 ; $P < 0,001$), et de 9,2 à 10,5 d'autre part ($t \geq 6,186$; d.d.l. = 48 ; $P < 0,001$). La figure 15 illustre dans ces deux cas la relation linéaire entre la variable physico-chimique et la variable électrique.

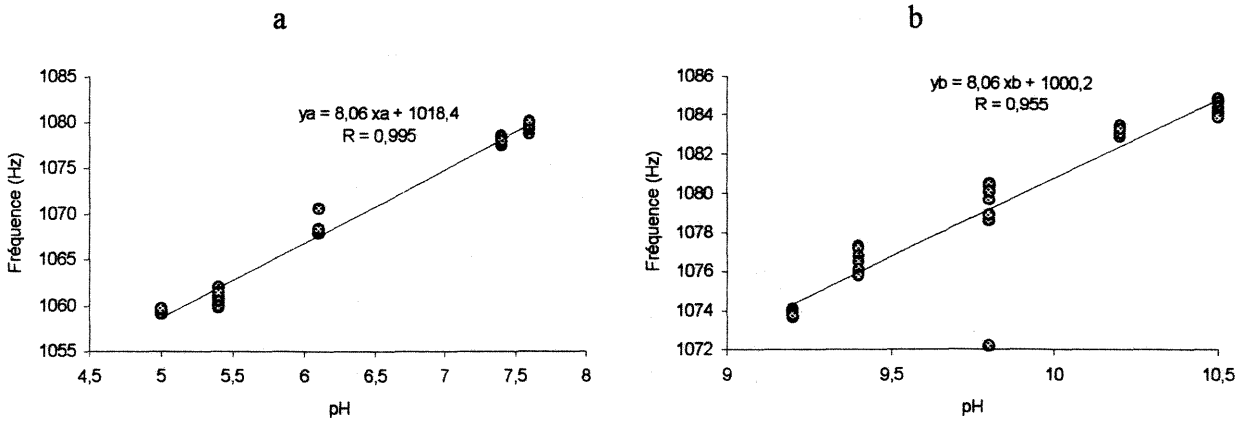


Figure 15 : Evolution de la fréquence des EOD chez *Apteronotus albifrons* en fonction du pH de l'eau dans des gammes de 5 à 7,6 (a) et de 9,2 à 10,5 (b), décrite par une analyse de régression linéaire.

Les coefficients de régression calculés pour des pH acides sont généralement supérieurs à ceux trouvés avec des pH basiques (tableau VII). Plus en détail, nous constatons des variations comprises entre 6,1 et 10,8 Hz par unité pH acide à neutre (moyenne : 8,5 Hz ; écart-type : 1,6) et entre 2,4 et 10,2 Hz par unité pH basique (moyenne : 6,1 Hz ; écart-type : 2,6).

3.3.2.2. Forme du signal

La figure 16 illustre des exemples représentatifs de l'évolution des rapports H2, H3, H4 et H5 chez *A. albifrons*, lors de variations du pH de l'eau dans une gamme de 3,6 à 10,6.

Il apparaît clairement qu'**aucune influence n'est exercée par des conditions acides ou basiques de l'eau sur la forme du signal** des poissons électriques. En atteste d'ailleurs la distribution, plus ou moins parallèle à l'axe des abscisses, des différentes valeurs enregistrées.

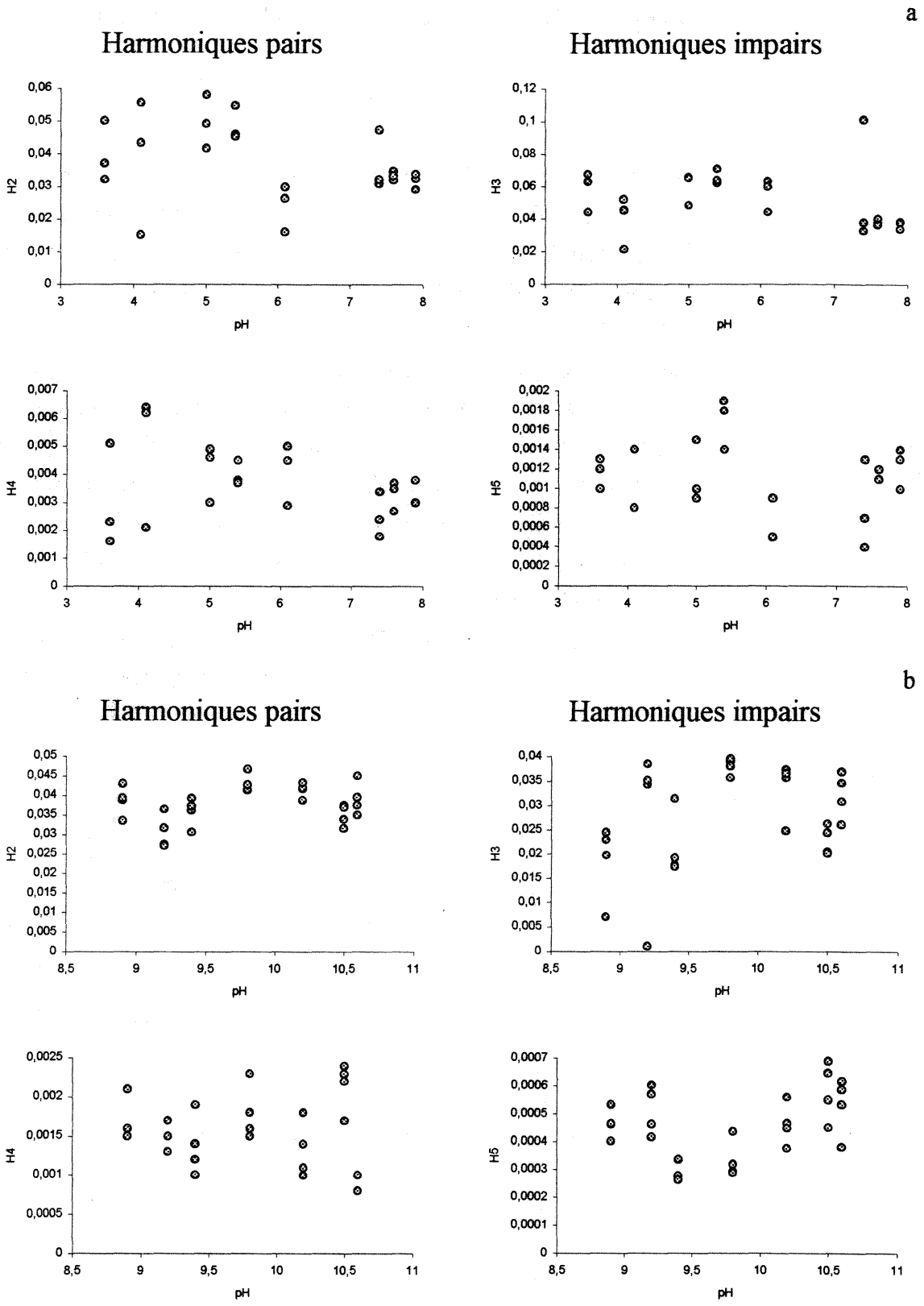


Figure 16 : Variations des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale (respectivement désignés par H2, H3, H4 et H5) en fonction du pH de l'eau.
Illustration pour deux gammes de pH : 3,6 à 7,9 (a) et 8,9 à 10,6 (b).

3.3.3. Influence de la conductivité sur les caractéristiques bioélectriques

3.3.3.1. Fréquence de décharge

La figure 17 fournit un exemple représentatif de l'évolution de la fréquence de décharge chez *A. albifrons* en fonction de variations de la charge ionique de l'eau. Il apparaît très clairement qu'aucune tendance nette ne se dessine en faveur d'une éventuelle influence de ce facteur physico-chimique sur la fréquence des EOD des poissons. Les valeurs enregistrées s'inscrivent au sein d'un nuage de points, dont l'amplitude des variations le long de l'axe des ordonnées est relativement réduite. Globalement, ces variations de fréquence ne dépassent jamais 7 Hz. Elles sont très probablement imputables à de légères oscillations thermiques de l'eau, étant donné que les modifications de la charge ionique du milieu sont obtenues soit par ajout d'eau distillée, soit par déversement d'eau du réseau additionnée de chlorure de sodium. Bien que l'eau déversée ait été préalablement réchauffée et que nous ayons pris soin, avant toute mesure de fréquence, d'attendre non seulement la stabilité de conductivité mais aussi la stabilité thermique de l'eau, nous avons pu déplorer de petits écarts thermiques de l'ordre du dixième de degré, dus à ces déversements et tout à fait suffisants, nous l'avons compris §. 3.3.1., pour expliquer de telles variations de fréquence[6].

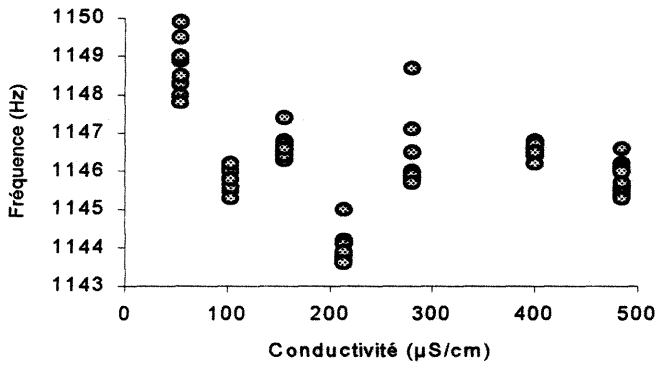


Figure 17 : Variations de la fréquence des décharges électriques des aptéronotes en fonction de la conductivité électrique de l'eau.

D'autre part, nous avons observé **au fur et à mesure de l'élévation de la conductivité électrique de l'eau, une diminution de l'amplitude** du signal émis par les différents poissons. Ceci n'est pas un problème : il a suffi périodiquement de renforcer l'amplification du signal recueilli, de façon à maintenir constant le seuil de voltage réclamé par l'ordinateur. Cette

[6] : Nous avons pu mesurer que des modifications de la charge ionique de l'eau se répercutaient également sur le pH de l'eau. Ce dernier évolue dans une gamme de 7,3 à 7,7.

modification de l'amplitude du signal bioélectrique a été simplement constatée visuellement. Rappelons qu'elle n'entre pas dans le cadre de cette étude, simplement parce qu'elle dépend aussi à tout instant de l'emplacement du poisson par rapport au couple d'électrodes.

3.3.3.2. Forme du signal

L'influence de la conductivité électrique de l'eau sur la forme du signal des aptéronotes a également été envisagée. La figure 18 est représentative des résultats enregistrés chez les différents poissons. Elle indique, comme c'était le cas précédemment pour la fréquence, qu'il n'existe **pas de relation entre la composition spectrale du signal et la charge ionique de l'eau**. Quels que soient les rapports considérés, nous constatons que la dispersion des points le long de l'axe des ordonnées est relativement réduite, témoignant par là-même de la stabilité des valeurs enregistrées.

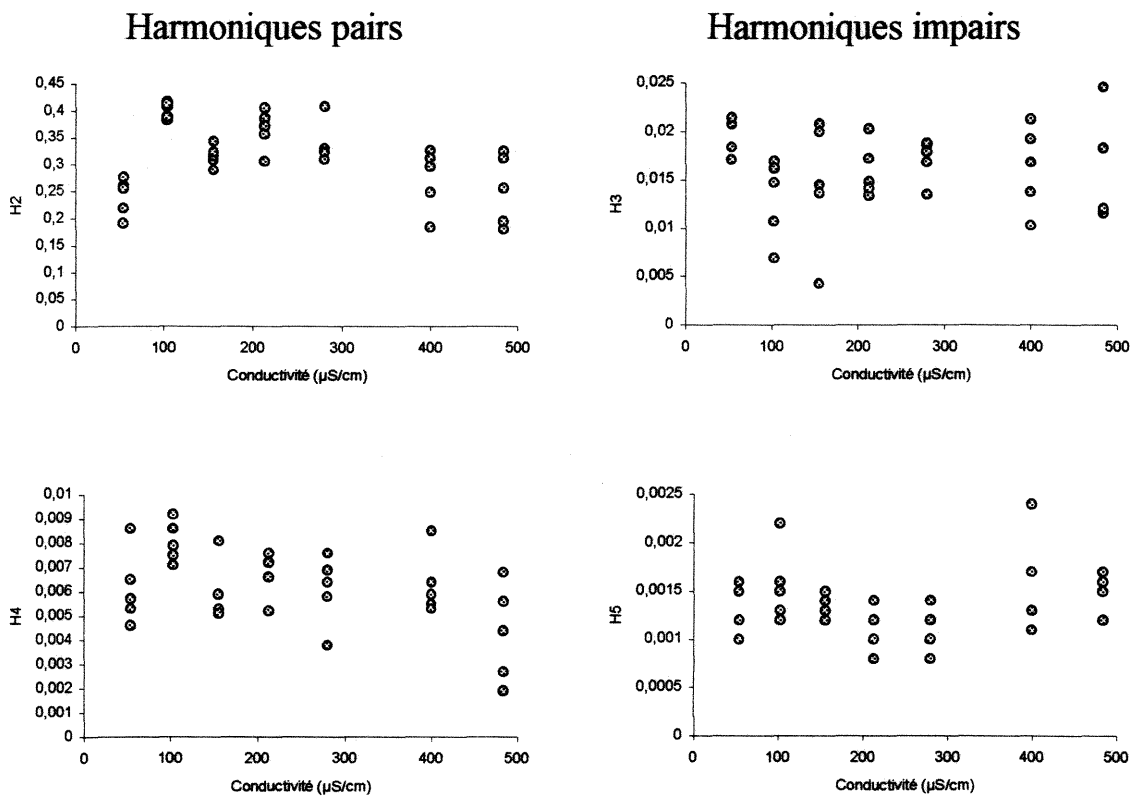


Figure 18 : Variations des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale (respectivement désignés par H2, H3, H4 et H5) en fonction de la charge ionique de l'eau.

3.3.4. Influence de la concentration en oxygène dissous sur les caractéristiques bioélectriques

3.3.4.1. Fréquence de décharge

Un suivi de la fréquence de décharge des aptéronotes a été réalisé en concomitance avec une diminution progressive de la concentration en O_2 dissous dans l'eau de 7,7 $mg.l^{-1}$ (95% du taux de saturation) à 3,3 $mg.l^{-1}$ (30% du taux de saturation). Les résultats d'une analyse de régression linéaire entre la variable biologique (non contrôlé) et la variable physico-chimique (contrôlé) sont donnés tableau VIII. Nous montrons que dans 75% des cas (6 poissons sur 8), **la fréquence des EOD diminue très significativement avec une chute de la concentration en oxygène dissous dans l'eau** ($t \geq 5,55$; d.d.l. = 88 ; $P < 0,001$). Par ailleurs, la considération des pentes des différentes droites des moindres carrés nous apprend que globalement **la fréquence varie de 0,33 à 1,12 Hz par $mg.l^{-1}$ d'oxygène dissous**. Curieusement, les fréquences des EOD des poissons n°5 et n°6 ne répondent pas significativement à une variation de la concentration en oxygène dissous dans l'eau ($t \leq 1,56$; d.d.l. = 88 ; $P > 0,1$).

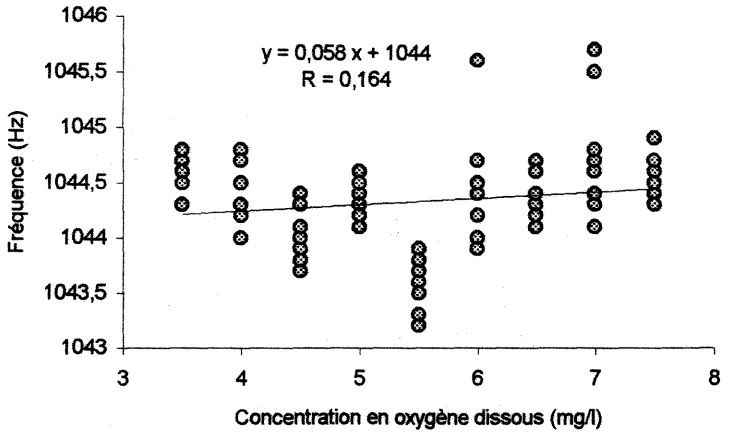
Une illustration de ces deux éventualités (*i.e.* une réponse soit non significative, soit très significative) est donnée figure 19. Dans le premier cas (graphe a), les valeurs de fréquence enregistrées lors de concentrations en oxygène dissous variables se répartissent le long d'une droite pratiquement horizontale. Au contraire, dans le second cas (graphe b), la concomitance des variations atteste la relation de cause à effet entre le facteur physico-chimique et le facteur électrique.

Numéro des poissons	Equation de la droite de régression ajustée (ou encore droite des moindres carrés)	R	Variance résiduelle s^2	Ecart-type de la pente sp	Test de t	P
1	y = 0,418 x + 1071,503	0,638	0,453	0,054	7,779*	< 0,001
2	y = 1,118 x + 1022,353	0,856	0,780	0,072	15,503*	< 0,001
3	y = 1,026 x + 1013,319	0,951	0,188	0,035	29,007*	< 0,001
4	y = 0,874 x + 1012,518	0,938	0,179	0,035	25,311*	< 0,001
5	y = 0,058 x + 1044,009	0,164	0,205	0,037	1,562**	> 0,1
6	y = - 0,065 x + 1117,932	0,107	0,621	0,064	1,005**	> 0,1
7	y = 0,382 x + 1135,786	0,508	0,715	0,069	5,553*	< 0,001
8	y = 0,331 x + 1125,334	0,578	0,371	0,050	6,649*	< 0,001

N = 90 ; d.d.l. = 88, avec N = nombre de mesures, d.d.l. = degré de liberté et P = probabilité.
* : hautement significatif ; ** : non significatif.

Tableau VIII : Résultat de l'analyse de régression linéaire entre la variable contrôlée *x* (concentration en oxygène dissous dans l'eau) et la variable non contrôlée *y* (fréquence des EOD).

a



b

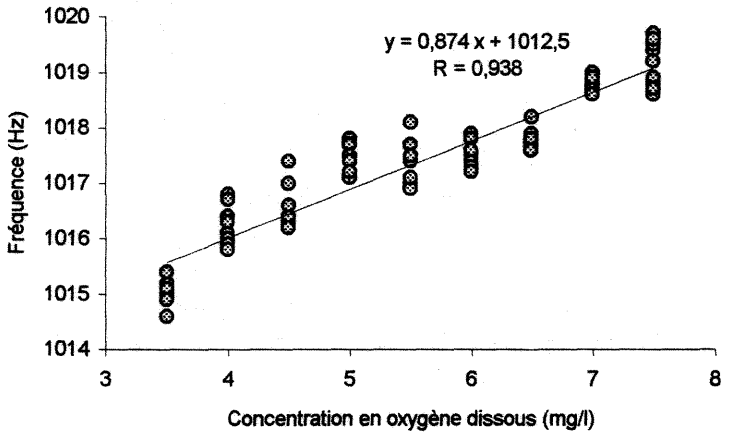


Figure 19 : Evolution de la fréquence des EOD en fonction de la concentration en oxygène dissous, avec une illustration des deux cas de figure rencontrés.
a. Réponse non significative (cas du poisson n°5) ;
b. Réponse hautement significative (cas du poisson n°4 ; celles des poissons n° 1, 2, 3, 7 et 8 le sont tout autant).

3.3.4.2. Forme du signal

La forme du signal a aussi été étudiée chez des poissons placés dans un milieu progressivement appauvri en oxygène. Quatre exemples représentatifs des réponses des harmoniques pairs (H2 et H4) et impairs (H3 et H5) sont illustrés figure 20. La seule considération de ces données nous apprend sans ambiguïté qu'**aucune influence de la concentration en oxygène dissous (dans la gamme de 3,5 à 7,5 mg.l^{-1}) ne s'exerce sur la forme du signal émis par les aptéronotes**. En effet, l'allure du nuage de points indique que les Yi tendent à rester constants, alors que les Xi augmentent.

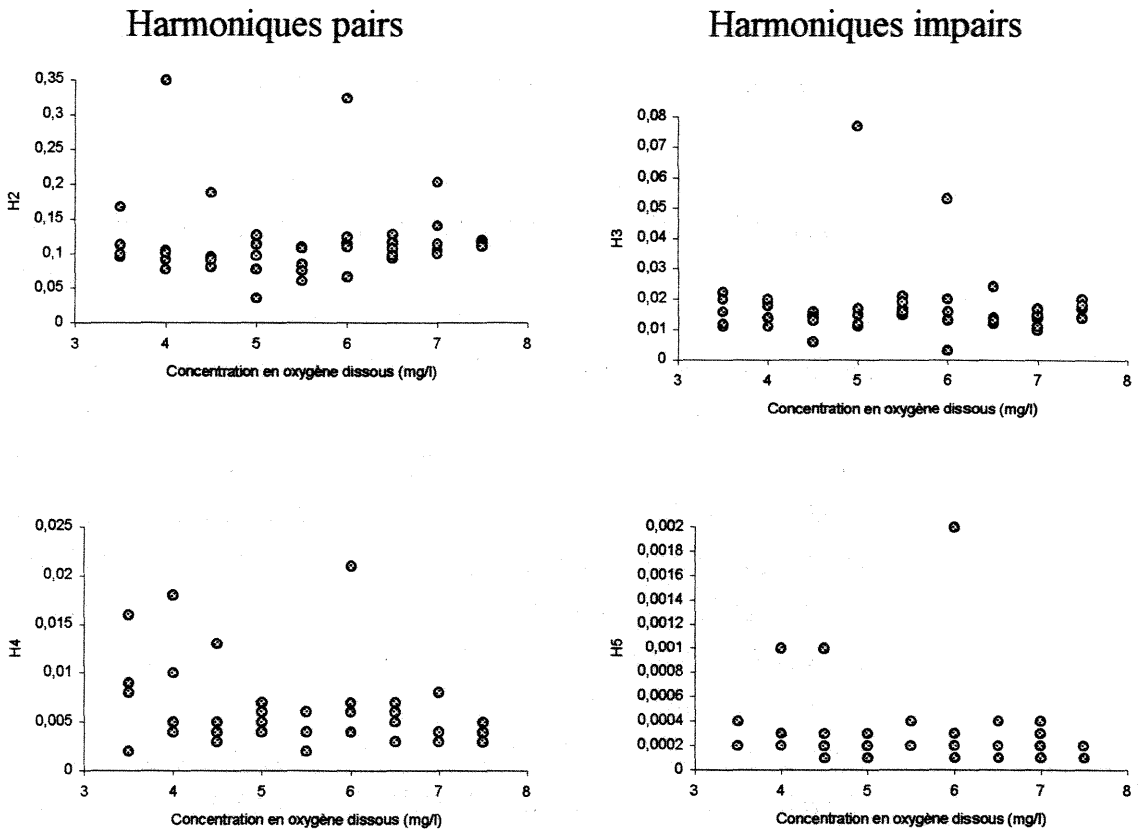


Figure 20 : Variations des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale (respectivement désignés par H2, H3, H4 et H5) en fonction de la concentration en oxygène dissous dans l'eau.

3.4. Discussion

3.4.1. La température

Notre étude démontre clairement l'existence d'une **relation parfaitement linéaire entre la température de l'eau et la fréquence de décharge des aptéronotes**. Selon les individus, nous enregistrons globalement une augmentation de 45 à 64 Hz pour une élévation de la température de l'eau d'1°C (et inversement). Cette influence de la température de l'eau sur les fréquences de décharge a déjà été décrite par plusieurs auteurs, dont Schwassmann (1971) qui remarque que **la relation qui lie la fréquence à la température est plus précise chez les espèces à fréquence stable** que chez les espèces à fréquence variable. Toerring et Serrier (1978) confirmaient d'ailleurs ce résultat en observant que la relation linéaire entre température et fréquence n'était pas observée chez *Marcusenius cyprinoïdes* (Mormyriforme), en raison de l'irrégularité de la distribution temporelle de ses décharges électriques. Quoi qu'il en soit, nos résultats expérimentaux expriment clairement la nécessité de maîtriser parfaitement les

éventuelles variations de ce paramètre physico-chimique, pour une exploitation fiable et crédible des caractéristiques bioélectriques qui véhiculent une information sur la qualité de l'eau. Notons à titre de contre-exemple, que Pimentel-Souza et Fernandes-Souza (1985) ont mis en évidence chez *Rhamphichthys rostratus* (Gymnotiforme, pulsatoire régulier) des changements de fréquence, lors d'interactions sociales, allant à l'encontre de sa dépendance thermique et capables de la compenser.

Ce résultat original soulève une question essentielle : celle de savoir si une variation de température pourrait annuler l'influence d'un second facteur (tel qu'une substance toxique) sur la fréquence du poisson. Cette interrogation reste actuellement sans réponse. D'une façon pratique cependant, il nous semble plus pertinent, pour exploiter les informations électriques délivrées par le poisson, de s'affranchir des variations de la température de l'eau. Ceci peut être réalisé de deux façons. La première, et la plus évidente, est sans doute, d'assurer une thermorégulation performante de l'eau qui irrigue l'animal-test[7]. Mais nous pouvons facilement imaginer qu'une telle maîtrise du paramètre température est d'autant plus complexe que l'on passe de conditions de laboratoire (circuit fermé) à celles plus drastiques de terrain (circuit ouvert avec des variations de débit, de température intiale de l'eau captée, *etc*...). C'est la raison pour laquelle il nous faut envisager une seconde procédure, non exclusive de la première, en réponse à ce problème. Il s'agit d'introduire une fonction de correction pour chaque mesure des données électriques[8]. Cette correction passe par le calcul du Q10. Dans notre étude, nous montrons que les fréquences des EOD chez les aptéronotes ont un Q10 égal à 1,6 pour la gamme de températures allant de 22 à 32°C. Ce résultat correspond bien à ce que l'on trouve généralement dans la littérature, à savoir un Q10 qui varie de 1,5 à 1,6 selon les espèces ichtyaires de l'ordre des Gymnotiformes (Coates *et al.*, 1954 ; Enger et Szabo, 1968 ; Erskine *et al.*, 1966 ; Feng, 1976 ; Lissmann, 1958 ; Schwassmann, 1971 ; Zupanc, 1986, 1988).

De surcroît, notre étude a révélé l'existence d'un phénomène d'**hystérésis qui concerne la fonction qui lie la fréquence de décharge et la température de l'eau**. Nous observons en effet que la fréquence des EOD d'*A. albifrons* n'est pas exactement identique pour une température donnée, selon que cette dernière a été atteinte par accroissement ou décroissement thermique. Mais si Enger et Szabo (1968) ont réaffirmé chez 6 genres de Gymnotiformes (*Gymnotus* sp., *Sternopygus* sp., *Sternarchorhynchus* sp., *Eigenmannia* sp., *Steatogenys* sp., *Apteronotus* sp.) la dépendance de la fréquence des EOD vis-à-vis de la température, ils n'ont pas observé d'hystérésis sans pour autant en exclure l'existence. Il est fortement probable que

---

[7] : Nous renvoyons pour cela le lecteur à la description de l'unité de thermorégulation (chapitre 2, §. 2.3.).

[8] : Mais la qualité de la thermorégulation d'une part, ainsi que la précision de la correction automatique des données électriques d'autre part, passent toutes deux par une technique thermométrique exceptionnellement performante.

les techniques de mesures utilisées par ces derniers auteurs étaient trop imprécises pour révéler un tel phénomène. En revanche, Lissmann (1958) constate qu'à une température donnée, les valeurs de fréquence enregistrées après une augmentation de la température sont inférieures à celles obtenues après une diminution thermique chez *Gymnotus carapo* (Gymnotiformes). Il trouve une différence maximale qui avoisine les 25%. C'est un niveau de réponse très marqué comparativement à ce que nous avons calculé chez l'aptéronote. En effet, nous estimons l'hystérésis comprise dans l'intervalle de 0,34% à 4,45%. Notre résultat est plus proche de celui enregistré chez *Eigenmannia* sp. par Boudinot (1970). Cet auteur fait remarquer que l'hystérésis est un phénomène peu marqué, de l'ordre de 2 à 4%, au maximum 10%, chez cette dernière espèce.

Pour ce qui concerne la forme de l'onde, ou plutôt ce que nous en mesurons par analyse spectrale, **aucune relation de cause à effet n'est constatée entre la température de l'eau d'une part et les rapports H2, H3, H4 et H5 d'autre part**. En revanche, la dépendance de la forme de l'onde biphasique d'*Eigenmannia lineata* vis-à-vis de la température a été démontrée par un procédé différent du nôtre (Zupanc, 1986 ; Mahr, 1988). Ces auteurs calculent les rapports des durées de la phase positive sur la phase négative, lesquels sont négativement corrélés avec la température de l'eau (r compris dans l'intervalle [- 0,984 : - 0,912]). Kramer (1990) modère ce résultat en notant que des variations thermiques (de 20 à 33°C) ont peu d'effets sur la forme de l'EOD d'*Eigenmannia* sp.. Il est aussi probable que la gamme de variations thermiques de l'eau appliquée aux poissons ait une conséquence sur les résultats enregistrés. Ainsi, Enger et Szabo (1968) observent que chez *Steatogenys* (Gymnotiformes, basse fréquence), les plus petites températures testées (*i.e.* autour de 20°C) affectent aussi bien la fréquence que la forme du signal. Ce n'est plus le cas lorsque la température de l'eau augmente.

Il peut être intéressant enfin de tenter de comprendre l'origine des variations de fréquence que les changements de la température de l'eau induisent chez *A. albifrons*. A ce propos, Enger et Szabo (1968) ont réalisé une expérience originale sur l'aptéronote, en appliquant des variations thermiques au niveau soit de la tête, soit du tronc du poisson. Les auteurs enregistraient une variation de fréquence uniquement dans le premier cas, ce qui les a conduit à conclure que **la température agirait sur le pacemaker du système nerveux central, centre rythmeur de la décharge de l'organe électrique**. D'ailleurs la latence constatée entre le changement thermique et la modification de l'activité électrique, estimée entre 5 et 12 secondes par Toerring et Serrier (1978), renforce encore l'hypothèse d'un tel mécanisme physiologique.

En résumé, nous retiendrons qu'il existe une **forte influence de la température de l'eau sur la fréquence de décharge des aptéronotes**. Cela exige une maîtrise parfaite de ce paramètre au moyen d'une thermorégulation performante de l'eau qui circule dans l'enceinte expérimentale et de corrections continuelles de l'information électrique en fonction des variations thermiques résiduelles. Mais dans un contexte plus général, il est important de remarquer que l'influence de variations thermiques sur les informations biologiques est un problème coutumier dans ce domaine. Ainsi Bulich (1979) et Vasseur *et al.* (1986) soulignent, entre autres contraintes lors de l'exploitation de la bioluminescence bactérienne, la nécessité de contrôler la température, car la sensibilité des bactéries en dépend. C'est un problème qui se révèle encore plus aigu dès lors qu'on fait appel à des organismes poïkilothermes, tels que les poissons. A titre d'exemple, on sait que chez ces organismes, la température agit sur leurs réponses locomotrice (Lindhal *et al.*, 1977 ; Petry, 1982) et respiratoire (Cairns *et al.*, 1974). Au-delà de toutes ces considérations, notons qu'une élévation de la température stimule l'activité métabolique des organismes et, par là-même, aggrave le plus souvent le processus d'intoxication (Brown *et al.*, 1967a ; Cairns *et al.*, 1975 ; Sprague, 1970, 1985 ; Wuhrmann et Woker, 1953). A ce titre, ne serait-il pas plus pertinent d'exploiter l'information électrique des aptéronotes à une température supérieure à celle de 27°C observée lors de nos tests ? Un champ d'étude pourrait être ouvert dans cette direction. Si l'hypothèse d'une action toxique accrue pour des températures élevées se vérifiait chez les aptéronotes, il faudrait aussi engager la réflexion dans des considérations de coût.

3.4.2. Le pH

Alors qu'**aucune influence du pH de l'eau sur la forme de l'onde** n'est trouvée chez *A. albifrons*, il apparaît très nettement que **la fréquence de décharge varie de façon très significative avec ce paramètre physico-chimique**. De façon plus précise, elle chute pour des pH acides et au contraire augmente pour des pH basiques. Ce dernier résultat s'accorde avec les conclusions d'une étude de Pimentel-Souza (1988). Il enregistre lors d'une acidification progressive de l'eau, une diminution de la fréquence aussi bien chez *A. albifrons* que chez *E. virescens*. L'influence du pH de l'eau sur la fréquence des EOD a également été observée chez des Mormyriformes, comme *Gnathonemus tamandua* (Lewis *et al.*, 1992a). Ces auteurs notent qu'il existe une relation directe entre le pH et le taux de décharge de *G. tamandua*, avec une diminution du nombre de pulsations par minute ("Pulses Per Minutes" ou PPM) en condition acide, accompagnée parfois d'une cessation temporaire de l'activité de décharge et une augmentation des PPM en condition alcaline.

En comparaison de ces observations, notre étude est plus précise. Ainsi il apparaît que **la meilleure description mathématique des variations de fréquence en fonction du pH est un polynôme du troisième degré**. Ceci est vérifié pour les deux gammes de pH testées, soit de 3,6 à 7,9 d'une part et de 8,9 à 10,6 d'autre part. Une relation linéaire entre le pH et la fréquence a pu cependant être établie pour des gammes de pH plus étroites, soit de 5 à 7,6 et de 9,2 à 10,5. Effectivement pour des pH très acides (de 3,6 à 5,4) ou voisins de la neutralité (de 7 à 8), la fréquence des EOD se stabilise. Par contre, en milieu alcalin au-delà d'un pH de 10,5, la fréquence tendrait à diminuer légèrement.

Répétons pour résumer, que **les coefficients de régression pour des pH acides sont supérieurs à ceux calculés dans des conditions alcalines**. Ces variations sont en moyenne de 8,5 Hz / unité pH acide à neutre et de 6,1 Hz / unité pH basique. A ce propos, Pimentel-Souza (1988) rapporte que lors d'une acidification du milieu environnemental d'*A. albifrons*, la baisse de fréquence était voisine de 6% par unité pH. C'est un niveau de réponse très élevé comparativement aux gammes de variations que nous avons constatées. Mais alors que Pimentel-Souza procède à un bullage de dioxyde de carbone pour acidifier l'eau, nous préférons avoir directement recours à de l'acide chlorhydrique[9]. Ces protocoles expérimentaux différents pourraient expliquer la disparité des réponses enregistrées dans nos deux études. Si les aptéronotes de Pimentel-Souza et les nôtres sont sensibles, les uns et les autres, et dans le même sens, à un abaissement du pH, les premiers réagissent à du H_2CO_3, les seconds à du HCl, deux acides dont vraisemblablement la toxicité, à pH égal, est différente pour eux et a pour effet - si l'hypothèse que suggère Pimentel-Souza (1988) est bonne - de perturber l'équilibre acido-basique du sang davantage dans un cas que dans l'autre.

Quoi qu'il en soit, dans le cadre qui nous intéresse, *i.e.* l'étude des caractéristiques électriques de ces poissons en vue de leur utilisation pour une information sur la qualité de l'eau, il ne faut pas ignorer la dépendance entre ce facteur physico-chimique et la fréquence des EOD. Une question tout à fait essentielle se pose alors : celle de savoir si l'on souhaite effectivement détecter des variations de pH. Car le problème peut en réalité être abordé selon 2 approches. La première consiste à penser que des modifications de la concentration en ions H^+ pourraient refléter une dégradation du milieu aquatique, auquel cas il serait intéressant de détecter, sinon la pollution elle-même, à tout le moins la variation de pH. A ce propos, Wallwork et Ellison (1983) rappellent que le pH est un moyen simple et efficace pour évaluer des changements rapides de conditions dans une rivière[10]. Mais la seconde approche est de considérer que le pH est aussi un paramètre physico-chimique qui subit des variations

[9] : Dans des tests préliminaires, nous avions aussi procédé à une baisse de pH par bullage de CO_2, ce qui conduisait effectivement à une baisse de fréquence. Cependant cette méthode a été abandonnée car les variations de pH étaient extrêmement lentes à se mettre en place.

[10] : Précisons cependant que les auteurs affirment qu'une étude des variations de l'alcalinité totale est un moyen encore plus efficace.

naturelles, aussi bien saisonnières que journalières. Autrement dit, des variations de pH ne trahissent pas forcément une détérioration de la qualité de l'eau. Dans ce cas, il n'apparaît pas intéressant de mettre en évidence les modifications de pH. Pire encore, un biodétecteur très sensible vis-à-vis de ce paramètre pourrait être à l'origine de fausses alarmes.

Aussi en l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons établir si la dépendance de la fréquence des aptéronotes vis-à-vis du pH - que nous avons clairement démontrée dans cette étude - est un handicap ou au contraire un avantage. Cette interrogation nous semble d'autant plus justifiée que les résultats ont été établis à partir d'une étude de laboratoire. C'est une raison, mais ce n'est pas la seule. En effet, nous n'avons pas considéré la cinétique des variations appliquées, facteur qui probablement pourrait avoir des répercussions sur les résultats enregistrés. Ces questions devraient trouver un début de réponse par une application sur site du biodétecteur développé en laboratoire. Quoi qu'il en soit, un suivi continuel de ce paramètre physico-chimique est essentiel, car le pH affecte l'ionisation des toxiques et constitue donc un facteur de modifications important[11] (Sprague, 1970, 1985). Ceci avait déjà été démontré pour l'ammoniaque et le cyanure, par Wuhrmann dès 1952.

3.4.3. La conductivité

Parce que la conductivité des eaux fait l'objet de variations saisonnières dans les cours d'eau de nos régions, il était intéressant d'étudier quelles pouvaient être les répercussions de ce paramètre sur l'activité électrique des aptéronotes. Nos expériences démontrent en réalité que **la charge ionique de l'eau (dans la gamme de 54 à 484 $\mu S.cm^{-1}$) n'influence pas la fréquence de décharge des poissons**. Ce résultat est en accord avec l'étude de Pimentel-Souza (1988). De surcroît, nous montrons que **les rapports H2, H3, H4 et H5 restent stables alors même que la conductivité de l'eau varie. Seule l'amplitude du signal est affectée** et diminue quand s'élève la conductivité électrique de l'eau dans laquelle est immergé le poisson. Nous faisions remarquer tantôt que ce dernier résultat est le fait d'une simple observation visuelle du signal sur l'écran de l'oscilloscope ou de l'ordinateur. En effet, nous avons délibérément choisi de ne pas exploiter l'amplitude du signal comme source éventuelle d'information(s) sur la qualité de l'eau[12]. Si tel n'avait pas été le cas, il eût fallu immobiliser le poisson par rapport au couple d'électrodes pour pouvoir recueillir des données fiables sur cette caractéristique électrique, recours inacceptable d'un point de vue déontologique.

---

[11] : Rappelons à ce propos que les molécules non dissociées peuvent être en effet plus toxiques, parce qu'elles pénètrent plus facilement les membranes cellulaires.

[12] : Bien que cette caractéristique puisse très vraisemblablement être aussi une source intéressante d'information.

En réalité, la diminution de l'amplitude du signal bioélectrique lors d'une élévation de la conductivité de l'eau est un résultat bien connu chez les Mormyriformes (Bell et Russel, 1978 ; Bratton et Kramer, 1988 ; Kramer et Kühn, 1993 ; Squire et Moller, 1982 ; von der Emde, 1993). Le mécanisme physiologique qui régit l'influence de la charge ionique sur l'amplitude du signal est cependant inconnu. Selon Kramer et Kühn (1993), il est probable qu'une modification brutale de la conductivité électrique de l'eau induise chez le poisson un stress osmotique. Cela initierait alors un mécanisme hormonal et une chaîne de réponses biochimiques. Par exemple, toujours selon ces mêmes auteurs, la surface membranaire des électrocytes, constituants de l'organe électrique, pourraient subir des modifications parallèlement à celle de la conductivité de l'eau. En réalité, il est concevable que l'influence de la conductivité de l'eau sur l'amplitude du signal soit la conséquence d'un simple phénomène électrique (Florion, comm. pers.). En effet, on saisit intuitivement que l'accroissement de conductivité de l'environnement "court-circuite" la source génératrice (l'organe émetteur), dont la tension (comme celle d'une batterie fortement sollicitée) baisse à mesure qu'elle doit fournir plus d'intensité[13].

Des modifications de la charge ionique de l'eau (dans la gamme testée) n'ont donc pas de répercussion sur les caractéristiques électriques étudiées chez les aptéronotes. C'est un résultat que nous pourrions qualifier de positif, car il évite par là-même l'interférence d'un facteur abiotique pas forcément représentatif de conditions de dégradation du milieu avec l'activité électrique des poissons. Seule la baisse d'amplitude du signal lors d'une élévation de la conductivité pourrait éventuellement poser un problème, en n'assurant pas un voltage du signal d'entrée suffisant pour l'ordinateur. Une correction automatique de gain pallierait cette défaillance momentanée du signal. Mais ce n'est encore là qu'un problème théorique car *in situ*, les variations de la conductivité électrique des eaux n'interviennent que de façon graduelle. Ainsi, cela autorise un réajustage, manuel ou automatique, de l'amplification du signal recueilli, ne serait-ce qu'au moment du nourrissage des organismes ou de leur remplacement périodique. Néanmoins, nous n'écartons pas l'hypothèse qu'un déversement intempestif de certaines substances dans l'eau puisse avoir des répercussions sur la conductivité, auquel cas il serait intéressant de détecter, sinon l'arrivée de ces produits, au moins le changement physico-chimique qu'ils induisent au sein du milieu récepteur. En réalité, si de telles interrogations surgissent au cours d'études de laboratoire, les réponses sont à rechercher dans des essais réalisés sur site.

[13] : Un court-circuit total mettrait la batterie (organique) "à plat". Inversement, l'organe aurait sa tension maximale dans l'eau distillée ... mais son signal intransmissible ne servirait plus à rien.

3.4.4. La concentration en oxygène dissous

L'influence de la concentration en oxygène dissous sur l'activité électrique de poissons tropicaux n'avait jamais été étudiée auparavant. Nos expériences montrent que dans 75% des cas, **la fréquence des EOD diminue très significativement avec une chute de la teneur en oxygène dissous dans l'eau**. La réponse est de faible amplitude, puisque nous enregistrons globalement une variation de 0,33 à 1,12 Hz / mg.l^{-1} d'oxygène. Ceci pourrait expliquer que chez deux poissons, aucune influence significative entre ces deux grandeurs ne soit trouvée. **Quant à la forme du signal, elle n'est pas affectée par une variation de la concentration en oxygène dissous, dans une gamme de 3,5 à 7,5 mg.l^{-1}.**

Le mécanisme physiologique responsable de la baisse de fréquence, chez les aptéronotes placés dans un milieu progressivement appauvri en oxygène, n'est pas connu à ce jour. Il serait plausible de supposer que le métabolisme général du poisson devient progressivement anaérobie. A terme, le phénomène se répercuterait sur le système nerveux central (SNC), qui est - nous le savons - le site d'anoxie le plus sensible et dont une des fonctions majeures chez les poissons électrogènes est de commander le pacemaker, centre rythmeur de la décharge électrique. Par ailleurs, il est également possible que **la cinétique des variations** de la concentration en oxygène intervienne dans le déclenchement et l'ampleur des réponses bioélectriques enregistrées. C'est une hypothèse qui demande à être vérifiée.

L'oxygène dissous est un facteur abiotique qui peut déjà rendre compte à lui-seul de la qualité d'une eau. En ce sens, le fait que la majorité des poissons électriques testés soit sensible à une diminution de la teneur en O_2 apparaît comme un avantage. Par ailleurs, il est généralement reconnu que la toxicité de certaines substances pour les poissons est amplifiée par une diminution de la concentration en oxygène dissous (Herbert et Shurben, 1963 ; Sprague, 1985 ; Weiss et Botts, 1957). On explique généralement ce phénomène par le fait que des conditions d'hypoxie entraînent une augmentation de l'activité respiratoire et par voie de conséquence une absorption plus grande des toxiques (Lesel, 1975). Nous savons aussi qu'une baisse d'oxygène induit des changements du métabolisme (anaérobiose) chez les organismes qui les rendent plus sensibles à toute agression. Il faut aussi considérer que les effets de l'appauvrissement en oxygène sur la toxicité des substances sont liés aux effets de la température, étant donné qu'une élévation thermique provoque une baisse de la teneur en O_2 (Sprague, 1970). A ce propos, remarquons que les aptéronotes ne sont pas des organismes très exigeants vis-à-vis de l'oxygène. Ceci n'est pas le cas par exemple des truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykis*, lesquelles exigent une aération de l'eau, responsable d'une perte de composés volatils (Alabaster et Abram, 1964). Ceci pose parfois problème, quand les substances volatilisées sont justement les substances toxiques à détecter. Un autre exemple est

celui du Microtox qui utilise des réactifs bactériens dont la sensibilité aux conditions d'oxygénation impose des concentrations en oxygène dissous supérieures à 4,5 $mg.l^{-1}$ (Vasseur *et al.*, 1986).

3.5. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons étudié l'influence de 4 paramètres physico-chimiques de l'eau (température, pH, conductivité et oxygène dissous) sur l'activité électrique des aptéronotes (fréquence et forme des EOD). En résumé, nous montrons que si les harmoniques ne sont influencés par aucune des variations physico-chimiques appliquées aux poissons, il n'en est pas de même pour la fréquence fondamentale. Ainsi cette grandeur est-elle fortement dépendante de la température, mais elle est également fonction du pH et de la concentration en oxygène dissous. Concernant la conductivité de l'eau, nous observons que seule l'amplitude du signal se trouve affectée par ses variations.

D'un point de vue pratique, ces résultats appellent la mise en œuvre de mesures précises pour une exploitation des signaux électriques compatible avec les exigences d'une station d'alerte. La principale de ces mesures est une maîtrise parfaite de la température de l'eau, qui passe par une thermorégulation performante couplée à une procédure informatisée de correction en continu des effets bioélectriques dus aux variations thermiques résiduelles. Nos résultats démontrent aussi très clairement la nécessité d'entreprendre des études *in situ*, de façon à appréhender - entre autres - la cinétique des modifications physico-chimiques qui se présentent naturellement, et en-dehors de toute pollution accidentelle, au sein des systèmes aquatiques et son impact sur les réponses électriques des poissons. Dans ce contexte, il apparaît également nécessaire de mesurer l'évolution physico-chimique des eaux par le biais de capteurs spécifiques, parallèlement à l'enregistrement des informations biologiques. Une telle orientation se justifie facilement pour plusieurs raisons. L'une d'entre elles est que les facteurs abiotiques peuvent constituer à eux-seuls une cause de létalité pour l'organisme-test. Il ne faut pas non plus négliger le fait qu'ils peuvent influencer la toxicité des substances polluantes, comme nous n'avons pas manqué de le signaler. Enfin nous n'ignorons pas que la surveillance de paramètres physico-chimiques (pH, température, conductivité, oxygène, turbidité, ammoniaque, carbone organique total, ...) telle qu'elle est classiquement réalisée, est à même de fournir des indications précieuses sur les conditions qui règnent au sein de l'écosystème aquatique et sur la présence éventuelle d'une pollution. Soulignons enfin qu'en-dehors de l'intégration de facteurs de correction, il est aussi envisageable d'annuler les effets des variations de facteurs physico-chimiques sur les organismes-tests au moyen de procédures de régulation (aération dans le cas de l'oxygène, utilisation de solutions tampons pour le pH, ...).

CHAPITRE 4

ETUDE DE L'INFLUENCE DE SUBSTANCES TOXIQUES SUR L'ACTIVITE ELECTRIQUE D'*APTERONOTUS ALBIFRONS*

4.1. Introduction

Concevoir un biodétecteur, c'est se trouver confronté à de multiples interrogations. Le point de départ est bien entendu le **choix de l'espèce**, parallèlement au **type de réponse(s) biologique(s)** que l'on souhaite étudier. Ensuite se pose la question de savoir comment recueillir, exploiter et traiter l'information fournie par l'organisme. Ces thèmes ont été déjà en partie abordés, mais nous justifierons au cours de ce chapitre les choix opérés aussi bien dans le domaine biologique qu'au niveau technique.

La seconde tâche qui dérive directement de la première problématique, est d'établir expérimentalement un **profil de sensibilité toxicologique** de l'espèce retenue. Il s'agit de définir les performances du biodétecteur, autrement dit de répondre aux questions suivantes : quels polluants sont détectés par l'organisme-test ? A partir de quelles concentrations ? Au terme de quels temps d'exposition ? A ce titre, il est important de souligner qu'à notre connaissance, l'aptéronote n'a jamais dans le passé fait l'objet d'expériences d'intoxication et que dans la littérature l'information toxicologique relative à cette espèce est nulle. En outre, bien qu'il apparaisse indispensable de recueillir le plus grand nombre possible de données dans ce domaine, nous sommes nécessairement contraints à un choix limité de polluants. Nous débuterons ainsi ce chapitre par une présentation du matériel biologique et de la liste des substances toxiques retenues, dont le choix se justifie à partir de considérations diverses, qui seront énoncées également. La procédure des essais toxicologiques sera ensuite présentée, après quoi nous rapporterons et analyserons les résultats enregistrés au terme des différentes intoxications.

4.2. Matériels et méthodes

4.2.1. Matériel biologique

Il s'agit, répétons-le, d'un **poisson tropical originaire d'Amérique du Sud, *Apteronotus albifrons*** (Gymnotiformes). Parce qu'il est doté d'un organe électrique, cet organisme a la faculté d'émettre continuellement un signal électrique (EOD). Il est assimilable en cela à un véritable **générateur biologique**. Par ailleurs les caractéristiques de son émission électrique, en termes de fréquence et de forme, sont extrêmement stables dans le temps lorsque les conditions environnementales sont elles-mêmes stables. Ces deux raisons essentielles - **production d'un signal électrique et stabilité de la réponse** - ont guidé notre choix vers cette espèce. A souligner aussi que les aptéronotes sont des sujets particulièrement coopératifs - selon le qualificatif des chercheurs américains - durant les tests ; ils se réfugient en effet

spontanément à l'intérieur de tubes durant leurs phases diurnes de repos, ce qui facilite grandement la capture de leurs signaux électriques.

Pour chaque polluant, nous importons des poissons juvéniles de la région de Manaus (Brésil), en nombre suffisant pour ne pas avoir à réutiliser deux fois le même individu. Une seule exception toutefois lors des essais toxicologiques avec le gazole, lesquels sont réalisés avec des poissons d'élevage. Nous utilisons des organismes qualifiés de "naïfs" en toxicologie, c'est à dire n'ayant jamais été en présence de la substance testée. Dès l'arrivage des poissons, nous les répartissons dans les différents aquariums de stockage décrits §. 3.2.1.. Ils sont acclimatés à ces conditions de stabulation au moins 2 à 3 semaines avant le début de toute expérience. Nous nous assurons que les différents lots de poissons sont homogènes au niveau du poids (5,3 à 15,4 g). Cette précaution est nécessaire de façon à minimiser la variabilité des réponses aux conditions du test.

4.2.2. Les substances toxiques testées

Le choix des polluants que nous avons retenus, pour établir un profil de sensibilité toxicologique de l'espèce-test, a été guidé par des considérations multiples, parmi lesquelles nous avons privilégié les conclusions de l'étude de vulnérabilité de la Moselle (1990), confiée par le District de l'Agglomération Nancéienne au Groupement SETUDE - IRH (Institut de Recherches Hydrologiques). Nous y trouvons une liste de polluants dont font partie **le cyanure, le phénol, l'atrazine, le trichloroéthylène, le chrome et les hydrocarbures**. Un premier tableau (IX) indique l'origine et les caractéristiques de ces produits et fournit des informations sur les nuisances et les toxicités qu'ils induisent.

La présence de ces substances dans les eaux brutes utilisées pour la production d'eau potable doit répondre à des normes. Un second tableau (X) présente les valeurs retenues par la directive des Communautés européennes, le décret français n° 91-257, ainsi que les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) pour ces substances.

Pour nos tests de toxicologie, la gamme de concentrations choisie tient compte d'une part des valeurs (établies par l'Union Européenne et récemment intégrées dans le droit français), qui définissent les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine et d'autre part des résultats d'études toxicologiques sur les poissons (en particulier celles réalisées sur *Gnathonemus petersi*).

NATURE	ORIGINE	CARACTERISTIQUES	NUISANCES ET TOXICITE
CYANURE	Eaux résiduaires industrielles, comme : - les effluents d'installations de cyanuration, de galvanoplastie, - les eaux de lavage des gaz de hauts fourneaux et de cokeries, les opérations de synthèse dans les industries chimiques et pétrochimiques.	La quantité d'acide cyanhydrique présente dans un échantillon d'eau varie avec le pH, la température et la force ionique. La dissociation d'HCN étant très faible (1%) pour les pH inférieurs à 7, la toxicité s'élève avec la diminution de pH. En milieu naturel, le pH étant proche de la neutralité, la plus grande partie des cyanures se trouve à l'état d'HCN.	- Toxicité : une absorption de 4,7 mg de cyanure par jour n'est pas dangereuse pour l'homme. - La toxicité aiguë est attribuée à l'acide cyanhydrique (HCN) et non à l'ion CN^-.
PHENOL	Pollutions industrielles : industries du pétrole et raffineries, cokeries, fonderies, industries chimiques et pharmaceutiques, poudreries.	Les phénols simples sont très facilement biodégradés. Par contre, les dérivés phénoliques sont plus ou moins sensibles aux processus de biodégradation, selon leur structure et le nombre et la nature des groupes substituants.	- Goût de chlorophénol, qui apparaît dans l'eau en présence de chlore pour des teneurs extrêmement faibles. - Le seuil de détection organoleptique des chlorophénols (environ 1 $\mu g.l^{-1}$) est largement inférieur aux valeurs qui seraient dangereuses pour la santé du consommateur.
TRIAZINE (atrazine)	- Dans les eaux drainant des zones rurales.	Produits peu hydrolysables.	- Herbicide peu toxique. - La dose journalière acceptable pour l'atrazine est estimée à $0{,}0215 mg.kg^{-1}$.
TRICHLORO-ETHYLENE	- Très largement utilisé comme solvant des graisses dans l'industrie ou le dégraissage à sec et comme agent d'extraction. - Employé dans l'industrie des résines, des peintures et des pesticides.	Etant donné sa volatilité, sa présence dans les eaux de surface est limitée.	- Le seuil organoleptique se situe à 500 $\mu g.l^{-1}$. - Produit relativement bien métabolisé dans l'organisme (90 %), source de dérivés époxydés intermédiaires très réactifs. Ces produits de transformation sont à l'origine des toxicités aiguë et chronique des hydrocarbures chlorés.
CHROME	- Rejets d'eaux usées industrielles. - Utilisation des sels trivalents comme mordants, en teinture, en céramique et industries du verre, en photographie. - Utilisation des sels hexavalents dans le traitement des métaux, en tannerie, peinture, teinture, explosifs, céramique et papeterie.	Apparaît sous 2 formes : - Cr (III), chrome trivalent dans les chromites, - Cr (VI), chrome hexavalent dans les chromates et dichromates. Les composés du Cr (III) montrent une tendance particulière à s'oxyder.	- L'eau de distribution ne contient généralement que de Cr (VI), considéré comme plus toxique que le Cr (III). - Des expérimentations sur l'homme ont montré qu'une ingestion continue de sels de Cr (III), pendant des périodes courtes, n'avait pas d'effet pour des doses variant entre 2,5 et 5 $mg.l^{-1}$ de chrome.
HYDROCARBURES (Pétrole, kérosène, essence, mazout, fuel, huile ou lubrifiant)	Rejets de produits pétroliers, d'huiles de vidange, d'effluents de diverses industries ou d'usines à gaz, de vapeurs. Déversements accidentels (transport, fuite de réservoir, ...)	- Grande solubilité des hydrocarbures aromatiques. - Biodégradabilité lente. - En cas de pollution accidentelle, leur présence est de durée limitée à la prise d'eau d'une station en rivière, alors qu'elle peut être très longue dans une eau souterraine.	- Création d'un film superficiel qui nuit à la réoxygénation des eaux de surface et freine leur auto-épuration. - Perturbation des stations de traitement des eaux potables. - Apparition de goûts et d'odeurs pour des seuils extrêmement variables suivant les produits (de 0,5 $\mu g.l^{-1}$ pour l'essence à 1 mg.l-1 pour les huiles et lubrifiants). - Toxicité : à craindre dans les eaux de boisson pour des doses supérieures aux seuils d'apparition d'odeur et de goût.

Tableau IX : Tableau synoptique de quelques caractéristiques de pollutions organiques et minérales faisant l'objet des tests de toxicité de notre étude. (Principale source des informations : Rodier, 1984 ; Degrémont, 1989).

Substances	Directives UE[a]	Recommandations O.M.S.	Décret français n° 91-257 du 7/03/1991 Code de la santé publique Annexe III[c]	Annexe I[d] G	I
Cyanure (µg/l)	50	100	50	-	50
Phénols (indice phénol) paranitraniline et 4 amino-antipyrine (µg/l)	0,5[b]	-	100	1	5
Atrazine (µg/l)	0,1	-	0,1	-	-
Trichloroéthylène (µg/l)	-	30	-	-	-
Chrome total (µg/l)	50	50	50	-	50
Hydrocarbures dissous émulsionnés après extraction au CCl_4 (mg/l)	0,01	-	1	-	0,2

a : Journal Officiel des Communautés Européennes N° L 229/11 (15 juillet 1980).
b : A l'exclusion des phénols naturels qui ne réagissent pas au chlore.
c : Annexe III : Limites de qualité des eaux brutes utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine.
d : Annexe I : Exigences de qualité des eaux douces superficielles utilisées ou destinées à être utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine. Groupe A2 : Correspond à un traitement normal de l'eau (physique, chimique et désinfection). G : valeur guide ; I : valeur limite impérative.

Tableau X : Limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine, définies par l'Union Européenne, l'O.M.S. et la France.

4.2.2.1. Le cyanure de potassium (KCN)

Parce que cette substance est d'un emploi relativement courant dans l'industrie, elle est **responsable de nombreuses pollutions** de rivières. En effet, des mortalités massives de poissons par déversement accidentel de cyanure sont communément rapportées. Cependant **une surveillance périodique du cyanure n'est pas une approche satisfaisante** pour déterminer sa présence potentielle dans les eaux (Eisler, 1991), d'une part parce que ce composé a une **action rapide et une haute toxicité**, et d'autre part en raison de sa **faible persistance dans l'environnement**. Il est à ce titre important de détecter très rapidement la présence de ce toxique. Aussi allons-nous tester l'aptitude des poissons électriques à révéler une pollution de l'eau par du cyanure de potassium.

4.2.2.2. Le phénol (C_6H_5OH)

Sous ce terme, on désigne habituellement un ensemble de composés hydroxylés diversement substitués, dérivés du benzène (phénols simples) et de ses homologues supérieurs (crésols) et de molécules à noyaux polycondensés (naphtols et naphtols sulfonés). Pour une décontamination microbienne, on pratique souvent la chloration de l'eau qui, lorsqu'elle contient de faibles concentrations de phénols, lui communique un goût désagréable lié à la formation de chlorophénols perceptibles à l'état de trace par le consommateur. Pour éviter ce **problème de saveur**, il conviendrait que les phénols totaux contenus dans l'eau et susceptibles d'être chlorés ne dépassent pas 1 $\mu g.l^{-1}$. Aussi, bien que cette valeur appartienne au domaine de la micropollution, il nous est apparu intéressant de tester les performances de détection des poissons électriques vis-à-vis de ce composé.

Remarque : Soulignons qu'en l'absence de chloration, une teneur plus élevée de phénols pourrait être tolérée, en vérifiant toutefois le niveau de toxicité du composé phénolique. Dans les eaux d'alimentation, ce problème organoleptique induit par les chlorophénols peut être limité par l'utilisation de peroxyde de chlore, le traitement par l'ozone ou la fixation sur le charbon actif.

4.2.2.3. L'atrazine (Atraphyt EL)

L'atrazine est la troisième substance utilisée pour évaluer les performances de détection des aptéronotes. Sa dénomination chimique est le 2-chloro-4-éthylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazine. Il a été choisi pour plusieurs raisons. La première est que l'atrazine représente probablement, parmi les triazines, **l'herbicide le plus utilisé**[1]. Il joue par ailleurs un **rôle majeur dans la pollution des eaux continentales**. Une circulaire relative à la teneur en triazine des eaux destinées à la consommation humaine (bulletin officiel du ministère de la solidarité, de la santé et de la protection sociale 90-18) exprime très clairement les problèmes que peut entraîner l'utilisation de ces produits, sans préjudice des réelles **difficultés de leur traitement et de leur élimination**. Ainsi parce que la probabilité de rencontrer cette substance est loin d'être négligeable et qu'il est difficile de l'éliminer, prévenir toute contamination de la station de traitement par ces produits est essentiel. C'est à ce double titre qu'il est apparu pertinent d'engager des expériences avec l'atrazine sur les poissons électriques. Nous utiliserons pour nos tests l'ATRAPHYT EL, nom commercial de l'atrazine communément utilisé par les agriculteurs, notamment pour la culture du maïs.

---

[1] : Mentionnons que le terme d'herbicide est dans une certaine mesure trompeur, car il laisse croire à une spécificité qui n'existe en réalité presque jamais. Ce produit s'est effectivement avéré nocif non seulement pour la faune aquatique, mais également pour les oiseaux piscivores, selon le principe de biomagnification le long de la chaîne trophique.

Remarque : Nous avons délibérément choisi de travailler non pas sur le produit pur, mais sur le produit formulé, car il s'agit là de la forme sous laquelle l'atrazine est utilisée. La formulation de ce produit agropharmaceutique reste confidentielle ; cependant nous pouvons préciser que l'ATRAPHYT EL contient, outre de l'atrazine pure à 500 g.l^{-1}, les éléments ci-après : un tensio-activateur (polyarylphénol éthoxylé), un épaississant (hétéropolysaccharide), un antimousse (diméthylpolysiloxane), un conservateur (aldéhyde formique), un antigel (propylène glycol) et de l'eau.

Par commodité, nous parlerons d'atrazine alors qu'il s'agit plus exactement de l'ATRAPHYT EL. **N'oublions pas alors le fait que les substances qui entrent dans la composition de ce produit peuvent elles-aussi participer à l'expression de la toxicité**.

4.2.2.4. Le trichloroéthylène

De tous les solvants chlorés, le trichloroéthylène ($CHCl = CCl_2$) est probablement celui qui a donné lieu au plus **grand nombre d'intoxications**. Cette substance est en effet très largement utilisée dans diverses industries (résines, peinture, pesticides, ...) et constitue donc un risque qu'il est nécessaire d'évaluer.

4.2.2.5. Le chrome hexavalent ($K_2Cr_2O_7$)

De façon à dresser un profil toxicologique assez détaillé du poisson, il est nécessaire de considérer aussi les métaux, chapitre que nous aborderons avec l'étude du chrome hexavalent. Cet élément anormal de l'eau se retrouve cependant à l'état de trace dans le sang humain (Knoll et Fromm, 1960), sans en connaître pour autant la fonction. On lui attribue aussi certains bienfaits, comme un effet protecteur contre l'artériosclérose. Il est cependant à l'origine d'un certain nombre d'intoxications, d'autant plus que son utilisation concerne de multiples activités. A ce titre, il sera intéressant de réaliser des expériences avec cette substance et plus encore si nous considérons l'étude de vulnérabilité commandée par le District de l'Agglomération Nancéienne, qui dénonce les **risques potentiels de pollution liés au chrome et propres au bassin de la Moselle**. Nous utiliserons du bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$).

4.2.2.6. Le gazole

L'énorme consommation des dérivés pétroliers implique que des quantités considérables d'hydrocarbures sont véhiculées et stockées ; il existe ainsi des **risques majeurs de contamination des eaux par ces produits**. Bien que les dérivés du pétrole n'aient pas une toxicité élevée, l'inconvénient principal est qu'ils développent des odeurs et des saveurs désagréables. Les **modifications organoleptiques** de l'eau qu'ils entraînent peuvent d'ailleurs

persister longtemps après la pollution. Soulignons aussi que la présence de ces produits a des conséquences graves sur les écosystèmes aquatiques : perturbation de la fonction autoépuratrice des eaux due à la création d'un film superficiel, incidence sur le comportement des organismes aquatiques et en particulier celui des poissons (migration, reproduction, ...), *etc.* D'autre part, la présence d'hydrocarbures perturbe - parfois sévèrement - les stations de traitement des eaux potables. Enfin, dans le contexte particulier de la Moselle, remarquons que le cours de la rivière coïncide avec deux axes routiers à grande circulation (la nationale 57 de Nancy à Remiremont et la nationale 66 de Remiremont à Bussang). Il existe ainsi de réels risques associés au transport routier d'hydrocarbures. L'étude de vulnérabilité énonce aussi les risques de pollutions accidentelles associés au transport ferroviaire des matières dangereuses en général. Ce sont toutes ces raisons qui démontrent l'intérêt d'une étude sur la capacité des poissons électriques à déclencher l'alerte en cas de pollution par des hydrocarbures, la mission d'un tel biodétecteur étant non seulement de surveiller les eaux brutes destinées à la consommation humaine, mais aussi de prévenir toute contamination de la station de traitement.

4.2.3. L'unité expérimentale

L'unité expérimentale répond aux caractéristiques décrites §. 2.3.. Aussi sans en refaire la description, soulignons que la forme cylindro-conique des bacs de contention a été adoptée pour deux raisons essentielles. La première est de nature hydraulique. Notre souci en effet est de distribuer l'eau dont on souhaite tester la qualité, sur la section entière du bac qui renferme l'animal-test. La seconde raison est d'ordre électrique. Compte tenu de la répartition des lignes de courant bioélectrique autour du poisson, il s'avère qu'un bac de contention de forme cylindrique est particulièrement adapté à la capture des signaux[2].

4.2.4. L'eau de dilution

L'eau de dilution a les caractéristiques qui permettent aux poissons de vivre dans celle-ci sans stress. Nous utilisons l'eau du réseau du District de l'Agglomération Nancéienne. Au niveau du bac central de brassage, 24 heures avant l'introduction des animaux dans l'unité expérimentale, l'eau est aérée de façon à amener les concentrations en oxygène dissous et des autres gaz en équilibre avec l'air ambiant. Nous éliminons aussi par cette opération le chlore de l'eau. L'analyse des divers paramètres physico-chimiques enregistrés pour l'ensemble des expériences est présentée tableau XI.

---

[2] : Mieux encore, nous aurions pu concevoir un aquarium de forme ellipsoïdale, ce qui respecterait davantage la forme du champ électrique dont s'entoure le poisson, mais cette solution n'a pas été retenue compte tenu des difficultés de réalisation d'une telle structure.

Paramètres physico-chimiques	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
pH	7,4	0,36	6,6	7,9
Température (°C)*	27**	0,05	-	-
Oxygène dissous ($mg.l^{-1}$)	7,9	0,38	7,1	8,6
Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	275	99	168	476
Dureté totale ($mg.l^{-1}$ de $CaCO_3$)	114	54	40	220

* : Paramètre strictement contrôlé (*cf.* §. 2.3. pour la description de l'unité de thermorégulation).

** : Sauf pour les essais avec le gazole, où la température de consigne de l'eau a été fixée à 29°C (± 0,05), car ces expériences toxicologiques ont été réalisées durant la canicule estivale (thermorégulation de l'eau à 27°C impossible).

Tableau XI : Caractéristiques physico-chimiques de l'eau du réseau (District de l'Agglomération Nancéienne) utilisée pour les tests toxicologiques.

4.2.5. La procédure des essais toxicologiques

Les 8 poissons-tests étant transférés dans les 8 bacs de contention, nous observons une première **phase d'acclimatation** aux conditions expérimentales, au moins égale à 48 heures. Alors qu'on conseille généralement de ne pas nourrir les animaux 24 heures avant le test de toxicologie, ni pendant l'essai lui-même de façon à ne pas induire une variabilité due aux conditions nutritionnelles et métaboliques (Parrish, 1985), nous avons choisi au contraire de nourrir normalement les poissons (*i.e.* une distribution de vers de vase tous les jours en fin d'après-midi). Nous justifions ce choix par le fait que dans des conditions normales d'utilisation d'un biodétecteur, et ce quel qu'il soit, les organismes sont nourris régulièrement, avec bien sûr la probabilité de les alimenter juste avant l'arrivée d'une pollution. De façon à ne pas dégrader cependant la qualité de l'eau pendant cette première période d'acclimatation, le système tourne en circuit semi-ouvert (arrivée d'un goutte à goutte au niveau du bac de brassage ; trop-plein au niveau de l'un des bacs de contention).

Nous procédons ensuite à une **phase de standardisation**. Elle correspond à l'enregistrement des signaux électriques, en termes de fréquence et de forme, des 8 poissons interrogés séquentiellement, selon la démarche présentée §. 2.4.. Le recueil de ces informations débute la veille du jour de l'intoxication, de telle sorte que les poissons s'accoutument aussi à un léger court-circuit de leurs informations électriques. Pour ne pas encombrer la mémoire vive du micro-ordinateur, seules les deux dernières heures sont archivées et servent de bases de données pour l'analyse mathématique. Cette phase de standardisation est définie comme

"période individuelle témoin". Au cours de celle-ci, divers paramètres physico-chimiques sont mesurés : la température, le pH, l'oxygène dissous, la conductivité et la dureté totale.

Après la standardisation, nous débutons le **test toxicologique** proprement dit. Le polluant est déversé à la base du bac de brassage. La durée du déversement correspond au temps que met l'eau pour réaliser un cycle hydraulique complet (*i.e.* 3 à 4 minutes). Régulièrement, des échantillons d'eau sont prélevés en sortie des bacs de contention de façon à suivre l'évolution des concentrations du polluant, au cours des deux heures d'intoxication[3]. Elles sont déterminées selon les méthodes de dosage présentées tableau XII. A ce titre, il est important de souligner que nous raisonnerons préférentiellement à partir des valeurs de concentration mesurées plutôt qu'à partir des valeurs nominales, ceci pour davantage de précision. Durant l'intoxication, les signaux électriques sont recueillis, traités, analysés en temps réel et archivés par le micro-ordinateur, selon un traitement mathématique décrit ci-après. Précisons aussi que nous avons volontairement décidé d'interrompre l'intoxication au terme de deux heures d'exposition. En effet, dans quelle mesure la poursuite de l'essai toxicologique au-delà de ce temps est-elle pertinente, étant donné que seule une information rapide autorise des mesures correctives efficaces[4] ?

Rappelons que la procédure des esssais toxicologiques décrite ci-dessus est appliquée chaque fois sur des poissons "naïfs". Néanmoins une question qui vient immédiatement à l'esprit est de savoir ce qui se passerait si nous réutilisions les mêmes poissons pour différentes intoxications. Dans ce contexte, nous pouvons imaginer 3 scénarios : 1. une réponse inchangée des poissons, 2. une exacerbation de la sensibilité des organismes au toxique, 3. au contraire l'acquisition d'une plus grande résistance. Autrement dit, il serait intéressant de savoir s'il est pertinent de recourir pour chaque intoxication à un nouveau lot de poissons. Pour répondre à cette interrogation, nous avons utilisé un lot unique de 8 poissons, auquel nous avons fait subir 4 intoxications successives avec 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. Les poissons séjournent 48 heures en eau claire entre chaque déversement de la substance polluante. Hormis la répétition des intoxications, le protocole expérimental observé est identique à celui précédemment décrit.

---

[3] : Une seule exception à ce protocole expérimental, avec le gazole : d'une part l'intoxication ne dure qu'une heure, d'autre part les échantillons d'eau sont prélevés directement dans le bac de contention (et non plus en sortie comme c'est le cas général). Ce choix s'explique par la faible solubilité du gazole dans l'eau et donc l'apparition d'un biphase (deux fractions, soluble et insoluble) aux plus fortes concentrations.

[4] : A noter que le laps de temps nécessaire au déclenchement d'une alerte est directement fonction du schéma d'aménagement de la rivière. Dans le cas des eaux potables, plus la distance qui sépare la station d'alerte de l'usine de traitement des eaux est grande, moins le temps requis à la caractérisation d'une situation anormale demande à être petit (*cf.* §. 1.6.).

Substances testées	Gammes de concentrations	Méthodes de dosage
Cyanure	35 à 180 µg.l^{-1}	Méthode ionométrique
Phénol	1 à 6 mg.l^{-1}	Spectrophotométrie[a]
Atrazine	50 à 500 µg.l^{-1}	Chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide[b]
Trichloroéthylène	0,6 à 2 mg.l^{-1}	Chromatographie en phase gazeuse
Gazole	1,9 à 89 mg.l^{-1}	Spectrophotométrie infrarouge[c]
Chrome hexavalent	0,2 à 3,4 mg.l^{-1}	Spectrométrie de masse

a : Norme AFNOR T90-109 (1976). b : Norme AFNOR T90-121 (1991). c : Norme AFNOR T90-114 (1979).

Tableau XII : Synoptique des méthodes de dosage utilisées pour déterminer les concentrations réellement présentes durant les essais toxicologiques. Analyses effectuées au Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique (LHRSP - Vandœuvre-lès-Nancy).

4.2.6. L'exploitation mathématique des résultats

L'objectif est de réaliser une **discrimination rapide et certaine entre une situation normale (milieu non dégradé) et anormale (présence d'une pollution)**. Comme nous le décrivions en § 2.2.4.4., l'aptéronote possède des caractéristiques électriques qui le distinguent des autres espèces électrogènes, mais ajoutons aussi que chaque individu a ses caractéristiques électriques propres. Ceci nous permet une individualisation (électrique) des sujets-tests : à ce titre, nous pourrions parler d'une carte d'identité électrique de chaque poisson. Aussi le principe d'exploitation des données repose-t-il sur la confrontation, en continu et en temps réel, des caractéristiques électriques (fréquence et forme du signal) à l'instant présent avec les données historiques enregistrées chez le même individu. Chaque poisson est alors **son propre témoin**. Le traitement mathématique passe par plusieurs étapes décrites ci-dessous.

4.2.6.1. Echantillonnage des données

4.2.6.1.1. Fréquence des EOD

Suivant le mode de calcul de la fréquence des EOD présenté précédemment (*cf.* § 2.4.), nous enregistrons - toutes les 10 secondes environ et pour chaque poisson - **une valeur de**

fréquence, avec une précision de 1/10 ème de Hertz. L'évolution de cette caractéristique électrique est suivie graphiquement en fonction du temps. De façon à s'affranchir de parasites électriques éventuels et - au moins partiellement - des brusques élévations de la fréquence des poissons (*cf.* §.2.2.4.4.), nous filtrons les données. Pour cela, chaque fréquence qui s'écarte de 15 Hz et plus de la valeur précédemment enregistrée est ramenée à la moyenne des données de la minute précédente.

4.2.6.1.2. Forme des EOD

A partir de la transformée de Fourier, nous faisons une **analyse spectrale du signal** des EOD de chaque poisson et calculons son spectre de puissance en temps réel (*cf.* § 2.4.). Après digitalisation numérique, il est possible de visualiser sur l'écran de l'ordinateur, la forme du signal et son spectre de puissance. Nous nous intéressons aux cinq premiers harmoniques (les suivants n'étant pas toujours discernables du bruit de fond). L'exploitation de la forme du signal passe alors par le calcul des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de l'harmonique 1 (ou fondamentale). Ces rapports sont nommés respectivement H2, H3, H4 et H5. Ils sont présentés graphiquement en fonction du temps (4 courbes par poisson).

4.2.6.2. Lissage de la courbe

Dans la deuxième phase de traitement des données, nous procédons au lissage des valeurs recueillies, mais uniquement pour la fréquence des EOD (en effet, pour la forme du signal, les évolutions temporelles de H2, H3, H4 et H5 présentent une stabilité qui ne justifie pas un tel recours). Pour cela, chaque minute, nous calculons les **moyennes mobiles des fréquences**. Compte tenu de la vitesse de l'interrogation cyclique des 8 poissons, cela revient à faire la moyenne d'une dizaine de valeurs. Bien entendu, lorsque nous débutons l'enregistrement des données, nous assimilons la moyenne à la première valeur de la fréquence.

4.2.6.3. Calcul des pentes

Cette troisième phase de calcul ne concerne à nouveau que les données sur la fréquence des EOD. A partir des moyennes mobiles, nous additionnons les pentes sur 15 minutes selon la formule suivante :

$$Vi = \sum_{i=1}^{N} \frac{F_N - F_{N-i}}{T_N - T_{N-i}}$$

avec,

V_i : somme des pentes des moyennes mobiles de i à N (N = 15),
F_N : valeur de la moyenne mobile des fréquences de décharges au temps T_N,
F_{N-i} : valeur de la moyenne mobile des fréquences de décharges au temps T_{N-i}.

L'objectif de ce calcul est d'amortir les petites modifications du signal, pendant qu'il accentue les plus fortes variations. Une représentation graphique de l'évolution de V_i en fonction du temps est donnée sur l'écran de l'ordinateur.

4.2.6.4. Définition des limites supérieures et inférieures

4.2.6.4.1. Fréquence des EOD

A ce stade du traitement des données, nous calculons les **limites dynamiques d'alarmes supérieures et inférieures**, nommées respectivement LS et LI. Pour cela, nous faisons la moyenne - sur 120 minutes - de V_i à laquelle nous additionnons et soustrayons deux fois l'écart-type, respectivement pour obtenir LS et LI. Nous parlons de limites dynamiques, car toutes les minutes nous réestimons LS et LI avec la nouvelle valeur de V_i. L'avantage d'un tel mode de calcul est de prendre en compte l'historique des variations des données. Cela permet en outre de s'affranchir des problèmes de fausses alarmes en cas de dérive lente des valeurs de la fréquence des EOD du poisson.

4.2.6.4.2. Forme des EOD

L'exploitation de cette seconde caractéristique électrique est simple. Les données précédemment calculées, c'est à dire H2, H3, H4 et H5, sont directement encadrées par des **limites statiques d'alarmes supérieures et inférieures**, désignées respectivement par LS' et LI'. Celles-ci correspondent au calcul de la moyenne, plus ou moins deux fois l'écart-type, des données sur une heure (*i.e.* un intervalle de confiance à 95%).

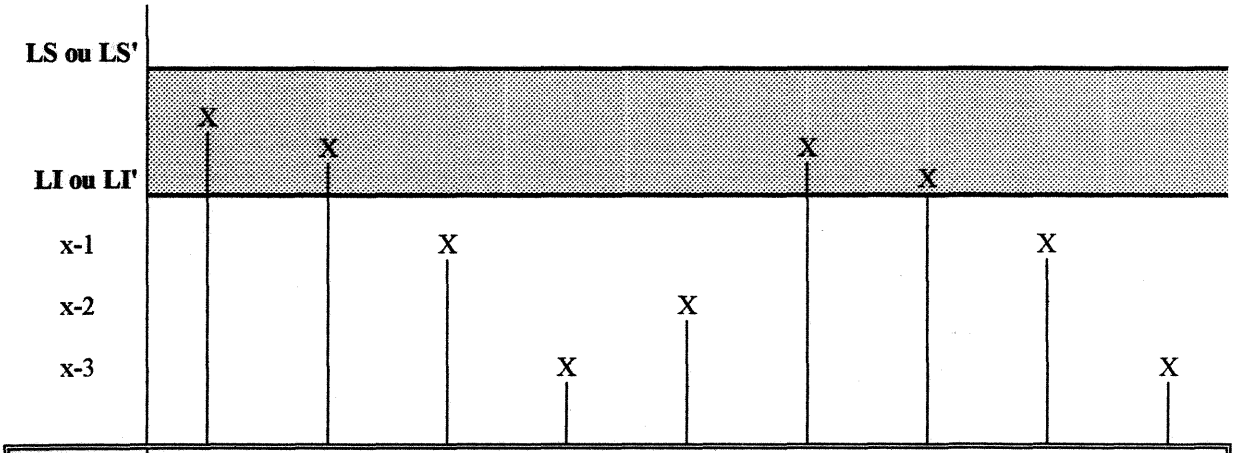
4.2.6.5. Attribution d'un rang, d'une déviation et d'un degré

Normalement, en l'absence de polluant(s), les valeurs enregistrées d'une part pour la fréquence des EOD et d'autre pour la forme du signal sont à l'intérieur de [LS, LI] et [LS', LI'] respectivement. En réalité ce qui nous importe, ce sont justement les points qui sont en-dehors de ces intervalles. Ces derniers traduisent en principe l'apparition de conditions anormales. Il arrive cependant que pour des raisons diverses (lissage insuffisant d'un pic de fréquence, problème de régulation thermique, parasites électriques, ...), un point, que nous qualifierons d'artefact, survienne en-dehors des limites préétablies. Aussi déclencher une alarme pour un tel cas de figure ne serait pas approprié. C'est pourquoi nous attribuons à chaque point en dehors des intervalles [LS, LI] ou [LS', LI'] un rang, un degré et une déviation, de façon à renforcer la crédibilité du système. Plus en détail, voyons ce que cela sous-entend.

Au premier point qui n'est pas compris dans les intervalles [LS, LI] ou [LS', LI'] sera attribué le rang 1. Si le point suivant est aussi en dehors des limites, on lui affecte le rang de son prédécesseur incrémenté de 1. Ainsi tous les points successifs à l'extérieur de [LS, LI] ou [LS', LI'] héritent du rang de leur prédécesseur incrémenté de 1. Si au contraire, le point suivant retourne à l'intérieur des intervalles [LS, LI] ou [LS', LI'], on lui attribue aussi le rang de son prédécesseur mais en lui soustrayant la valeur de 1. Ainsi tous les points successifs à l'intérieur de [LS, LI] ou [LS', LI'] héritent du rang de leur prédécesseur moins 1.

Simultanément, nous calculons pour chaque point qui se présente hors des intervalles [LS, LI] ou [LS', LI'] sa déviation. Celle-ci correspond à la valeur absolue de la différence entre la valeur de V_i (fréquence) ou de H2, H3, H4, H5 (forme) d'une part et la valeur de la limite la plus proche, c'est à dire LS ou LS' et LI ou LI' d'autre part, au même instant t. Nous définissons alors le degré de dépassement du point comme étant le produit de son rang par la déviation cumulative. Cette dernière correspond à la somme des déviations de tous les points qui le précédent plus sa propre déviation.

La figure 21 schématise les opérations décrites ci-avant dans ce paragraphe, à partir d'un exemple théorique.



Rang = Kx	-	-	1	2	3	2	1	2	3
Déviation	-	-	1	3	2	0	0	1	3
Degré	-	-	1	8	18	12	6	14	30

Figure 21 : Calcul du rang, de la déviation et du degré des données analysées en relation avec les limites (dynamique ou statique) d'alarme supérieures et inférieures. Une version simplifiée du protocole mathématique d'analyse des données.

4.2.6.6. Critères d'alarme

A ce stade du traitement des données, nous disposons d'un mode de discrimination entre le recueil de caractéristiques électriques "normales", *i.e.* comprises dans les intervalles [LS, LI] ou [LS', LI'] et l'enregistrement de réponses "anormales". Ces dernières correspondent à des valeurs qui sont en-dehors des intervalles précités et sont associées chacune à un rang et à un degré. C'est à partir de la valeur de ce degré que nous validons le ***premier critère d'alarme***, pour un individu. Nous considérons que les fréquences des EOD d'un organisme témoignent d'une situation anormale lorsque la **valeur du degré est supérieure ou égale à 30 pour LI et à 500 pour LS**. Pour plus de robustesse encore, une réponse positive ne sera enregistrée comme telle que si, et seulement si, elle est suivie par une seconde réponse positive développée par un autre organisme, dans un intervalle de temps inférieur à 30 minutes strictement. Pour la forme de l'onde, la **valeur du degré doit être supérieure ou égale à 2.000, indifféremment pour le franchissement de LI' ou de LS'**.

Ces valeurs qui gouvernent le système d'alarme ont été déterminées empiriquement. Pour cela, plusieurs tests toxicologiques (n = 10) ont été conduits suivant la procédure décrite ci-dessus, avec pour chaque essai un lot de 8 poissons différents. Les valeurs de pré- et post-intoxication sont enregistrées pour chacune des caractéristiques électriques (fréquence, H2, H3, H4 et H5). La déviation, le rang et le degré liés à l'ensemble des points recueillis sont ensuite calculés.

La question était alors de déterminer, sur la base de ces résultats mathématiques, quelles valeurs il fallait adopter pour caractériser le degré de variation de chaque paramètre et dans chaque cas (franchissement des limites inférieures LI / LI' et supérieures LS / LS'), ceci afin de parvenir à un bon équilibre entre sensibilité et crédibilité des informations enregistrées. A cette fin, plusieurs filtres mathématiques ont été appliqués aux différentes séries de données, puis analysés informatiquement. C'est avec les valeurs finalement adoptées (*cf.* supra) que ce système a donné satisfaction.

Un ***second critère d'alarme*** est ensuite adjoint au premier ; il prend en compte le groupe des organismes-tests (*i.e.* les 8 individus). Nous considérons que ce second niveau d'alarme est atteint lorsque **50 % des poissons répondent au premier critère**.

Ainsi notre traitement mathématique n'a-t-il pas été mis en place *a priori* (*i.e.* en-dehors de toute expérience) mais bien au contraire déterminé après de multiples essais. Insistons sur le fait que les possibilités de paramétrage d'un tel système se présentent à tous les niveaux :

échantillonnage, transformation des données, paramètre(s) de variation évalué(s), définition de limites, attribution de rang et de degré, élaboration de critères d'alarme, ...

A ce titre, peut-être pourrions-nous déplorer que dans ce domaine, les choix soient si souvent exclusifs et interdisent l'exploration d'autres possibilités. Ne prenons pour exemple que la première phase, celle de l'échantillonnage. La démarche logique et évidente est celle de décider tout d'abord quels sont les paramètres que nous souhaitons étudier. A partir de là, surgissent diverses interrogations :

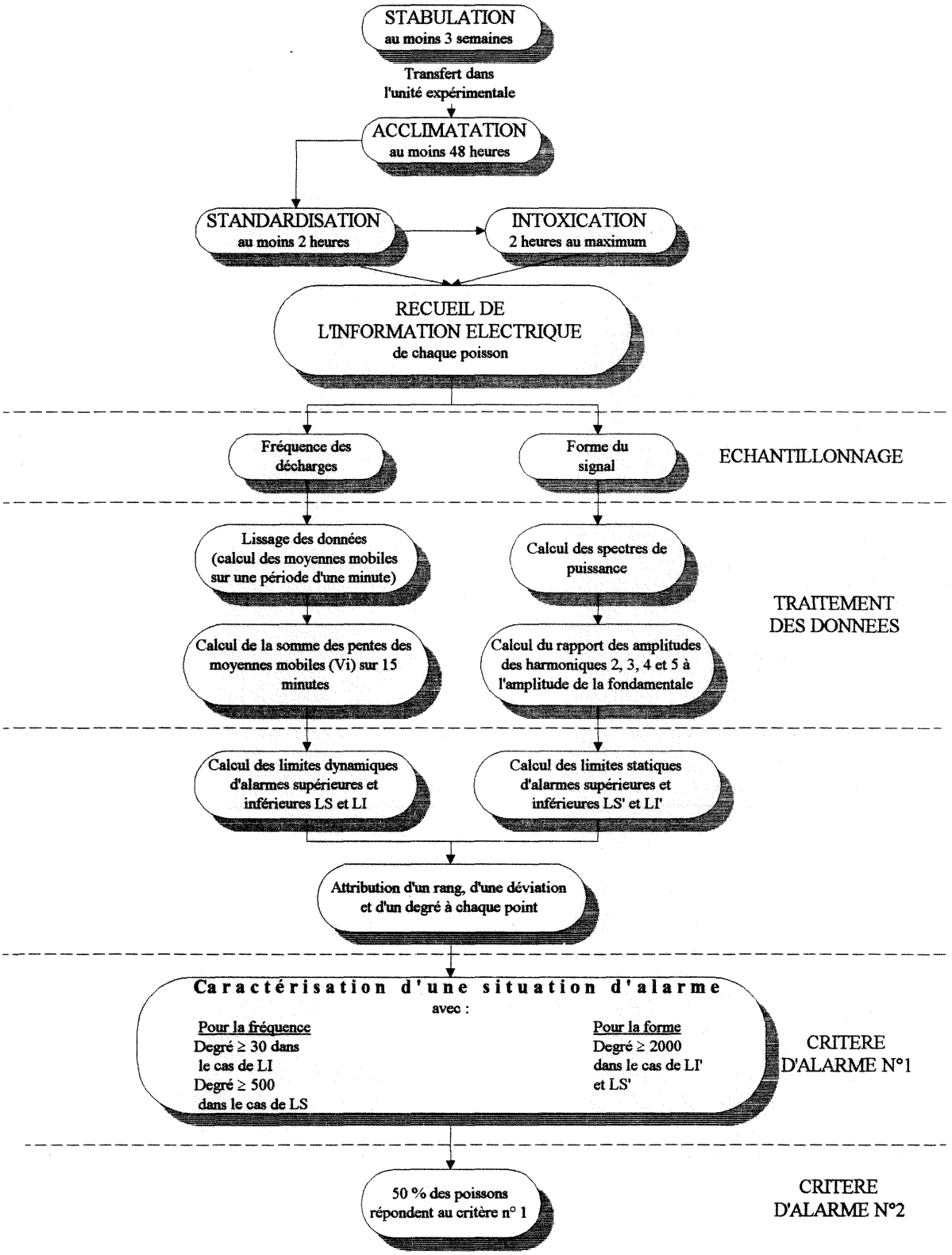
- Quel mode de recueil des données devons-nous adopter ?
- Quelle doit être la taille de l'échantillonnage ?
- Quelle vitesse d'échantillonnage devons-nous retenir ? *etc.*

Ces considérations sont fondamentales car ce sont elles qui conditionnent tous les résultats qui vont suivre. Nous avons par exemple choisi de travailler sur la fréquence des EOD de 8 poissons interrogés séquentiellement toutes les 10 secondes. Cependant ce choix ne permet pas l'étude des pics de fréquence, dont la probabilité d'apparition pourrait éventuellement varier statistiquement suivant les caractéristiques physico-chimiques du milieu. C'est une hypothèse dont la vérification n'est pas permise avec le choix que nous avons fait. Notons que la direction générale dans laquelle s'est engagée cette étude n'a pas été décidée arbitrairement, mais en conclusion de considérations expérimentales antérieures. Elle a l'avantage d'offrir une **large gamme de paramétrages**, ce qui permet la sélection d'un équilibre entre sensibilité et crédibilité, en rapport avec l'application *in situ*.

En réalité, il est important de toujours garder à l'esprit la nature des choix retenus, qui caractérisent une voie d'exploration clairement définie, sans oublier que c'est une possibilité parmi d'autres. La priorité est, pour ce qui nous importe dans un premier temps, de définir le profil de sensibilité toxicologique de l'aptéronote à la plus large gamme de polluants. Ceci sera réalisé par recours à un mode d'analyse unique et permettra, dans un second temps, de comparer entre eux les résultats obtenus avec les différentes substances.

*Remarque : A ce propos, un lecteur attentif pourra s'étonner - à juste titre d'ailleurs - de l'usage quelque peu abusif que nous faisons du mot "forme" lorsque nous parlons de l'étude de la forme du signal, alors qu'il s'agit davantage d'**une** étude de forme de ce signal. Simplement par commodité, nous conserverons ce terme générique, tout en gardant à l'esprit qu'il ne désigne qu'une procédure parmi d'autres.*

4.2.7. Organigramme récapitulatif du protocole expérimental



4.3. Résultats

Les modifications de l'activité électrique des aptéronotes dans des conditions toxiques variées vont être présentées en prenant pour l'étude de la fréquence des décharges et l'analyse de la forme du signal[5], les critères d'alarme 1 et 2.

4.3.1. Performances de détection du cyanure de potassium

A chaque expérience, des échantillons d'eau sont prélevés toutes les 10 minutes en sortie des bacs de contention, de façon à suivre l'évolution de la concentration en cyanure au cours des deux heures d'intoxication. Le tableau XIII présente les valeurs des concentrations en CN^- mesurées par méthode ionométrique ; elles sont à comparer aux valeurs des concentrations nominales, à savoir 35, 45, 70, 125 et 180 $\mu g.l^{-1}$. Aussi fonderons-nous nos discussions et conclusions sur ces dernières valeurs.

Concentrations nominales $\mu g.l^{-1}$	35	45	70	125	180
Concentrations mesurées $\mu g.l^{-1}$	34,6 (3,4)	44 (3)	69,6 (3,2)	123,3 (5,8)	180 *

* : Une seule mesure après 10 minutes d'exposition au cyanure de potassium (voir texte pour plus de détails).

Tableau XIII : Valeurs des concentrations nominales d'une part et mesurées par méthode ionométrique d'autre part, du cyanure au cours des 5 expériences. Les valeurs des concentrations mesurées correspondent à une moyenne calculée à partir de prélèvements effectués toutes les 10 minutes. Les nombres entre parenthèses correspondent à l'écart-type.

4.3.1.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.1.1.1. Fréquence des EOD

Le tableau XIV présente les temps de détection pour les différentes concentrations de CN^-, à partir de l'étude de la fréquence des EOD. Il illustre également les pourcentages de poissons qui développent une réponse positive au terme des 2 heures d'intoxication, pour chaque concentration de cyanure testée.

[5] : L'amplitude du signal, qui pourrait aussi être une source d'information sur une éventuelle modification de la qualité du milieu, n'est pas exploitée dans notre étude pour la simple raison qu'elle varie en fonction des déplacements du poisson par rapport au couple d'électrodes. Il eût fallu immobiliser le poisson pour exploiter une telle caractéristique, ce qui pourrait être envisageable dans le cadre d'expériences de courtes durées, mais certainement pas dans un système fonctionnant en continu sur site, pour des raisons déontologiques évidentes.

Tout d'abord, il est important de souligner que tous les poissons ne répondent pas systématiquement à la présence du KCN, au cours des 2 heures d'intoxication. Cette remarque, qui se vérifie aux faibles concentrations, n'est plus vraie à 180 $\mu g.l^{-1}$ de CN^-. En effet, **le pourcentage de poissons qui déclenchent l'alerte augmente globalement avec la concentration en CN^-**. Il évolue de 62,5 % à 35 $\mu g.l^{-1}$ jusqu'à 100 % pour une concentration de CN^- de 180 $\mu g.l^{-1}$. Cependant à 70 $\mu g.l^{-1}$ de CN^-, 62,5 % de poissons fournissent une réponse positive, alors qu'à 45 $\mu g.l^{-1}$, 75 % des organismes répondaient déjà à la présence du polluant (*cf.* tableau XIV).

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE CYANURE, A PARTIR DE L'ETUDE DE LA **FREQUENCE DES EOD**									
	35 $\mu g.l^{-1}$		45 $\mu g.l^{-1}$		70 $\mu g.l^{-1}$		125 $\mu g.l^{-1}$		180 $\mu g.l^{-1}$	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	12	-	17	-	-	-	-	32	-	5
2	-	52	-	32	-	-	-	60	-	2
3	-	-	16	-	-	6	-	9	-	9
4	27	-	-	-	4	25	-	24	-	6
5	16	-	4	-	-	-	7	-	-	7
6	24	-	16	-	-	47	-	36	-	4
7	-	-	-	-	4	-	-	-	-	3
8	-	-	62	-	6	26	61	45	-	8
Pourcentage de réponses positives	62,5 %		75 %		62,5 %		87,5 %		100 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition à du cyanure de potassium.

Tableau XIV : Temps de détection de différentes concentrations de cyanure, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Un second résultat essentiel, recueilli au cours de ces expériences, est que **l'exploitation de cette première caractéristique électrique permet de déceler la présence de KCN dès la plus petite concentration testée, soit 35 $\mu g.l^{-1}$. Les temps de détection de cette substance décroissent au fur et à mesure que les concentrations augmentent** (*cf.* tableau XIV). Ils sont cependant relativement variables d'un individu à un autre, ceci étant principalement vrai aux plus faibles concentrations. Ainsi les temps de détection du cyanure de potassium sont compris entre 12 et 52 minutes pour une concentration de 35 $\mu g.l^{-1}$ et sont toujours inférieurs à 10 minutes lorsque la concentration atteint 180 $\mu g.l^{-1}$. Soulignons que cette dernière concentration est probablement très proche du niveau létal : les réponses électriques des 8 aptéronotes testés sont effectivement fortement perturbées. Ces poissons

manifestent d'autre part un changement comportemental remarquable ; en effet, dès les premières minutes, les poissons quittent leur tube et se tiennent à la verticale. Ils viennent piper régulièrement et finissent même par flotter. Cette expérience a par conséquent dû être interrompue 10 minutes après le déversement du KCN, de façon à ne pas provoquer la mort des organismes-tests (les poissons replacés dans leurs aquariums de stockage, se sont nourris normalement de vers de vase, 30 minutes seulement après l'intoxication).

Autre résultat original de cette étude, celui du sens de la réponse, qui diffère suivant la quantité de cyanure déversée. **Alors qu'aux plus petites concentrations (*i.e.* 35 et 45 µg.l^{-1}), nous enregistrons plutôt une baisse des fréquences, à des concentrations plus élevées (*i.e.* 125 et 180 µg.l^{-1}), les poissons répondent par une augmentation du nombre de décharges émises par seconde**. A 70 µg.l^{-1}, le sens de la réponse est intermédiaire. Ceci peut être observé dans le tableau XIV qui indique les franchissements soit de la limite inférieure, soit de la limite supérieure. L'évolution temporelle de la fréquence des EOD en présence de KCN est montrée sur les figures 22 et 23.

Remarque : Il arrive parfois que la détection du KCN soit consécutive aux franchissements de la limite inférieure, puis de la limite supérieure. Ce cas de figure est très rare ; il se présente par exemple chez le poisson n°4 à 70 µg.l^{-1} (cf. tableau XIV).

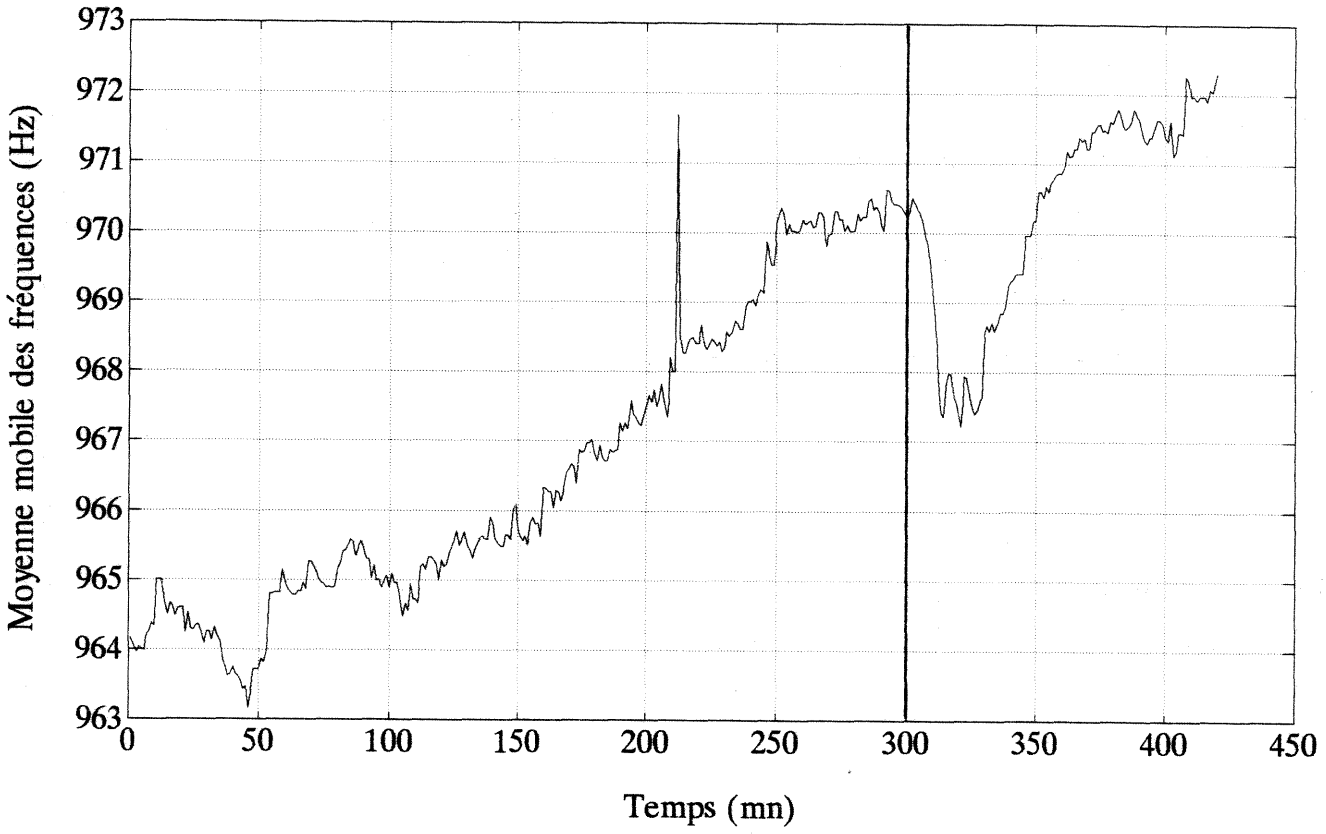


Figure 22 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-300 mn) et d'intoxication à 35 µg.l^{-1} de cyanure (300-420 mn), chez le poisson n°1 (temps de détection : 12 mn).

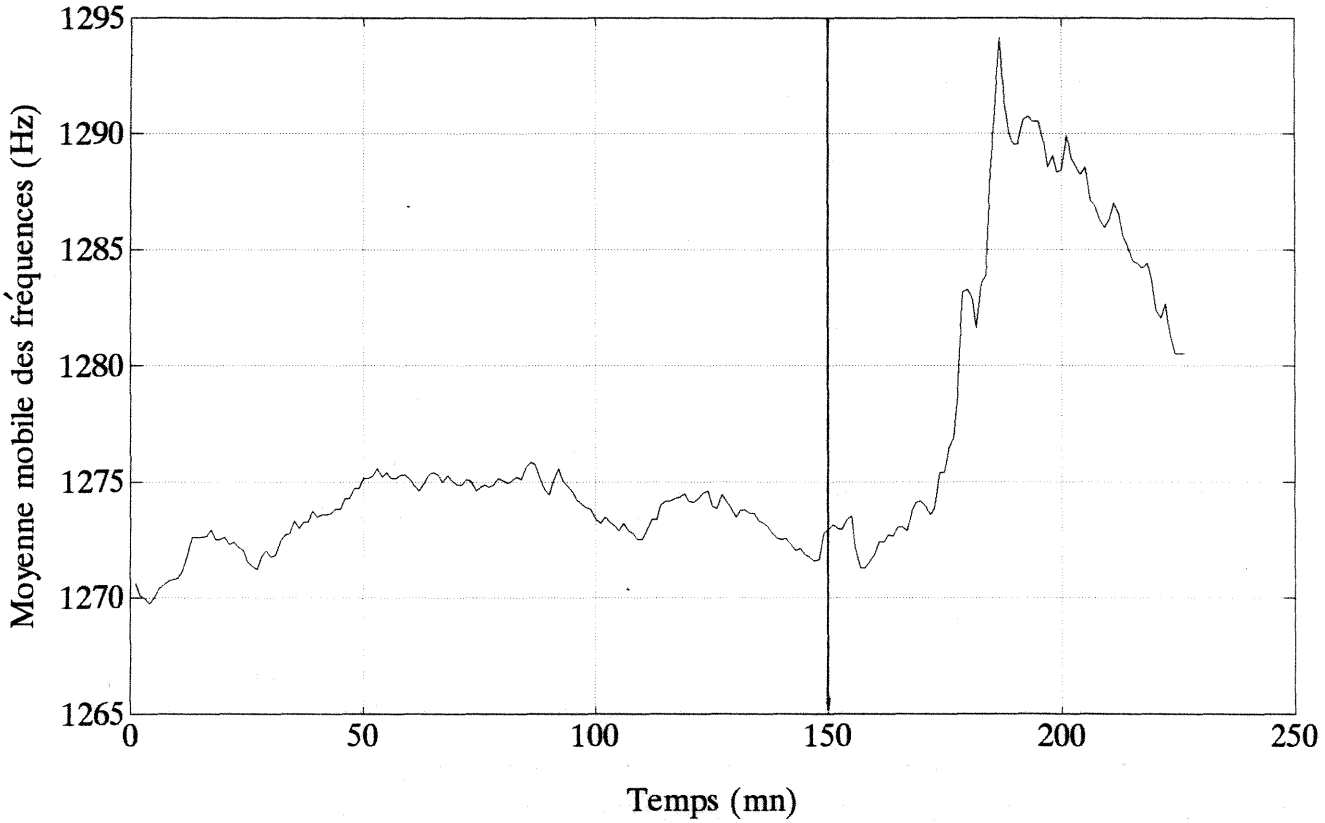


Figure 23 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-150 mn) et d'intoxication à 125 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure (150-220 mn), chez le poisson n°6 (temps de détection : 36 mn).

Ces figures mettent clairement en évidence la baisse des fréquences à 35 $\mu g.l^{-1}$ et au contraire leur augmentation à 125 $\mu g.l^{-1}$ de CN^-. Elle nous informe également de la différence qui existe au niveau de l'amplitude des réactions enregistrées, selon les concentrations en cyanure. Logiquement, la variation de fréquence est d'autant plus marquée que la concentration en cyanure est plus grande. A titre d'exemple, et comme le présentent les 2 précédentes figures (22 et 23), 35 $\mu g.l^{-1}$ de CN^- provoquent une chute de fréquence de 3 Hz environ, alors qu'une concentration de 125 $\mu g.l^{-1}$ de CN^- entraîne une augmentation de 20 Hz.

4.3.1.1.2. Forme des EOD

Le tableau XV présente les temps de détection des différentes concentrations de cyanure, enregistrés à partir de l'étude de la forme du signal ondulatoire émis par les poissons. Nous considérons pour cela les variations dans le temps des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale (ou encore harmonique 1). Rappelons que ces rapports sont désignés respectivement par H2, H3, H4 et H5. Le tableau XV décrit aussi les pourcentages d'organismes qui détectent la substance toxique, au terme des 2 heures d'intoxication.

	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE CYANURE A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FORME DES **EOD**							
①	**HARMONIQUE 2**							
N° des	35 µg.l^{-1}		45 µg.l^{-1}		70 µg.l^{-1}		125 µg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	28	-	17
2	57	-	-	-	-	28	-	12
3	-	108	-	-	-	41	-	20
4	-	-	-	-	-	32	-	-
5	-	-	-	-	-	69	-	28
6	-	-	-	90	-	26	45	71
7	-	-	-	26	-	29	-	28
8	-	-	-	86	-	31	-	13
②	**HARMONIQUE 3**							
N° des	35 µg.l^{-1}		45 µg.l^{-1}		70 µg.l^{-1}		125 µg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	9	-	-	7	36	-	28	-
2	-	-	-	-	-	-	-	70
3	-	60	-	-	-	-	-	13
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	23	-
6	-	-	-	119	41	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	17	-
8	-	-	-	-	106	-	72	-
③	**HARMONIQUE 4**							
N° des	35 µg.l^{-1}		45 µg.l^{-1}		70 µg.l^{-1}		125 µg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	75	-	-	-	33	24	-
2	-	-	-	-	-	47	-	70
3	-	8	-	-	-	41	-	71
4	-	-	-	-	-	49	-	-
5	-	88	-	98	-	-	-	40
6	-	35	-	45	-	49	37	-
7	-	-	-	-	-	59	-	-
8	-	-	-	-	-	30	-	31
④	**HARMONIQUE 5**							
N° des	35 µg.l^{-1}		45 µg.l^{-1}		70 µg.l^{-1}		125 µg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	69	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	29
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	20
5	-	-	-	-	-	-	-	41
6	-	-	-	53	-	32	-	66
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	48	-	40
Pourcentage de réponses positives *	62,5 %		62,5 %		100 %		100 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition à du cyanure de potassium.
* : Au terme des 2 heures d'intoxication et toutes harmoniques confondus.

Tableau XV : Temps de détection de différentes concentrations de cyanure, à partir de l'étude de la forme des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI'), soit de la limite supérieure (LS'), soit des deux.
Pourcentage de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Remarque : Etant donné l'arrêt précoce de l'expérience réalisée avec 180 µg.l^{-1} de CN^-, nous n'avons pas pu exploiter la forme du signal électrique à cette concentration.

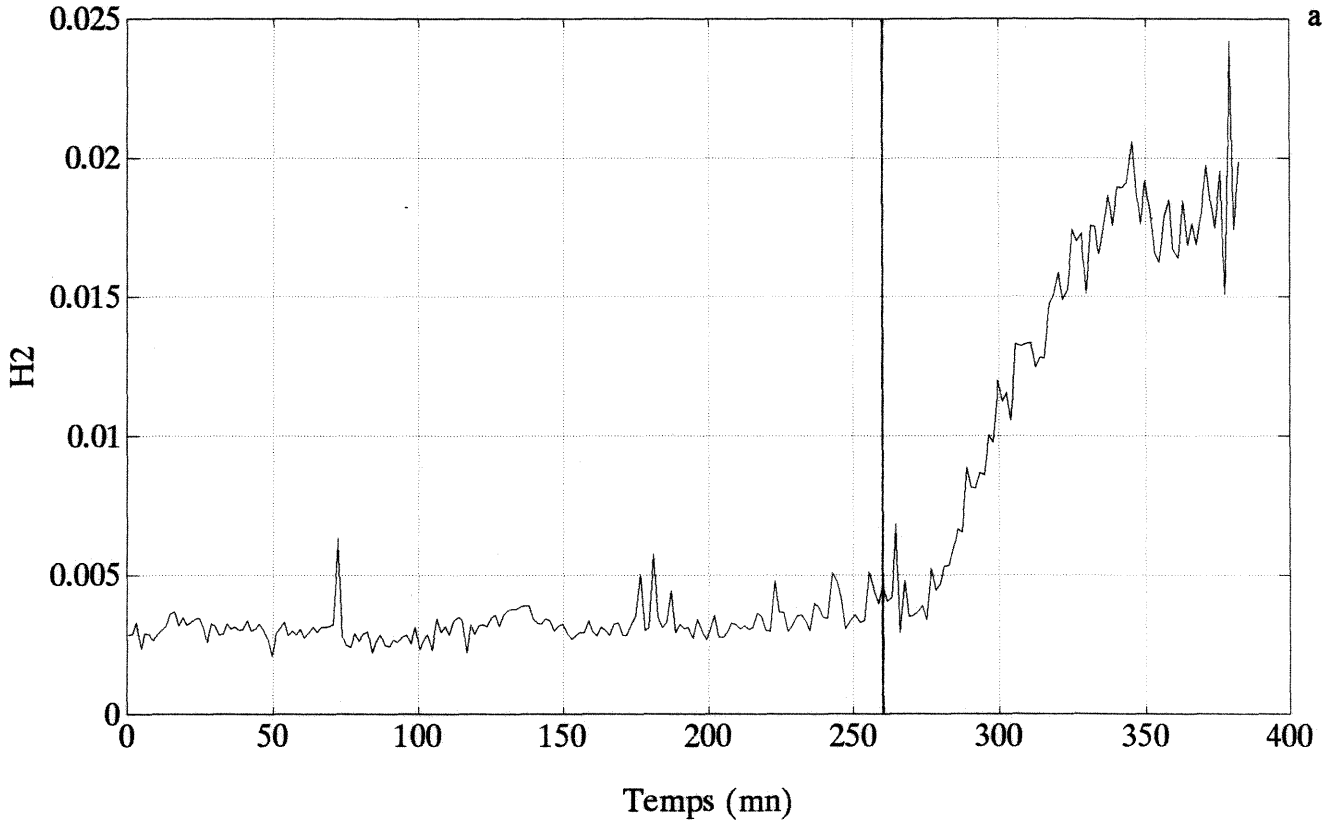
Soulignons pour commencer que logiquement le nombre de poissons qui développent une réponse positive est d'autant plus grand que la concentration en cyanure augmente (*cf.* tableau XV).

En l'absence de polluant, les rapports H2, H3, H4 et H5 sont relativement stables dans le temps. En revanche, cette stabilité peut disparaître après un déversement de cyanure de potassium. Ainsi, les variations des harmoniques pairs, que reflètent H2 et H4, tendent à augmenter. Ceci est surtout vrai à 70 et à 125 µg.l^{-1} de CN^-, mais se vérifie également - bien que dans une moindre mesure - à 35 µg.l^{-1} (H4) et à 45 µg.l^{-1} (H2). La figure 24 illustre un exemple-type de ces variations.

Le sens de la réponse peut également se lire sur le tableau XV. Celui-ci présente les temps de déclenchement de l'alarme, qui surviennent préférentiellement après franchissement de la limite supérieure, LS'. L'étude parallèle des harmoniques impairs est décevante (*cf.* figure 25). Notons cependant qu'à 125 µg.l^{-1}, le rapport H3 diminue chez 4 poissons pendant qu'il augmente chez deux autres. De même, H5 augmente chez 62,5 % des sujets-tests à cette même concentration.

En fait, et comme précédemment, **l'exploitation de la forme du signal électrique permet de déceler la présence de KCN dès la plus petite concentration (*i.e.* 35 µg.l^{-1})**. Le tableau XV montre que la détection de cette substance toxique est plus précoce lorsque nous exploitons les harmoniques pairs plutôt que les harmoniques impairs. Quelques exceptions se présentent néanmoins, en particulier à 125 µg.l^{-1}, où l'étude de l'harmonique 3 fournit une information plus précoce, en comparaison des autres harmoniques, sur la présence de cyanure dans le milieu environnemental du poisson.

En général, l'étude de la forme des EOD permet de déceler la présence du cyanure d'autant plus rapidement que sa concentration augmente. La détection la plus tardive est celle enregistrée avec une concentration en CN^- de 45 µg.l^{-1}. A ce titre, il est important de noter qu'il existe là encore une certaine variabilité intraspécifique des temps de détection.



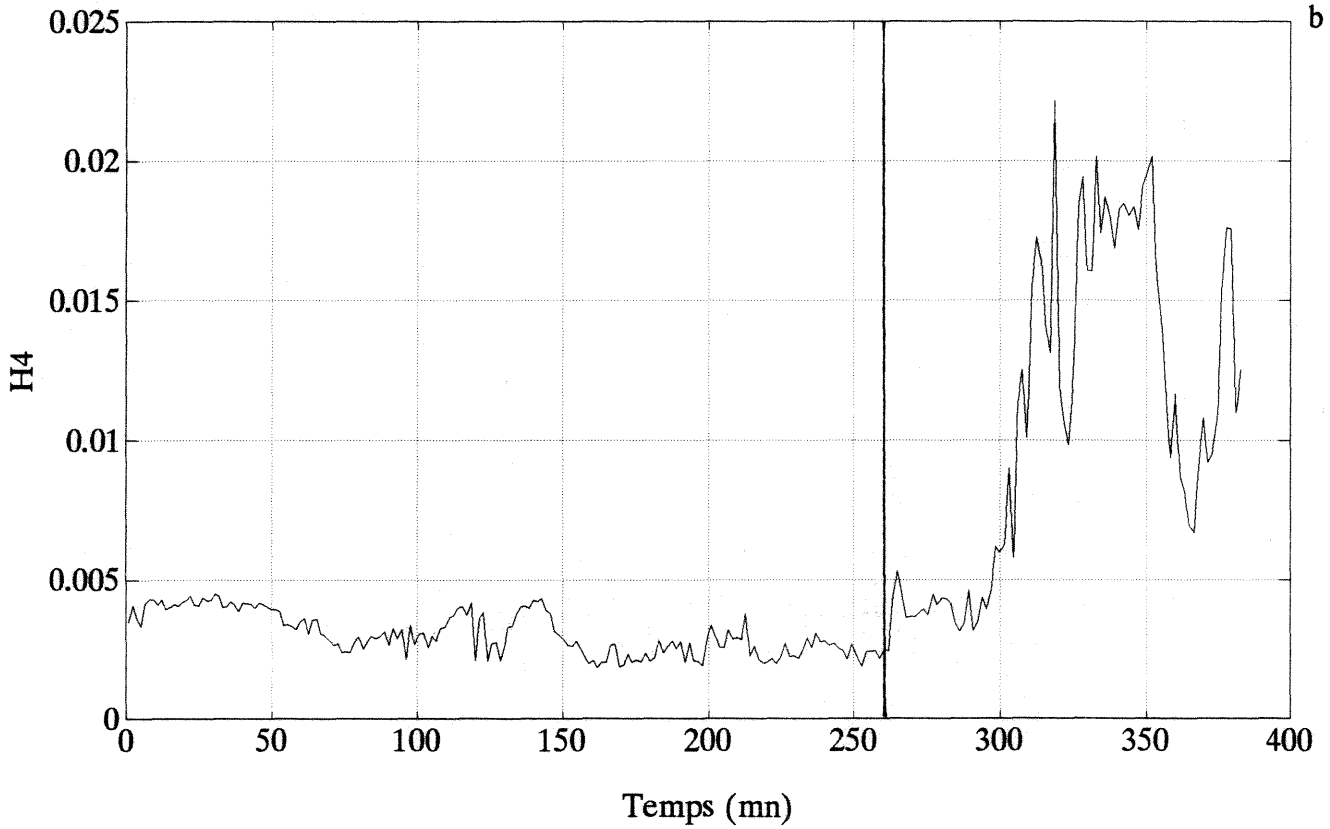
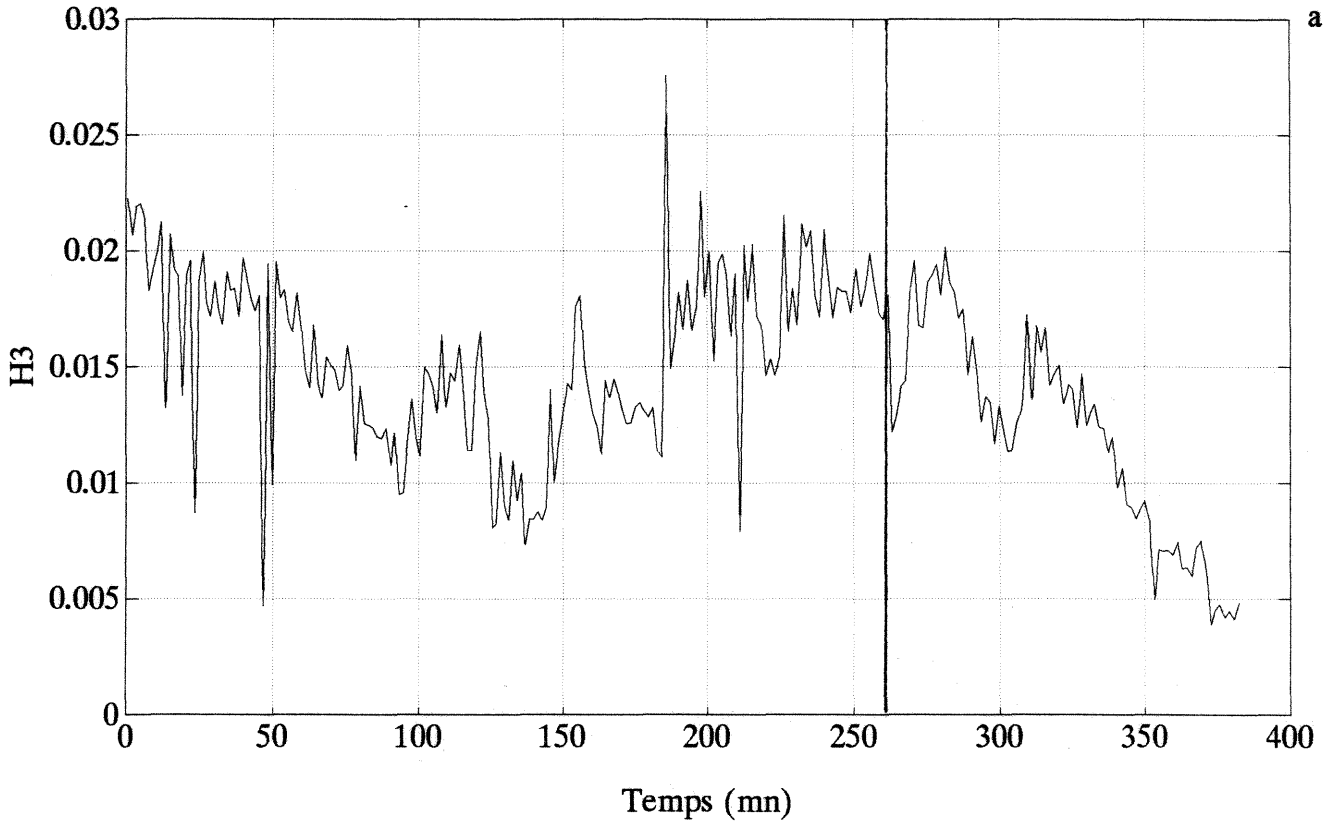


Figure 24 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0-260 mn) et d'intoxication à 70 µg.l^{-1} de cyanure (260-380 mn), des rapports H2 (graphe a, poisson n°2, temps de détection : 28 mn) et H4 (graphe b, poisson n°6, temps de détection : 26 mn).



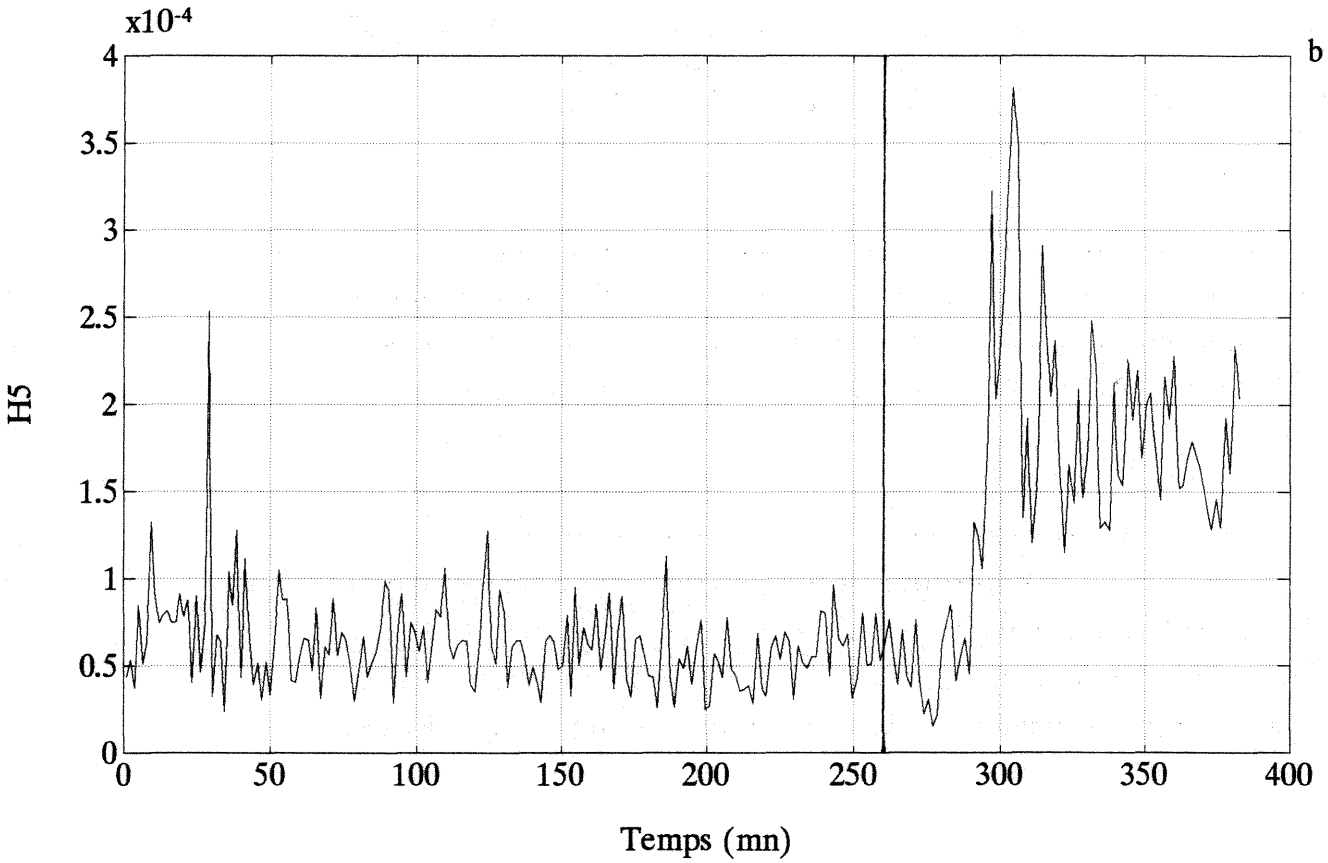


Figure 25 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0-260 mn) et d'intoxication à 70 µg.l^{-1} de cyanure (260-380 mn), des rapports H3 (graphe a, poisson n°8, temps de détection : 106 mn) et H5 (graphe b, poisson n°8, temps de détection : 48 mn).

4.3.1.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Le second critère d'alarme exige - rappelons-le - qu'au moins 50 % des poissons atteignent le critère 1 pour que l'on considère la détection du polluant comme étant effective (voir §.4.2.6.6.).

A partir de ce critère, l'étude de la fréquence des EOD des poissons permet de détecter des concentrations de 35, 45, 70, 125 et 180 $\mu g.l^{-1}$ respectivement en 27, 17, 6, 32 et 5 minutes (*cf.* tableau XVI). Comparativement, l'étude de la forme de l'onde nécessite davantage de temps pour déceler les 3 plus petites concentrations de cyanure testées. Cependant, cette seconde caractéristique semble plus intéressante à considérer à 125 $\mu g.l^{-1}$ de CN^-, concentration détectée en 17 minutes seulement.

Concentrations en cyanure ($\mu g.l^{-1}$)	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS		
	Fréquence des EOD	Forme des EOD	Fréquence et/ou forme des EOD
35	27	57	24
45	17	86	16
70	6	29	6
125	32	17	13
180	5	-	5

Tableau XVI : Temps de détection de différentes concentrations de cyanure, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude soit de la fréquence des EOD, soit de la forme des EOD, soit de ces deux caractéristiques combinées.

Les performances de détection du KCN par *A. albifrons*, enregistrés à partir de la combinaison des deux caractéristiques électriques, sont également présentées dans le tableau XVI. Cette analyse consiste à retenir pour chaque poisson le plus petit temps de détection du cyanure, en considérant ou la fréquence ou la forme des EOD, selon le meilleur des deux cas.

L'étude concomitante des 2 caractéristiques électriques permet globalement une amélioration des résultats enregistrés, autrement dit une baisse des temps de détection. Aux concentrations de 35, 45 et 125 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure, ces temps sont effectivement plus petits que ceux enregistrés avec l'une ou l'autre des 2 caractéristiques électriques étudiées séparément. Seule à 70 $\mu g.l^{-1}$, l'analyse croisée des 2 caractéristiques électriques - fréquence et/ou forme - n'offre pas un avantage quant au temps de détection. Concrètement, notons que des concentrations de 35, 45, 70 et 125 $\mu g.l^{-1}$ de CN^- sont respectivement détectées en 24, 16, 6 et 13 minutes.

En conclusion, il appert que dans 3 cas sur 4, la combinaison des résultats issus de l'étude de la fréquence et/ou de la forme des EOD (selon le meilleur des 2 cas) conduit à un abaissement des temps de détection d'une pollution au cyanure de potassium. Cette procédure se révèle également bénéfique lorsque l'on considère les pourcentages de réponses positives enregistrées au terme de 2 heures d'exposition à du cyanure, comme en témoigne l'examen du tableau XVIII.

CONCENTRATIONS EN CYANURE ($\mu g.l^{-1}$)	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES
35	75
45	87,5
70	100
125	100
180	100

Tableau XVII : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes concentrations de cyanure.

4.3.2. Performances de détection du phénol

Des échantillons d'eau, prélevés toutes les 15 minutes en sortie des bacs de contention, permettent d'évaluer de façon précise les concentrations de phénol effectivement présentes au niveau des poissons. Le tableau XVIII présente les résultats de l'analyse spectrophométrique. Nous pouvons constater que de petites différences entre les concentrations nominales d'une part, et les concentrations mesurées d'autre part se présentent parfois. Aussi raisonnerons-nous préférentiellement sur les résultats issus des analyses, d'autant plus que les valeurs des concentrations en phénol entre les différents prélèvements montrent une bonne homogénéité.

Concentrations nominales $mg.l^{-1}$	1	2	4	6
Concentrations mesurées $mg.l^{-1}$	1 (0,1)	2,2 (0,2)	4,4 (0,1)	6,8 (0,2)

Tableau XVIII : Valeurs des concentrations nominales d'une part et mesurées par spectrophotométrie d'autre part, du phénol au cours des 4 expériences. Les valeurs des concentrations mesurées correspondent à une moyenne calculée à partir de prélèvements effectués tous les quarts d'heure. Les nombres entre parenthèses correspondent à l'écart-type.

4.3.2.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.2.1.1. Fréquence des EOD

Les résultats de l'étude de cette première caractéristique électrique, lors d'une intoxication au phénol, sont présentés dans le tableau XIX.

A partir de l'étude de la fréquence des EOD, une concentration en phénol de 1 $mg.l^{-1}$ entraîne déjà une réponse chez 50 % des poissons testés. Comme attendu **le nombre de poissons qui développent une réponse positive augmente lorsque s'intensifie la concentration en phénol**. Ainsi nous enregistrons 62,5 % et 100 % d'organismes qui répondent au critère d'alarme 1 en présence de 2,2 et 4,4 $mg.l^{-1}$ de phénol respectivement. Paradoxalement à 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol, nous recueillons un moins bon résultat, avec le déclenchement de l'alerte chez 7 poissons sur 8 seulement. En effet, le poisson n°1 ne modifie pas suffisamment la fréquence de ses EOD pour pouvoir répondre au critère d'alarme n°1.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE PHENOL, A PARTIR DE L'ETUDE DE LA **FREQUENCE DES EOD**							
	1 $mg.l^{-1}$		2,2 $mg.l^{-1}$		4,4 $mg.l^{-1}$		6,8 $mg.l^{-1}$	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	35	-	-	-	4	-	-	-
2	-	-	-	-	4	-	4	92
3	-	-	8	-	4	18	4	90
4	-	-	17	-	5	-	6	92
5	6	-	6	27	5	-	5	92
6	3	-	-	-	-	9	4	90
7	5	-	6	39	5	-	6	91
8	-	-	6	-	5	-	4	-
Pourcentage de réponses positives	50 %		62,5 %		100 %		87,5 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition au phénol.

Tableau XIX : Temps de détection de différentes concentrations de phénol, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Considérons à présent **les temps de détection des différentes concentrations de phénol**. Tout normalement, ils **s'amenuisent au fur et à mesure que la quantité de phénol présente dans l'eau augmente**. Ainsi pour les aptéronotes qui répondent au critère d'alarme

n°1, des durées de contact poisson-polluant inférieures ou égales à 35, 17, 9 et 6 minutes sont suffisantes pour révéler la présence de 1, 2,2, 4,4 et 6,8 mg.l^{-1} de phénol respectivement. La variabilité intraspécifique des temps de détection - jamais très grande - s'amenuise encore lorsque les concentrations en phénol augmentent.

Dans tous les cas (hormis une seule exception pour le poisson n°6 à 4,4 mg.l^{-1}), l'alarme est déclenchée après franchissement de la limite inférieure, LI (*cf.* tableau XIX). Ceci rend compte de la **chute de fréquence des EOD qui se présente lors des intoxications au phénol**. Les courbes de la figure 26 en sont un bon exemple. Le tableau XIX montre qu'il se produit aussi de temps à autre **un second franchissement, celui de la limite supérieure**. Ceci est d'autant plus fréquent que les concentrations en phénol sont plus élevées.

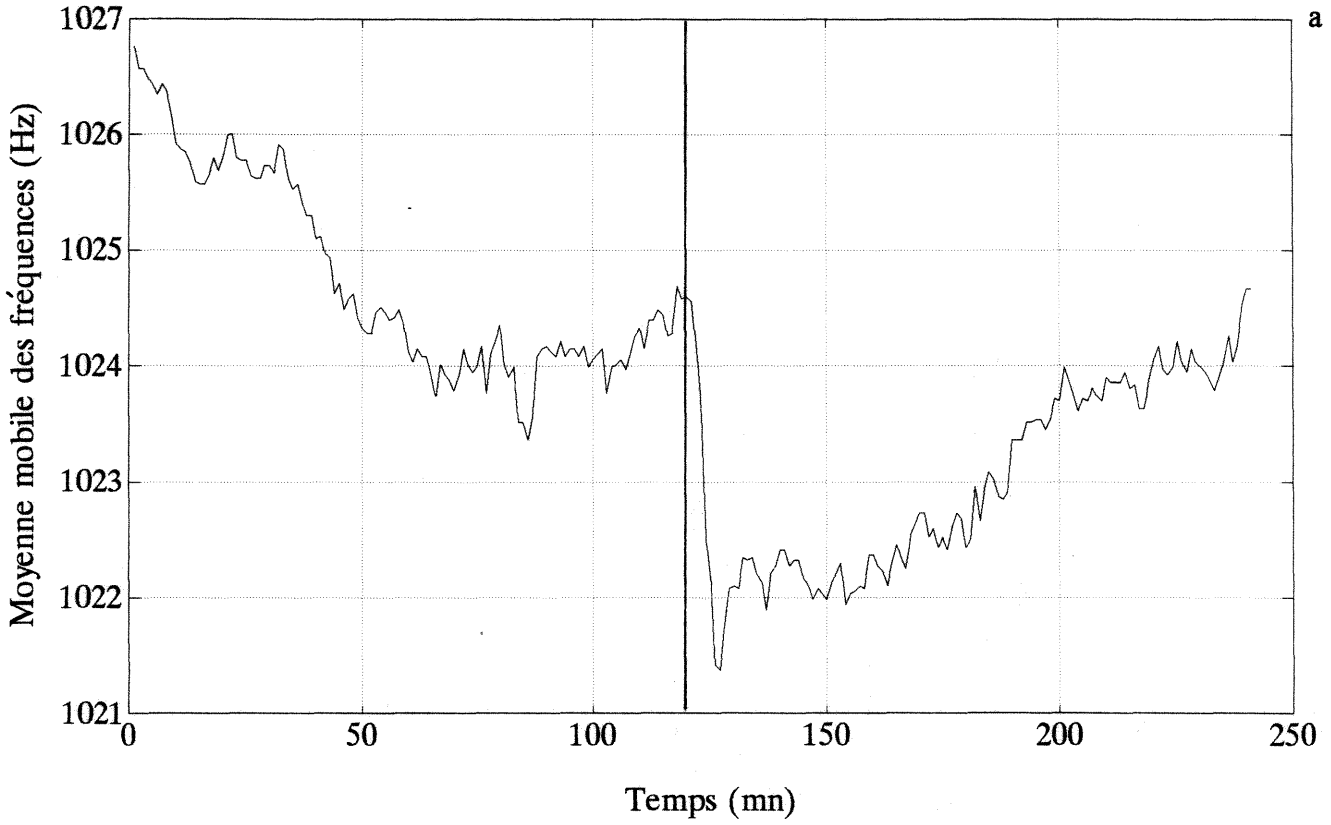
En réalité, la réponse développée par des poissons intoxiqués au phénol peut se décomposer en deux phases : nous enregistrons pour commencer une diminution du nombre d'impulsions émises par seconde, phénomène qui est suivi, d'une augmentation de la fréquence des EOD. Celle-ci intervient soit progressivement, soit brusquement. Dans le premier cas, la variation de pente est insuffisante pour entraîner le franchissement de LS (figure 26a), alors que dans le second cas, elle autorise l'apparition d'une seconde alarme (figure 26b).

Insistons à présent sur l'amplitude des réponses électriques enregistrées lors des divers essais toxicologiques. Comme on pouvait s'y attendre, le phénol provoque **des changements de fréquences d'autant plus marqués que ce polluant est présent en plus grande quantité**.

Pour illustrer cette remarque, comparons les enregistrements des figures 27 et 28. La première figure présente les variations temporelles des moyennes mobiles des fréquences des EOD émises par le poisson n°1, avant et après le déversement de 1 mg.l^{-1} de phénol. La seule considération visuelle d'un tel enregistrement nous conduirait sans aucun doute à conclure que ce poisson ne détecte pas la présence de phénol. Or une telle conclusion est erronée et c'est le traitement mathématique qui nous le prouve, avec le franchissement de LI après 35 minutes de contact poisson-polluant[6]. Au contraire, la figure 28 présente une diminution de plus de 4 Hz de la fréquence des EOD chez le poisson n°5 ; cette réponse, déjà discernable visuellement, est corroborée et précisée mathématiquement avec l'apparition d'une alarme 5 minutes après le déversement de 6,8 mg.l^{-1} de phénol.

---

[6] : C'est d'ailleurs tout l'intérêt du protocole de traitement et d'analyse des données que de démontrer mathématiquement ce qui n'est pas évident visuellement.



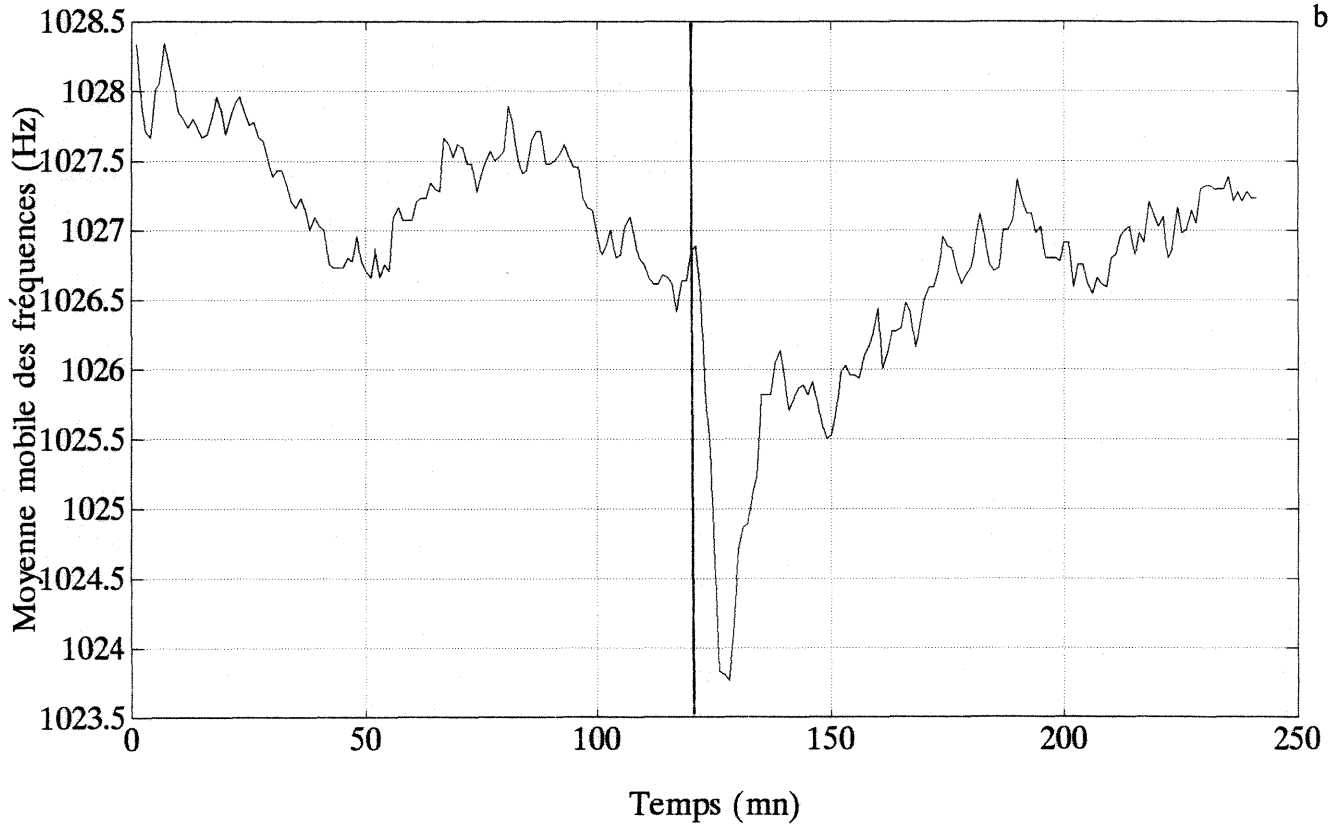


Figure 26 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 4,4 $mg.l^{-1}$ de phénol (120-240 mn). Enregistrement d'une baisse de fréquence, suivie d'un retour progressif (graphe a, poisson n°1, temps de détection : 4 mn) ou brutal (graphe b, poisson n°3, temps de détection : 4 mn) aux valeurs de pré-intoxication.

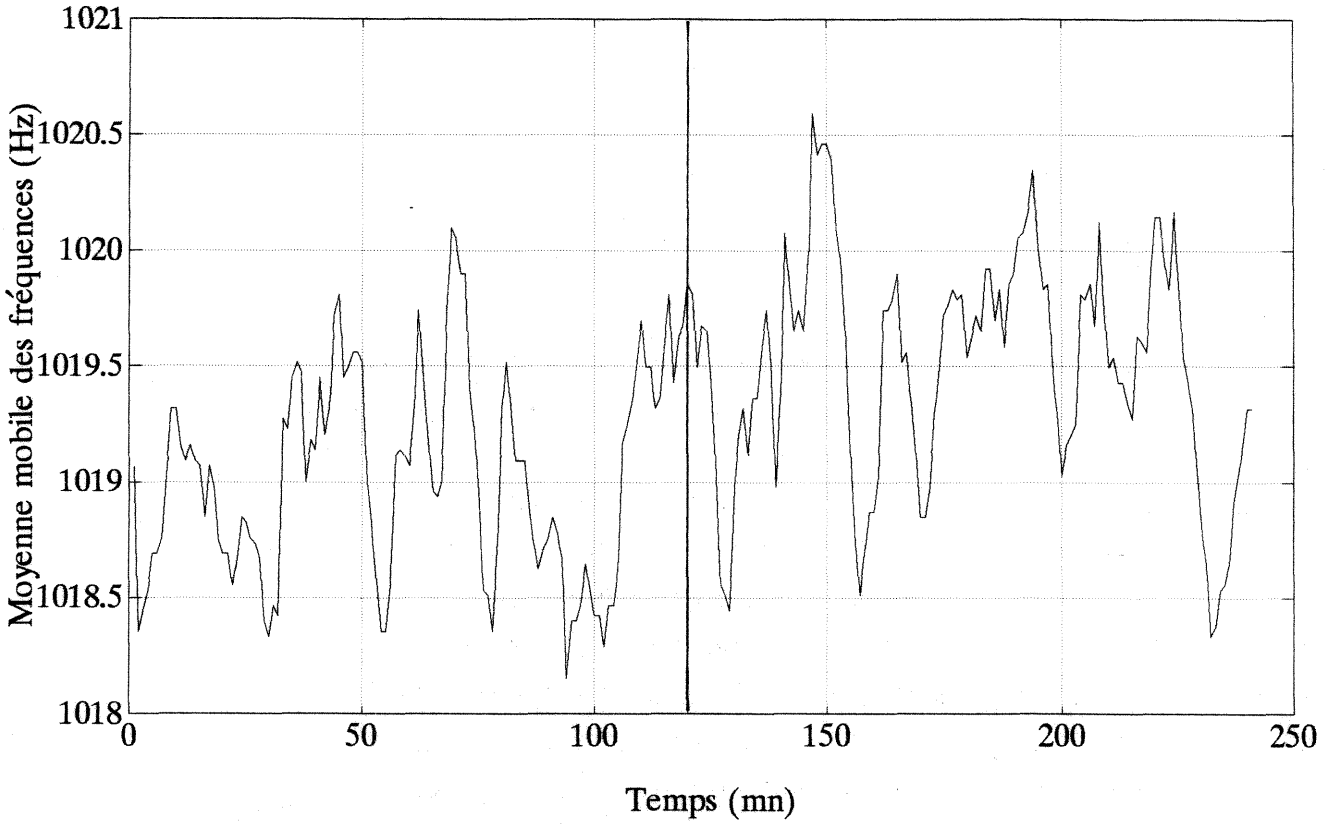


Figure 27 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 1 $mg.l^{-1}$ de phénol (120-240 mn), chez le poisson n°1 (temps de détection : 35 mn).

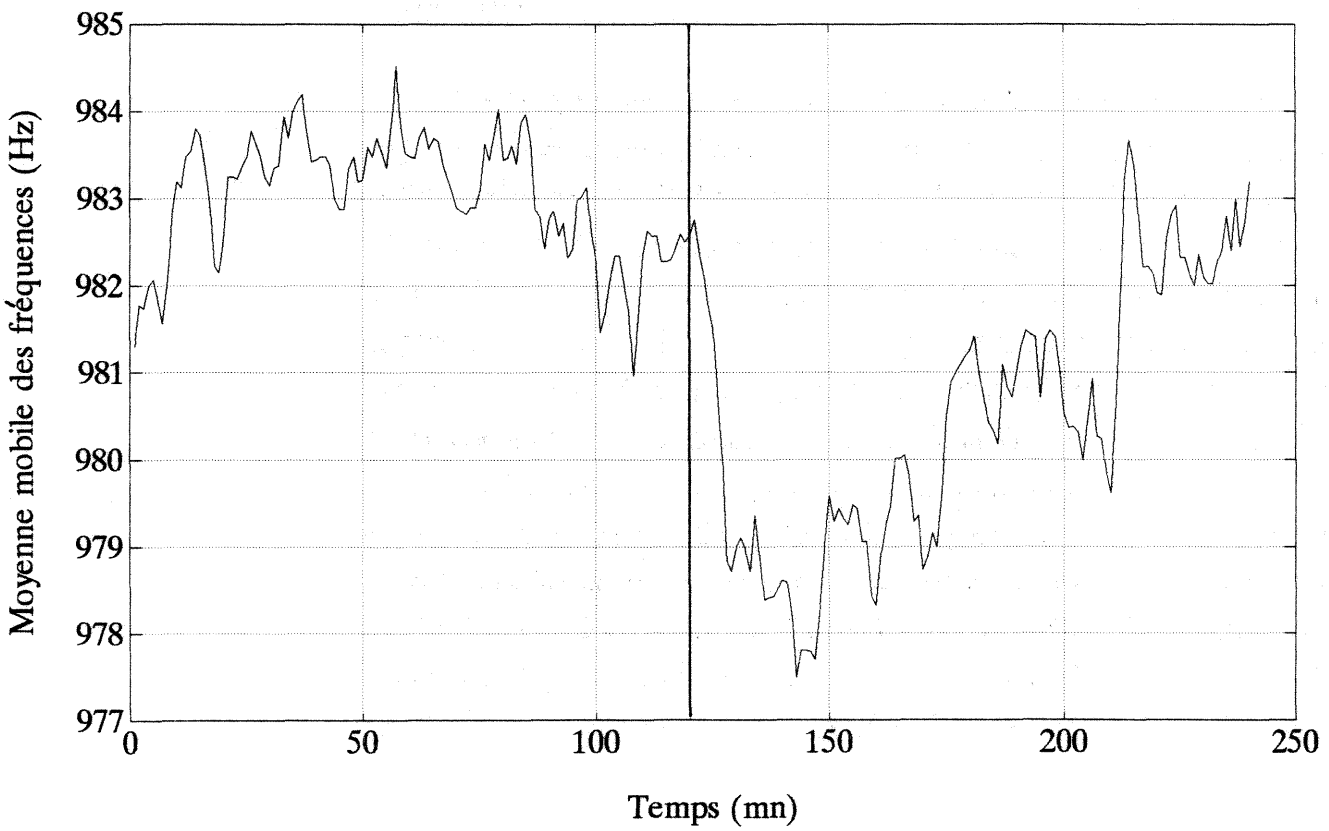


Figure 28 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol (120-240 mn), chez le poisson n°5 (temps de détection : 5 mn).

4.3.2.1.2. Forme des EOD

Les résultats de l'étude de la forme du signal ondulatoire émis par les aptéronotes lors des 4 intoxications au phénol sont donnés tableau XX. Celui-ci précise dans chaque cas (étude de H2, H3, H4 et H5) les temps de détection du phénol survenant après franchissement soit de la limite supérieure (LS'), soit de la limite inférieure (LI'). Le tableau XX présente également les pourcentages de poissons qui développent une réponse positive lors des différents essais toxicologiques.

On remarquera en premier lieu que **globalement peu de réponses sont enregistrées à partir de l'étude de cette seconde caractéristique électrique**. Cela apparaît très clairement lorsque nous considérons les pourcentages de poissons qui entraînent une réponse positive (*cf.* tableau XX) ; ils ne dépassent en effet jamais 50 %, quelle que soit la concentration en phénol. Aussi, à la différence de ce que permet la mesure de la fréquence des EOD, l'étude de la forme du signal ne donne-t-elle lieu à des réponses que chez un plus petit nombre de poissons. Une exception cependant : pour une concentration d'1 $mg.l^{-1}$ de phénol, les deux procédés exhibent la même performance : 50% des organismes répondent positivement. Mentionnons plus précisément que le nombre de réponses qui satisfait au critère d'alarme 1 décroît au fur et à mesure que nous étudions des harmoniques plus éloignés de la fondamentale.

Les temps nécessaires à la détection des différentes concentrations de phénol sont toujours supérieurs avec l'étude de la forme du signal qu'avec l'évaluation des variations de fréquence des EOD. Ils oscillent dans des gammes de (69-91 mn), (23-107 mn), (58-108 mn) et (10-111 mn), respectivement pour des concentrations de 1, 2,2, 4,4 et 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol. Le détail de ces résultats est présenté dans le tableau XX, qui montre aussi que l'apparition des alarmes intervient surtout après franchissement de la limite supérieure, LS'. Un exemple représentatif est donné figure 29, avec l'enregistrement d'une augmentation du rapport H2, consécutive au déversement de 1 $mg.l^{-1}$ de phénol. Il est parfois possible d'enregistrer une diminution des rapports des amplitudes des harmoniques, après déversement de phénol. Ce cas plus rare est illustré sur la figure 30. Enfin toujours au chapitre des variations temporelles des rapports des harmoniques, relevons une réponse originale développée par le poisson n°5, consécutive à un déversement de 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol (voir figure 31). Dans ce cas particulier, le rapport H2, qui était relativement stable durant la phase de standardisation, évolue singulièrement en présentant une succession d'augmentations et de diminutions.

	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE PHENOL A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FORME DES **EOD**							
①	**HARMONIQUE 2**							
N° des	1 mg.l^{-1}		2,2 mg.l^{-1}		4,4 mg.l^{-1}		6,8 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	23	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	88	-	-	-	-	-	111
4	-	-	-	49	-	103	-	-
5	-	-	-	-	-	108	-	10
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	13
8	-	90	-	-	-	-	-	-
②	**HARMONIQUE 3**							
N° des	1 mg.l^{-1}		2,2 mg.l^{-1}		4,4 mg.l^{-1}		6,8 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	62	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	81
4	69	-	107	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	18	-	-	-	-	99
8	-	-	-	81	-	-	-	-
③	**HARMONIQUE 4**							
N° des	1 mg.l^{-1}		2,2 mg.l^{-1}		4,4 mg.l^{-1}		6,8 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	42	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	54	-	-	-	-
5	-	87	-	-	-	-	-	19
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
④	**HARMONIQUE 5**							
N° des	1 mg.l^{-1}		2,2 mg.l^{-1}		4,4 mg.l^{-1}		6,8 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	91	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	58	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
Pourcentage de réponses positives *	50 %		50 %		37,5 %		37,5 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition au cyanure de potassium.
* : Au terme des 2 heures d'intoxication et toutes harmoniques confondus.

Tableau XX : Temps de détection de différentes concentrations de phénol, à partir de l'étude de la forme des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI'), soit de la limite supérieure (LS'), soit des deux.
Pourcentage de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

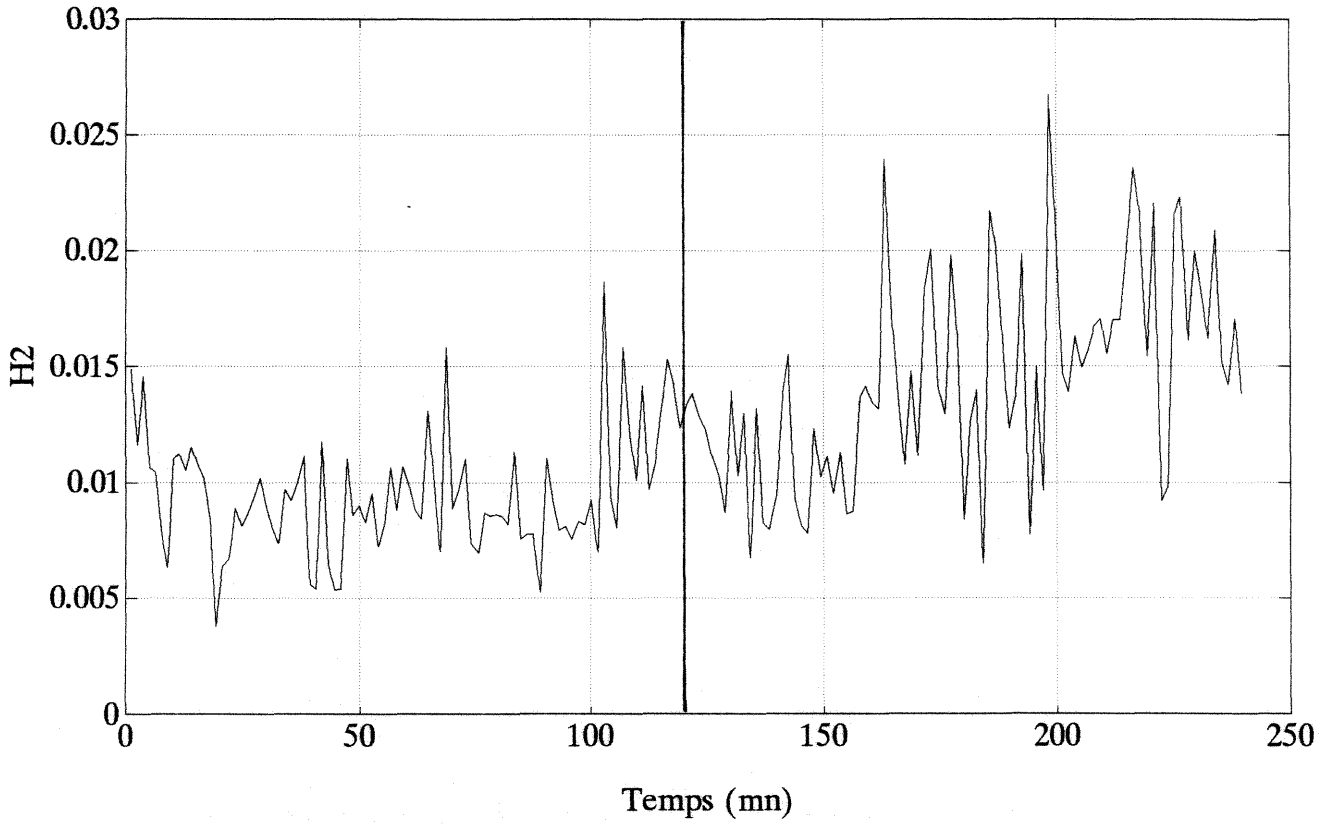


Figure 29 : Variation temporelle du rapport H2 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 1 mg.l^{-1} de phénol (120-240 mn), chez le poisson n°8 (temps de détection : 90 mn).

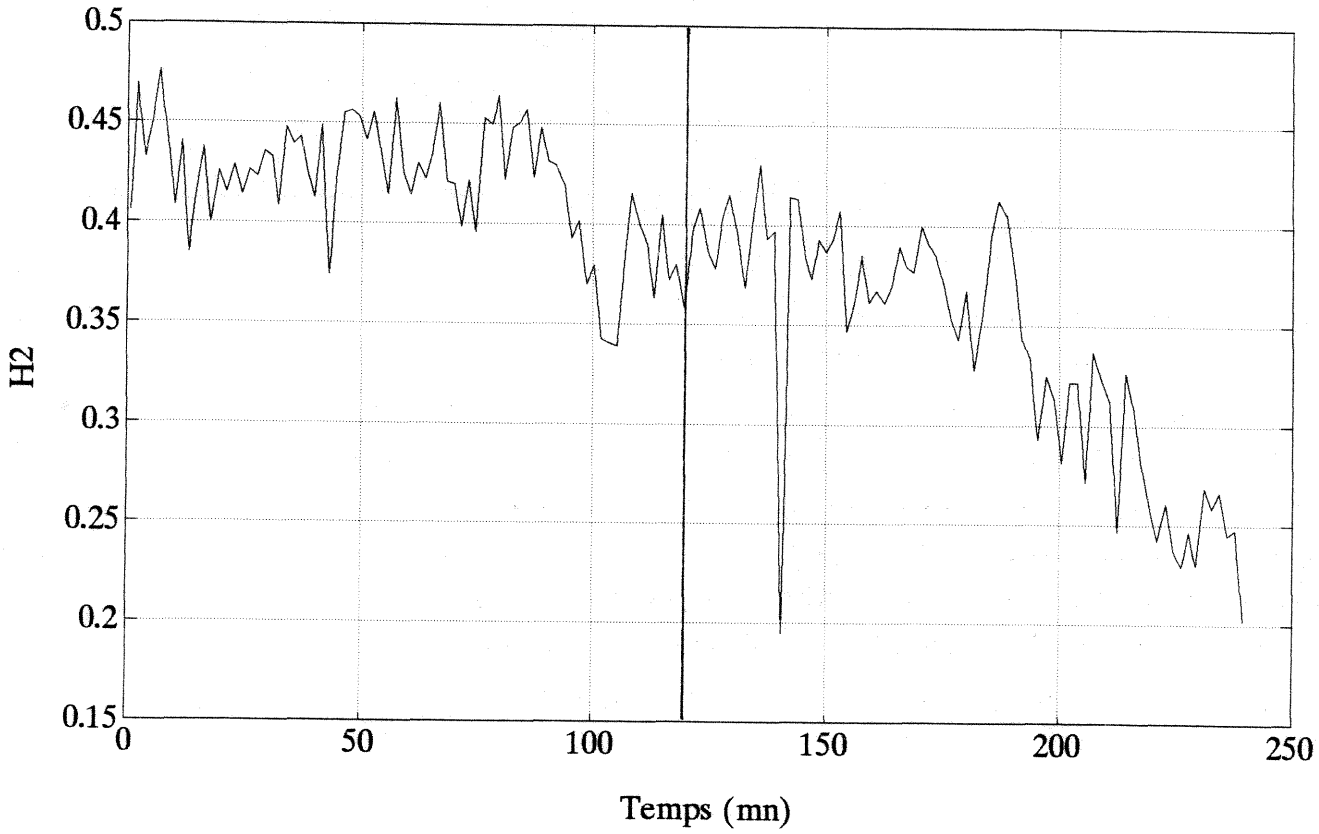


Figure 30 : Variation temporelle du rapport H2 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 2,2 mg.l^{-1} de phénol (120-240 mn), chez le poisson n°1 (temps de détection : 23 mn).

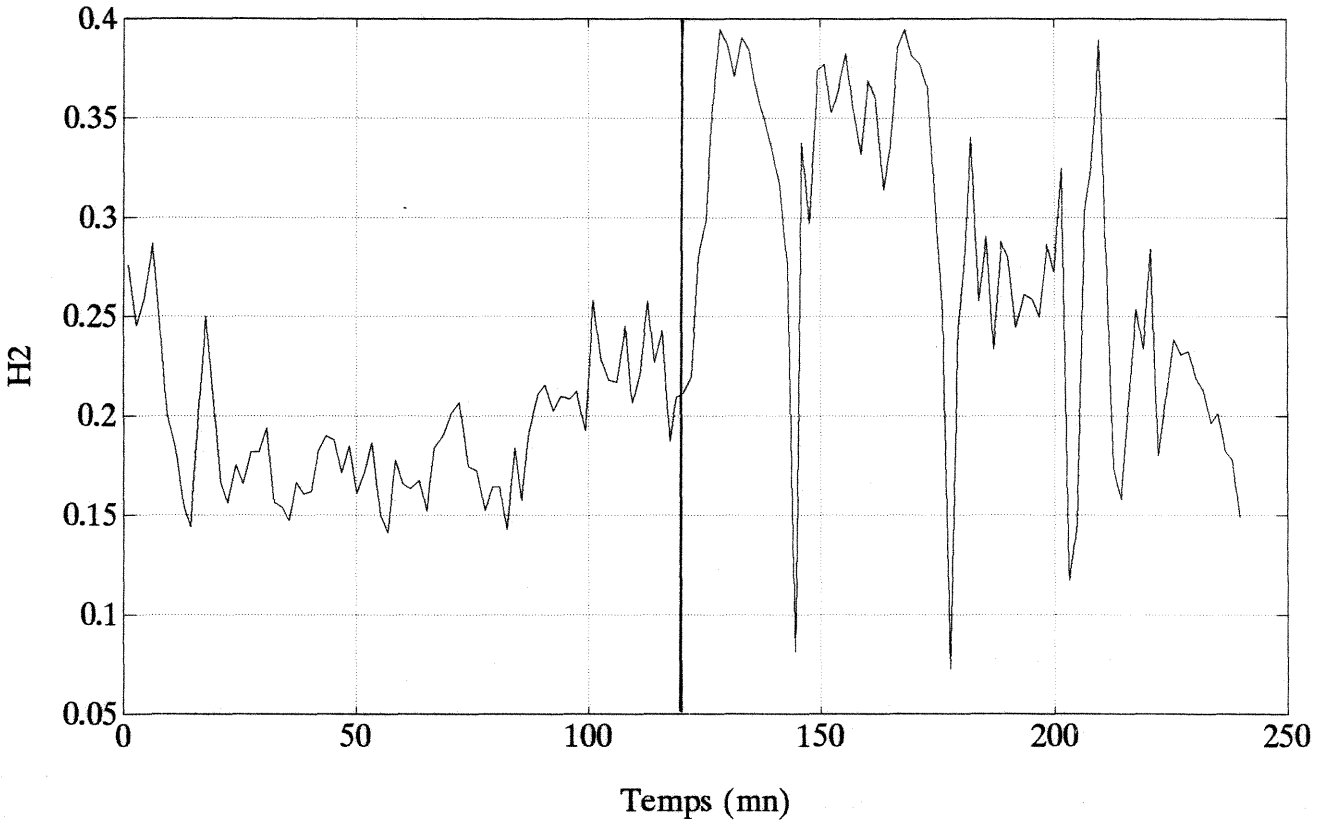


Figure 31 : Variation temporelle du rapport H2 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 6,8 mg.l^{-1} de phénol (120-240 mn), chez le poisson n°5 (temps de détection : 10 mn).

4.3.2.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Si l'on se réfère maintenant au second critère d'alarme, il est nécessaire alors de recueillir au moins 50 % de réponses positives. Les résultats sont présentés dans le tableau XXI. Avec l'étude de la fréquence des EOD, des concentrations de phénol de 1, 2,2, 4,4 et 6,8 mg.l^{-1} sont respectivement détectées au terme de 35, 8, 5 et 4 minutes d'exposition. Par contre, la considération de la forme du signal n'autorise cette évaluation que dans 50 % des cas. En effet, comme nous le soulignions précédemment, l'étude de cette seconde caractéristique électrique ne donne lieu qu'à peu de réponse. Ainsi à 4,4 et 6,8 mg.l^{-1} de phénol, seuls 37,5 % de poissons détectent la présence du toxique selon le critère d'alarme 1. Ceci est par conséquent insuffisant pour satisfaire au critère d'alarme 2, qui exige un pourcentage de réponses positives au moins égal à 50 %. Par contre, ce dernier critère est tout juste atteint lors des intoxications avec 1 et 2,2 mg.l^{-1} de phénol et des temps de contact poisson-polluant de 90 et 81 minutes respectivement sont alors nécessaires pour une détection.

Concentrations en phénol ($mg.l^{-1}$)	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS		
	Fréquence des EOD	Forme des EOD	Fréquence et/ou forme des EOD
1	35	90	35
2,2	8	81	8
4,4	5	-*	5
6,8	4	-*	4

* : 37,5 % des poissons seulement détectent la concentration de phénol, à partir de l'étude de la forme des EOD.

Tableau XXI : Temps de détection de différentes concentrations de phénol, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude soit de la fréquence des EOD, soit de la forme des EOD, soit de ces deux caractéristiques combinées.

A l'évidence, **une pollution par le phénol est révélée plus tardivement avec l'étude de la forme du signal qu'avec une appréciation des variations de fréquence des EOD délivrées par *A. albifrons*.** L'analyse des réponses selon les critères d'alarme 1 et 2 l'illustre clairement.

Les résultats de l'évaluation concomitante des deux caractéristiques électriques, fréquence et/ou forme des EOD, sont également rapportés dans le tableau XXI. Manifestement, **l'étude simultanée des 2 caractéristiques électriques n'apporte aucun avantage par rapport à la seule considération des variations de fréquence des EOD**. En effet, cette voie d'exploitation - qui consiste en réalité à retenir pour chaque poisson et à chaque intoxication le meilleur résultat - revient directement à reporter les temps de détection du phénol enregistrés à partir de la seule étude des variations de fréquence des décharges électriques. Néanmoins, l'évaluation concomitante des 2 caractéristiques électriques est parfois un avantage lorsque nous considérons les pourcentages de poissons qui développent une réponse positive (*cf.* tableau XXII). C'est le cas avec 1 et 2,2 $mg.l^{-1}$ de phénol, deux concentrations qui entraînent une réaction positive respectivement chez 87,5 % et 75 % des organismes.

CONCENTRATIONS EN PHENOL ($mg.l^{-1}$)	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES
1	87,5
2,2	75
4,4	100
6,8	87,5

Tableau XXII : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes concentrations de phénol.

4.3.3. Performances de détection de l'atrazine

Des échantillons prélevés toutes les 15 minutes ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse. Les valeurs des concentrations nominales et mesurées de l'atrazine sont présentées tableau XXIII. Pour une même expérience, cette méthode de dosage offre des résultats très disparates ; l'examen des écart-types souligne cette dispersion. D'autre part, les variations de la quantité d'atrazine évoluent très irrégulièrement dans le temps. La mauvaise reproductibilité des résultats ainsi recueillis est probablement imputable à la méthode de dosage, actuellement en révision[7]. Compte tenu de ces remarques, nous avons choisi de présenter **les résultats à partir des valeurs des concentrations nominales**, tout en gardant à l'esprit les gammes de variations que les analyses révèlent.

Concentrations nominales ($\mu g.l^{-1}$)	Concentrations mesurées ($\mu g.l^{-1}$)			
	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
50	34,5	8,3	24	46
100	125,2	51,4	41	188
250	281,7	54,0	199	347
500	483,6	31,9	439	512

Tableau XXIII : Valeurs des concentrations nominales d'une part et mesurées par chromatographie d'autre part, de l'atrazine au cours des 4 expériences.

Attention ... n'oublions pas que c'est de l'ATRAPHYT EL qui a été utilisé pour ces tests (*cf.* page 105, pour davantage de précisions).

4.3.3.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.3.1.1. Fréquence des EOD

Le tableau XXIV présente les résultats enregistrés à partir de l'étude de la fréquence des EOD des aptéronotes intoxiqués à différentes concentrations d'atrazine. En général, **plus la concentration en herbicide est forte, plus le nombre de poissons qui répondent au critère d'alarme 1 est grand**. En effet, si aucun poisson ne détecte la concentration de 50 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine, nous recueillons en revanche 50 % de réponses aux concentrations de 100 et 250 $\mu g.l^{-1}$ et un pourcentage de 75 % avec une quantité d'atrazine voisine de 500 $\mu g.l^{-1}$. La considération de ces pourcentages prouve à nouveau que des poissons issus d'un même lot, soumis à de mêmes conditions toxicologiques, ne possèdent pas tous une même sensibilité. Ce

[7] : L'analyse des échantillons s'est faite selon la norme expérimentale AFNOR T90-121. Le statut de norme expérimentale a été choisi afin de prendre en compte ultérieurement les travaux engagés au sein de l'ISO/TC 147 "Qualité de l'eau". Une seconde norme basée sur une méthode d'extraction solide-liquide est en cours d'élaboration au sein de la commission française T91M.

problème de variabilité intraspécifique se présente également lorsque nous considérons les temps de détection.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'ATRAZINE, A PARTIR DE L'ETUDE DE LA **FREQUENCE DES EOD**							
	50 µg.l^{-1}		100 µg.l^{-1}		250 µg.l^{-1}		500 µg.l^{-1}	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	-	-	99	-	4	-	-	-
2	-	-	-	-	5	-	46	-
3	-	-	91	-	-	-	12	104
4	-	-	69	-	-	23	16	-
5	-	-	-	97	-	-	14	-
6	-	-	-	-	-	68	16	-
7	-	-	-	-	-	-	58	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
Pourcentage de réponses positives	0 %		50 %		50 %		75 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition à l'atrazine.

Tableau XXIV : Temps de détection de différentes concentrations d'atrazine, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Ainsi, une concentration de 100 µg.l^{-1} d'atrazine est détectée par 50 % des poissons, comme nous venons de le voir, dans une gamme de temps qui est comprise entre 69 et 99 minutes. Des concentrations d'atrazine de 250 et 500 µg.l^{-1} sont respectivement détectées dans des gammes de temps de 4 à 68 minutes d'une part et de 12 à 58 minutes d'autre part. A ce propos, soulignons la rapidité de la détection de 250 µg.l^{-1} par les poissons n°1 et 2, qui répondent au critère d'alarme 1 en 4 et 5 minutes respectivement. Ce résultat est étonnant compte tenu qu'une plus forte intoxication ne permet jamais d'enregistrer une réponse aussi rapidement.

Généralement, chez *Apteronotus albifrons*, **un déversement d'atrazine dans l'eau se manifeste électriquement par une baisse de la fréquence des EOD**. Celle-ci n'est pas toujours suffisante pour répondre au critère d'alarme 1, comme l'illustrent les figures 32 et 33. Au contraire, les figures 34 et 35 présentent les réponses de poissons chez lesquels nous notons un franchissement significatif de LI. La chute de fréquence qui se présente à 250 µg.l^{-1} est temporaire. Les poissons retrouvent en effet plus ou moins vite leur niveau de fréquence de pré-intoxication, phénomène qui ne se présente plus lors d'une forte intoxication. Enfin il arrive que les poissons répondent à la présence de l'herbicide par une augmentation de leur fréquence de décharges. Ce cas plus rare est enregistré chez le poisson n°5 intoxiqué par 100 µg.l^{-1} d'atrazine et les poissons n°4 et 6 pour la concentration nominale de 250 µg.l^{-1}.

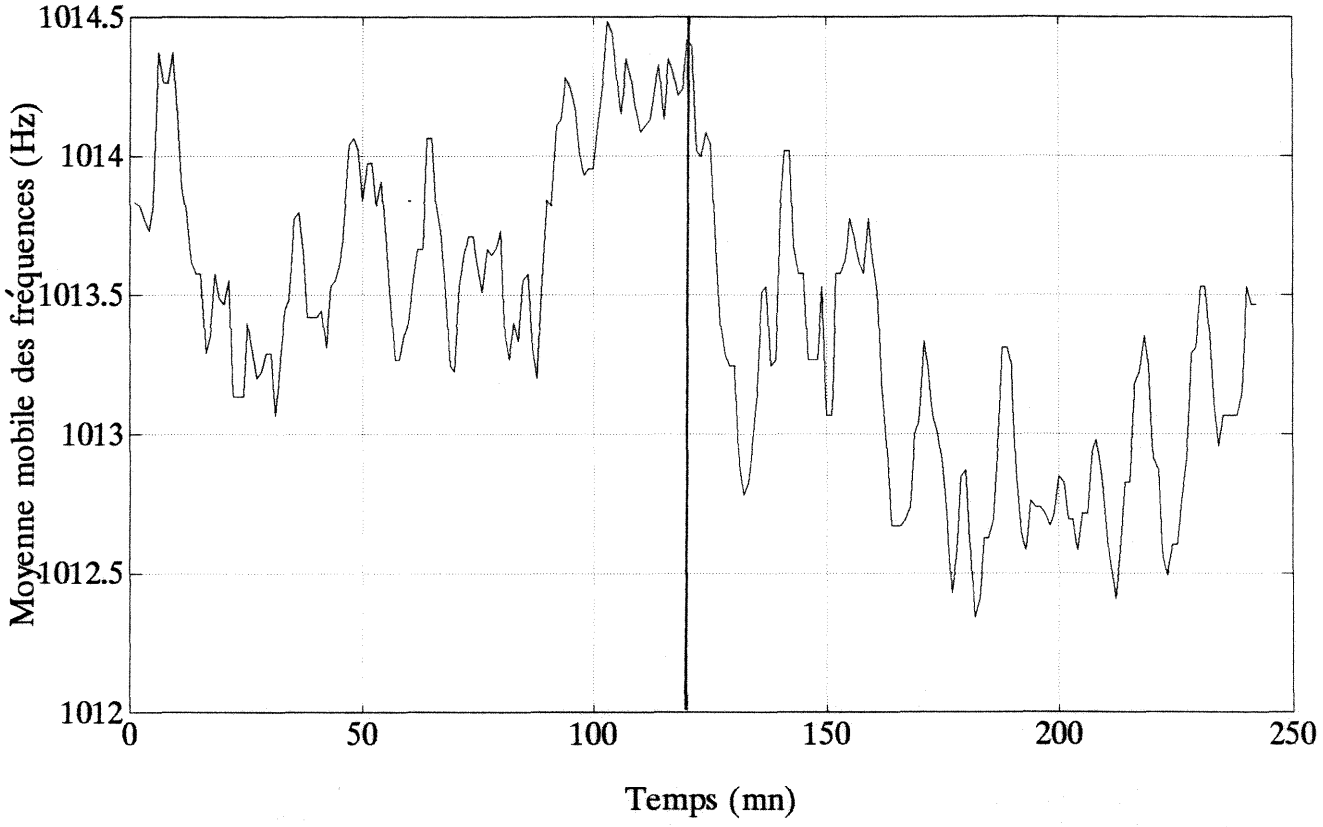


Figure 32 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 50 µg.l^{-1} d'atrazine (120-240 mn), chez le poisson n°8 (détection nulle).

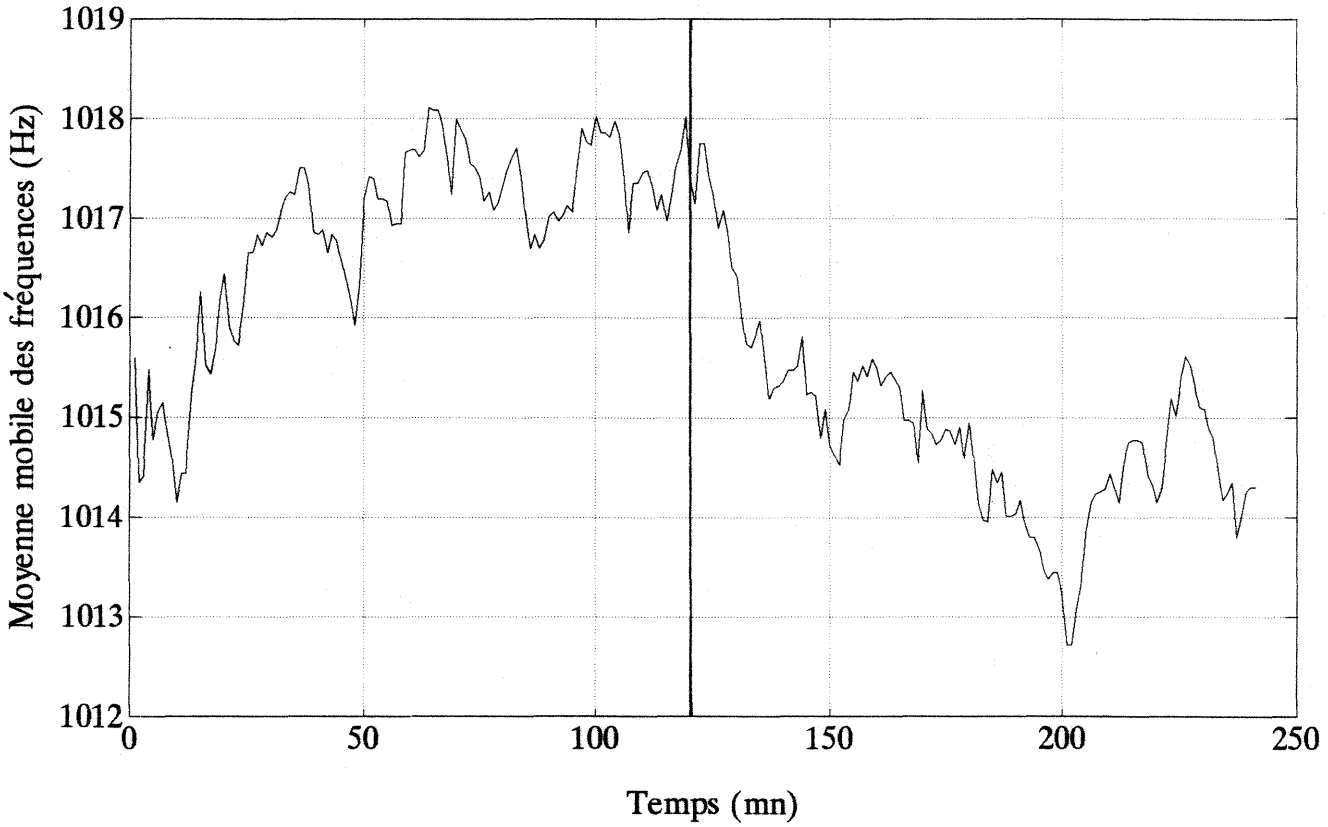
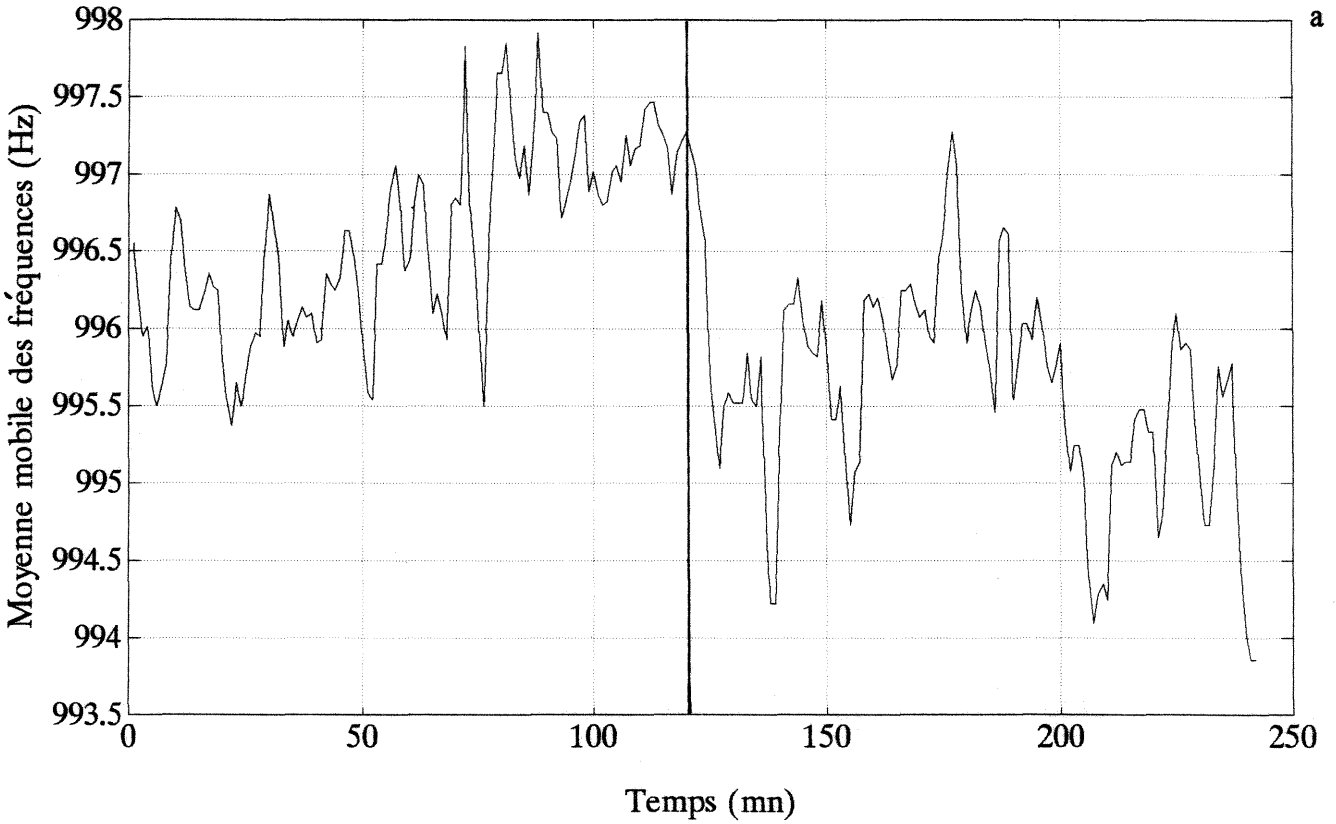


Figure 33 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 500 µg.l^{-1} d'atrazine (120-240 mn), chez le poisson n°8 (détection nulle).



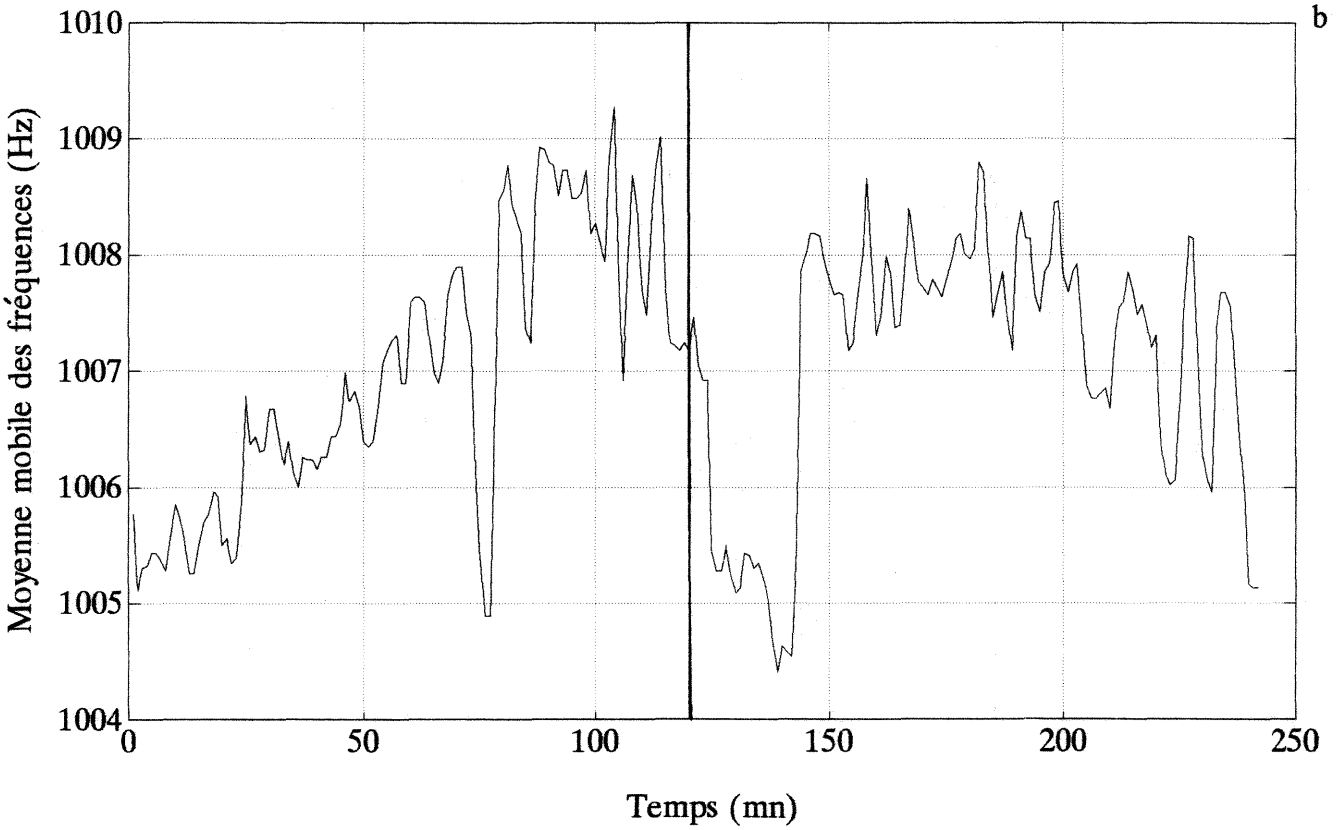
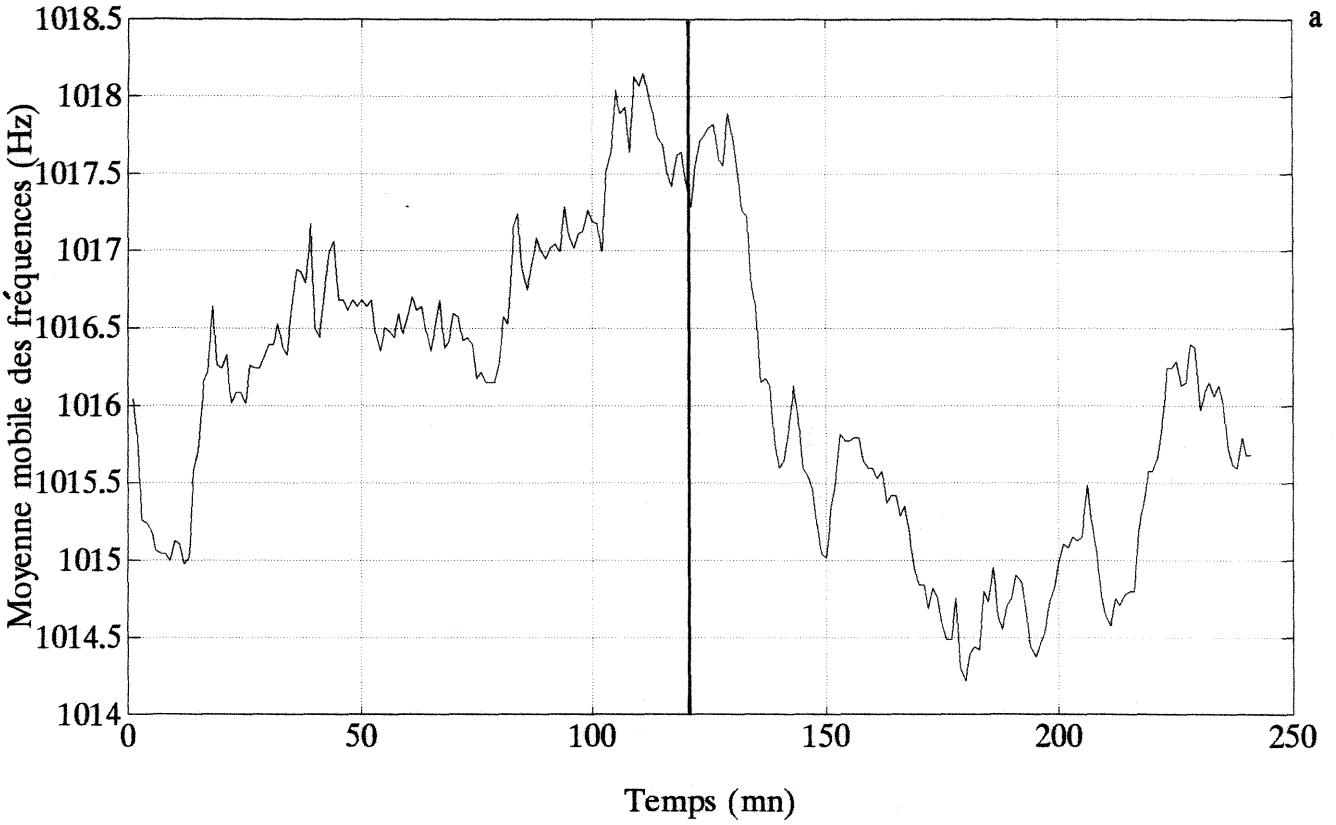


Figure 34 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 250 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine (120-240 mn), chez les poissons n°1 (graphe a, temps de détection : 4 mn) et n°4 (graphe b, temps de détection : 23 mn).



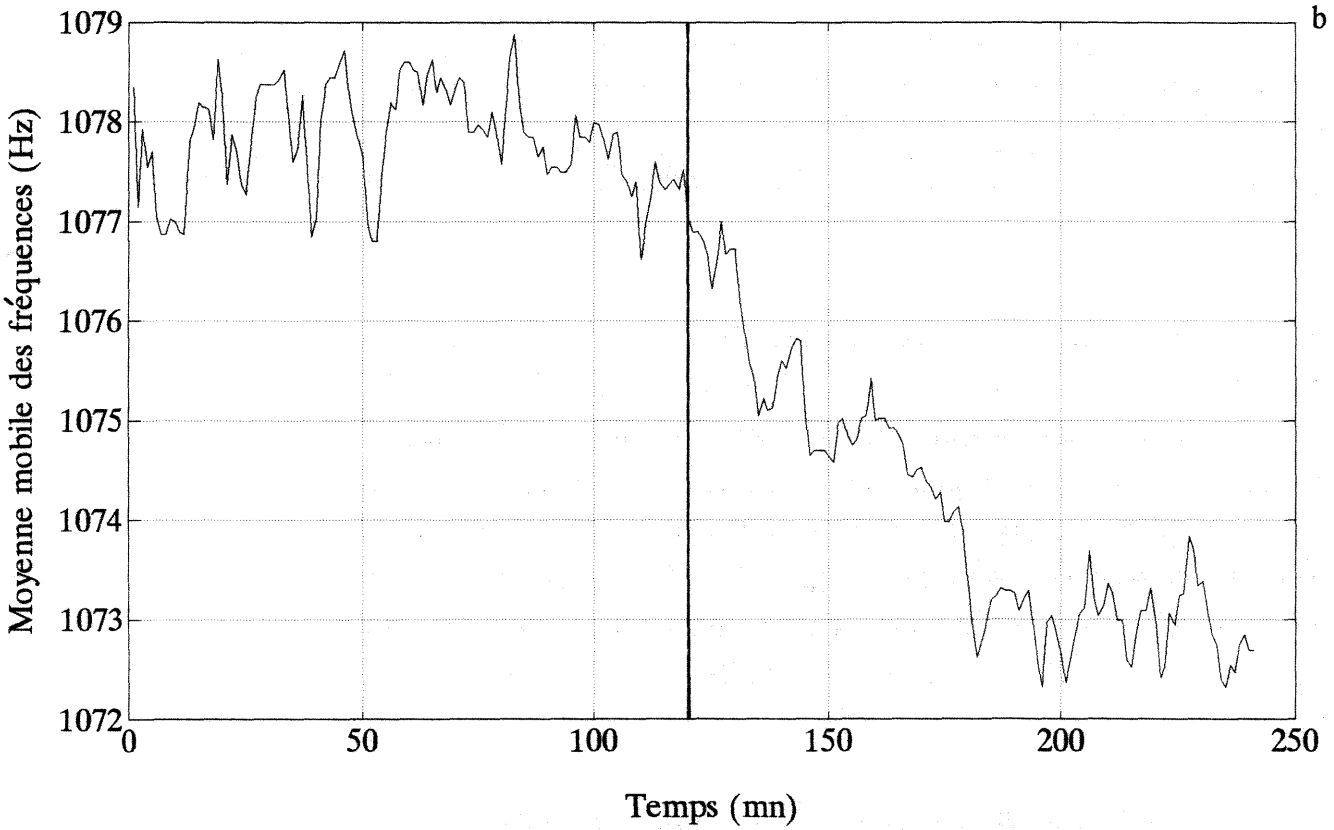


Figure 35 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine (120-240 mn), chez les poissons n°6 (graphe a, temps de détection : 16 mn) et n°7 (graphe b, temps de détection : 58 mn).

4.3.3.1.2. Forme des EOD

Les temps de détection des 4 concentrations d'atrazine testées, enregistrés à partir de l'étude de la forme des EOD, sont détaillés tableau XXV. Une présentation des pourcentages de réponses positives lors des différents essais toxicologiques est également donnée dans ce tableau.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'ATRAZINE A PARTIR DE L'ETUDE DE LA **FORME DES EOD**							
	50 µg.l^{-1}		100 µg.l^{-1}		250 µg.l^{-1}		500 µg.l^{-1}	
	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	30^{a}
3	-	-	47^{b}	47^{d}	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	18^{a}/49^{b}	-
5	105^{a}/68^{b}	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	51^{a}	72^{a}/86^{b}	-	-	-
8	-	-	81^{a}	-	-	-	41^{a}	55^{b}
Pourcentage de réponses positives	12,5 %		37,5 %		12,5		37,5 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition à l'atrazine.
a : Réponse avec H2 ; b : Réponse avec H3 ; c : Réponse avec H4 ; d : Réponse avec H5.

Tableau XXV : Temps de détection de différentes concentrations d'atrazine, à partir de l'étude de la forme des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI'), soit de la limite supérieure (LS'), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Comme nous avons déjà pu le constater lors d'intoxications précédentes, **seul un petit nombre de réponses est recueilli à partir de l'étude de cette seconde caractéristique électrique**. En effet, quelle que soit la concentration considérée, nous ne dépassons jamais plus de 37,5 % de poissons qui détectent une pollution de l'eau par de l'atrazine. Plus en détail, il y a chaque fois un poisson qui détecte 50 et 250 µg.l^{-1} d'atrazine et 3 poissons lorsque ces concentrations sont de 100 et 500 µg.l^{-1}. Le petit nombre de réponses explique que l'ensemble des résultats soit consigné dans un tableau unique, qui précise tout de même à partir de quel(s) rapport(s) (H2, H3, H4 ou H5) la détection de l'herbicide intervient.

Nous constatons alors que c'est principalement l'étude des variations temporelles de H2 et H3 qui permet de recueillir les réponses positives. En effet, la considération du rapport H4,

lors des 4 essais toxicologiques, ne permet jamais d'identifier une situation d'alarme, tandis que l'évaluation de H5 permet d'enregistrer une seule réponse positive (chez le poisson n°3 à 100 $\mu g.l^{-1}$). Cependant, il est intéressant de noter que **ce ne sont pas forcément les poissons qui ont développé une réponse positive dans l'étude de la fréquence des EOD, qui répondent en termes de forme du signal**.

Intéressons nous à présent aux **temps de détection**. Plusieurs éventualités se présentent alors, comme celle de recueillir des réponses plus précoces avec la seconde qu'avec la première caractéristique électrique. C'est le cas des poissons n°3 et 2 qui détectent en 47 et 30 minutes des concentrations de 100 et 500 $\mu g.l^{-1}$, respectivement. Un tel cas s'observe aussi avec l'étude de l'harmonique 3 chez le poisson n°5 intoxiqué par 50 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine. Cette concentration est détectée en 68 minutes, alors qu'il fallait 105 minutes avec l'étude de la première caractéristique électrique. On note d'ailleurs que c'est ce même temps de détection qui est obtenu par l'étude de H2.

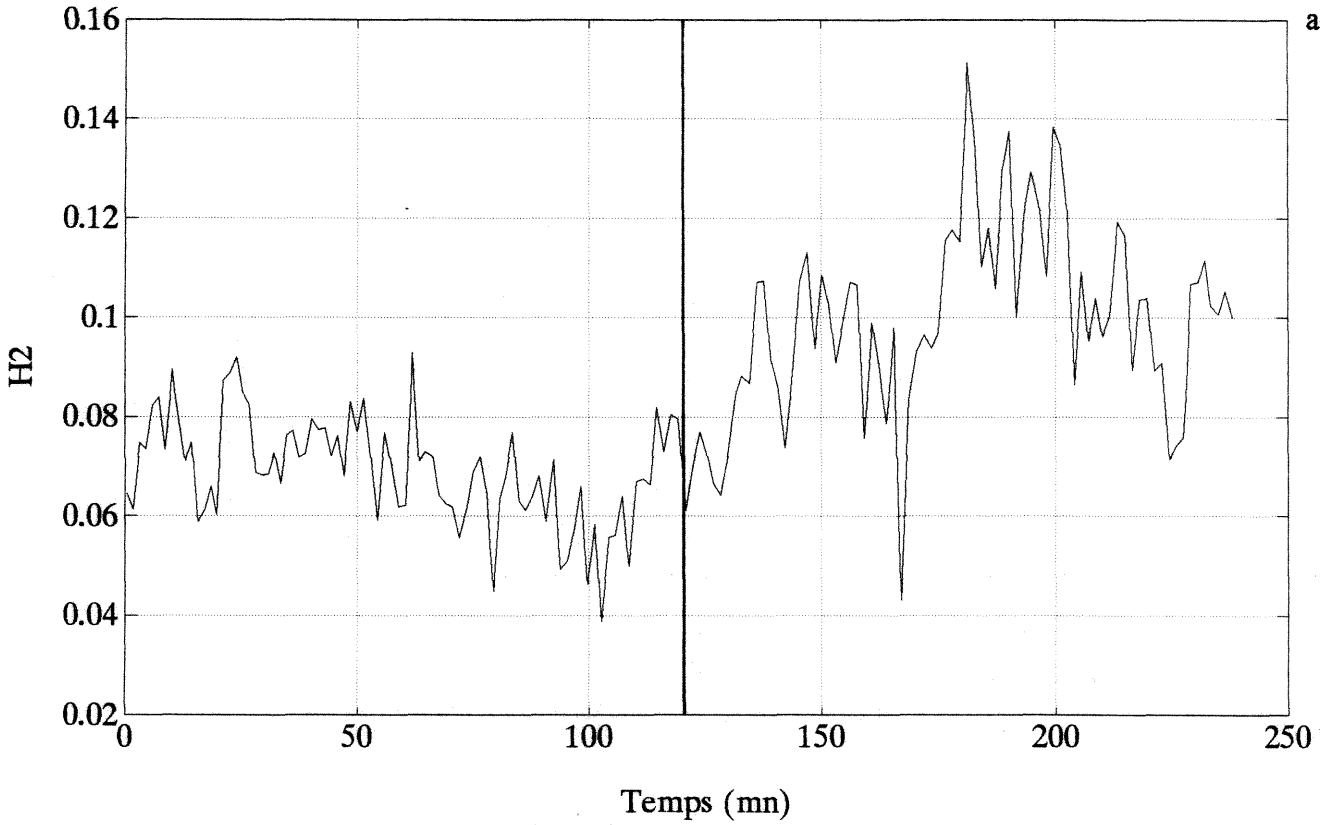
Parfois au contraire, il arrive que la détection d'atrazine se fasse plus tardivement lorsque nous étudions la forme plutôt que la fréquence des EOD. Un exemple nous est donné avec la réponse du poisson n°4 à 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine.

Enfin la dernière éventualité est que des poissons répondent par une modification de la forme du signal, sans qu'on ait pu atteindre le premier critère d'alarme avec l'étude de la fréquence. C'est le cas des poissons n°7 et 8 à 100 $\mu g.l^{-1}$, ou encore d'un autre poisson n°8 à 500 $\mu g.l^{-1}$. La détection intervient alors globalement dans la gamme de temps obtenue avec la première caractéristique électrique, sauf pour le poisson n°7 qui répond à la présence de 100 $\mu g.l^{-1}$ en 51 minutes, de façon légèrement plus précoce.

La figure 36 présente deux enregistrements typiques des variations temporelles des rapports H2 et H3. Nous retiendrons à ce propos que **les réponses sont généralement de faible amplitude**.

4.3.3.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Les réponses bioélectriques ne sont plus ici considérées individuellement mais globalement, et il est nécessaire, pour atteindre le niveau d'alarme 2, d'avoir au moins 50 % des poissons qui répondent au critère d'alarme 1. Les résultats enregistrés à partir de cette approche sont donnés tableau XXVI.



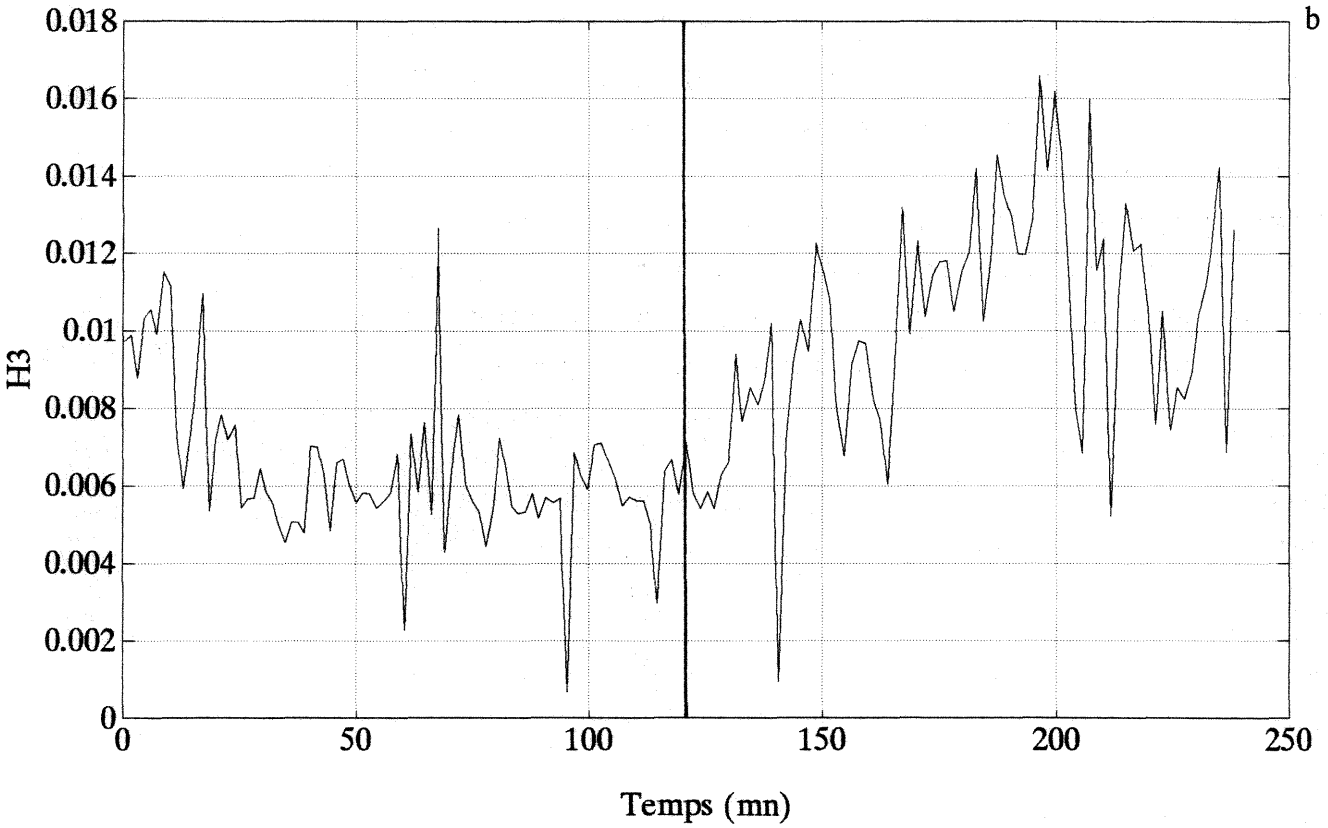


Figure 36 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0 à 120 mn) et d'intoxication à 500 µg.l^{-1} d'atrazine (120 à 240 mn), des rapports H2 (graphe a, poisson n°2, temps de détection : 30 mn) et H3 (graphe b, poisson n°8, temps de détection : 41 mn).

Concentrations en atrazine ($\mu g.l^{-1}$)	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS		
	Fréquence des EOD	Forme des EOD	Fréquence et/ou forme des EOD
50	-	-	-
100	99	-	81
250	68	-	68
500	16	-	16

- : Moins de 50 % des poissons détectent la présence d'atrazine dans l'eau.

Tableau XXVI : Temps de détection de différentes concentrations d'atrazine, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude soit de la fréquence des EOD, soit de la forme des EOD, soit de ces deux caractéristiques combinées.

L'étude de la fréquence des EOD permet alors de **révéler des concentrations de 100, 250 et 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine, respectivement en 99, 68 et 16 minutes**. En revanche, la concentration de 50 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine n'entraîne pas un niveau de réponse suffisant pour satisfaire à ce critère d'alarme. Une remarque identique peut aussi être formulée à propos de l'étude de la forme du signal, quelles que soient les concentrations d'atrazine. En effet, jamais plus de 37,5 % des poissons ne répondent en ce cas à une pollution par cet herbicide.

Compte tenu du petit nombre de réponses relevées avec l'étude de la forme du signal, il n'est guère étonnant de constater que **l'étude combinée de la fréquence et/ou de la forme des EOD (selon le meilleur des deux cas) consiste essentiellement à reporter les temps de détection relevés avec la seule considération de la fréquence**. Seule à 100 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine, l'application du critère d'alarme 2 à l'analyse concomitante des deux caractéristiques électriques permet une détection de l'atrazine en 81 minutes, soit un temps inférieur à celui obtenu avec l'étude de l'une ou l'autre des deux réponses considérées.

Mais l'étude simultanée des deux caractéristiques électriques, si elle n'est généralement pas avantageuse en termes de temps de détection, a le mérite malgré tout de mettre en cause un plus grand nombre de poissons. Ainsi **des concentrations d'atrazine de 50, 100, 250 et 500 $\mu g.l^{-1}$ provoquent des réponses respectivement chez 12,5, 75, 62,5 et 87,5 % des poissons** (*cf.* tableau XXVII).

CONCENTRATIONS EN ATRAZINE ($\mu g.l^{-1}$)	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES
50	12,5
100	75
250	62,5
500	87,5

Tableau XXVII : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes concentrations d'atrazine.

4.3.4. Performances de détection du trichloroéthylène

Comme précédemment, des échantillons d'eau sont prélevés en sortie des bacs de contention, toutes les 15 minutes une fois le déversement de trichloroéthylène effectué. Les résultats des analyses sont reportés dans le tableau XXVIII. Nous constatons qu'il existe une bonne correspondance entre les deux types de concentrations, nominales et mesurées. Aussi retiendrons-nous dans les discussions ultérieures, les valeurs de 0,6, 1 et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. Soulignons aussi la bonne reproductibilité des résultats de l'analyse de cette substance entre les prélèvements successifs.

Concentrations nominales $mg.l^{-1}$	0,6	1	2
Concentrations mesurées $mg.l^{-1}$	0,62 (0,13)	1,1 (0,2)	2,03 (0,1)

Tableau XXVIII : Valeurs des concentrations nominales d'une part et mesurées par chromatographie d'autre part, du trichloroéthylène au cours de 3 intoxications. Les valeurs des concentrations mesurées correspondent à une moyenne calculée à partir de prélèvements effectués tous les quarts d'heure. Les nombres entre parenthèses correspondent à l'écart-type.

4.3.4.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.4.1.1. Fréquence des EOD

Les résultats de l'analyse des variations temporelles de la fréquence des EOD des aptéronotes, lors d'une intoxication au trichloroéthylène, sont présentés dans le tableau XXIX. **La plus petite concentration testée, à savoir 0,6 $mg.l^{-1}$, entraîne une réponse chez 50 % des poissons testés**, alors qu'à des concentrations plus élevées (1 et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène), nous enregistrons 75 % de réponses positives.

Les temps nécessaires au déclenchement de l'alarme sont assez variables d'un individu à l'autre, en particulier aux concentrations de 0,6 et 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. En effet, des intervalles de temps de 17 à 104 minutes d'une part et de 3 à 97 minutes d'autre part sont nécessaires pour révéler respectivement la présence de 0,6 $mg.l^{-1}$ et 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. **Cette dispersion des temps de réponses s'atténue lorsque la concentration du solvant atteint 2 $mg.l^{-1}$**. Les 75 % de réponses positives apparaissent alors 6 à 15 minutes après le déversement de la substance dans l'eau.

La présence de trichloroéthylène dans l'eau se répercute sur le signal bioélectrique du poisson, généralement par une baisse de la fréquence de ses EOD,

(figures 37 et 38), plus rarement par une augmentation de la fréquence (figure 39). Par ailleurs, les variations de la fréquence des EOD sont d'autant plus marquées que les concentrations en solvant sont plus élevées.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE TRICHLOROETHYLENE, A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FREQUENCE DES EOD					
	0,6 mg.l^{-1}		1 mg.l^{-1}		2 mg.l^{-1}	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	-	69	-	3	6	85
2	-	104	-	-	7	-
3	-	-	7	-	7	-
4	-	-	11	-	-	-
5	-	-	88	-	15	-
6	17	-	-	-	-	-
7	18	-	97	-	10	-
8	-	-	97	79	9	-
Pourcentage de réponses positives	50 %		75 %		75 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition au trichloroéthylène.

Tableau XXIX : Temps de détection de différentes concentrations de trichloroéthylène, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

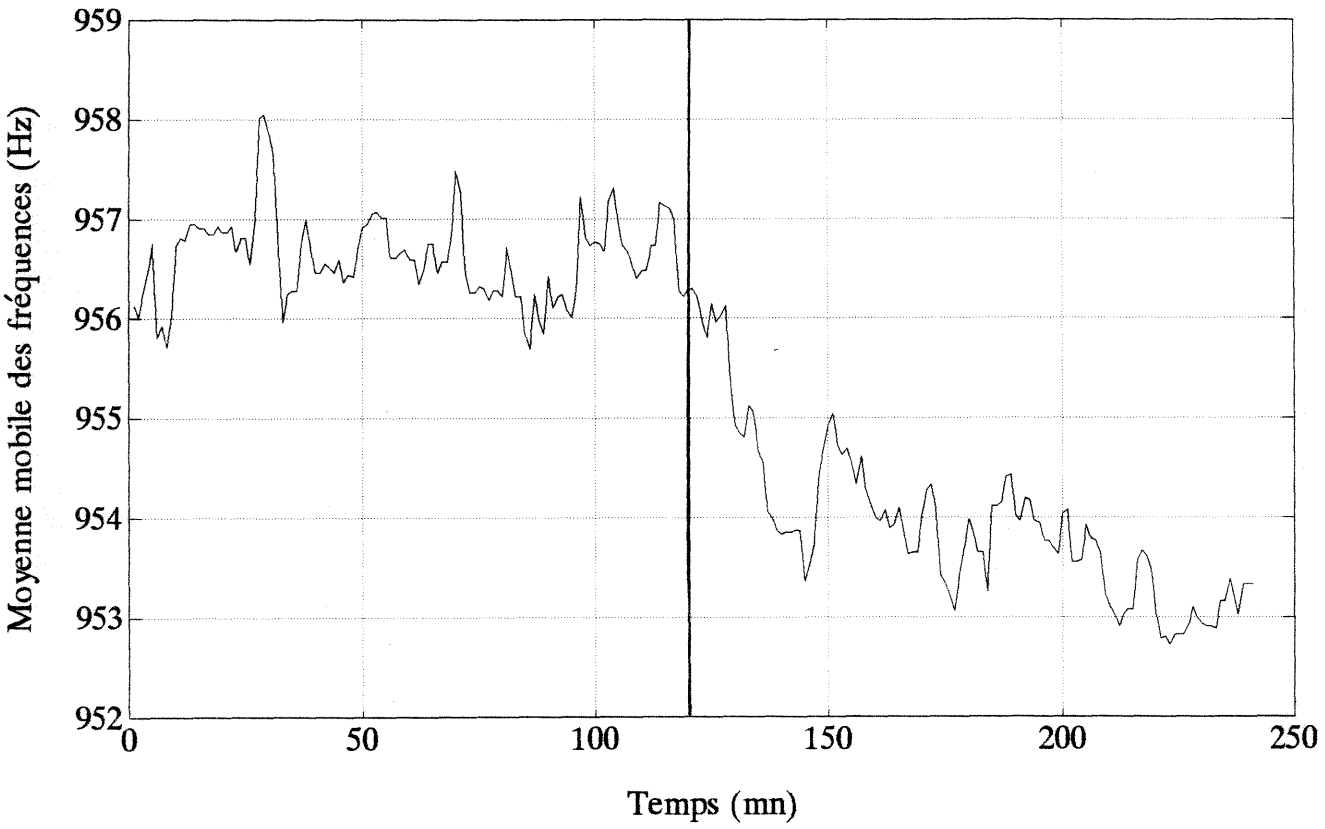


Figure 37 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 0,6 mg.l^{-1} de trichloroéthylène (120-240 mn), chez le poisson n°7 (temps de détection : 18 mn).

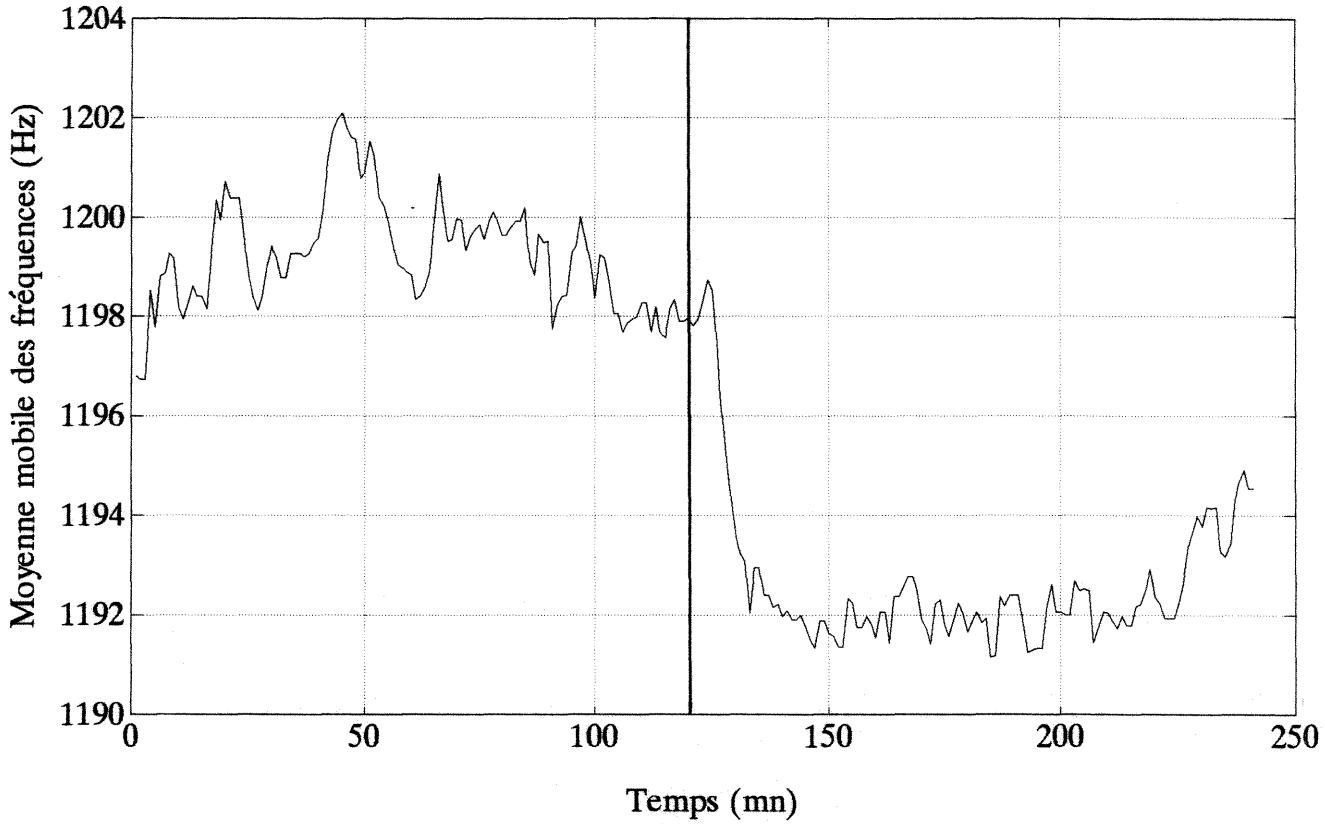


Figure 38 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 2 mg.l^{-1} de trichloroéthylène (120-240 mn), chez le poisson n°3 (temps de détection : 7 mn).

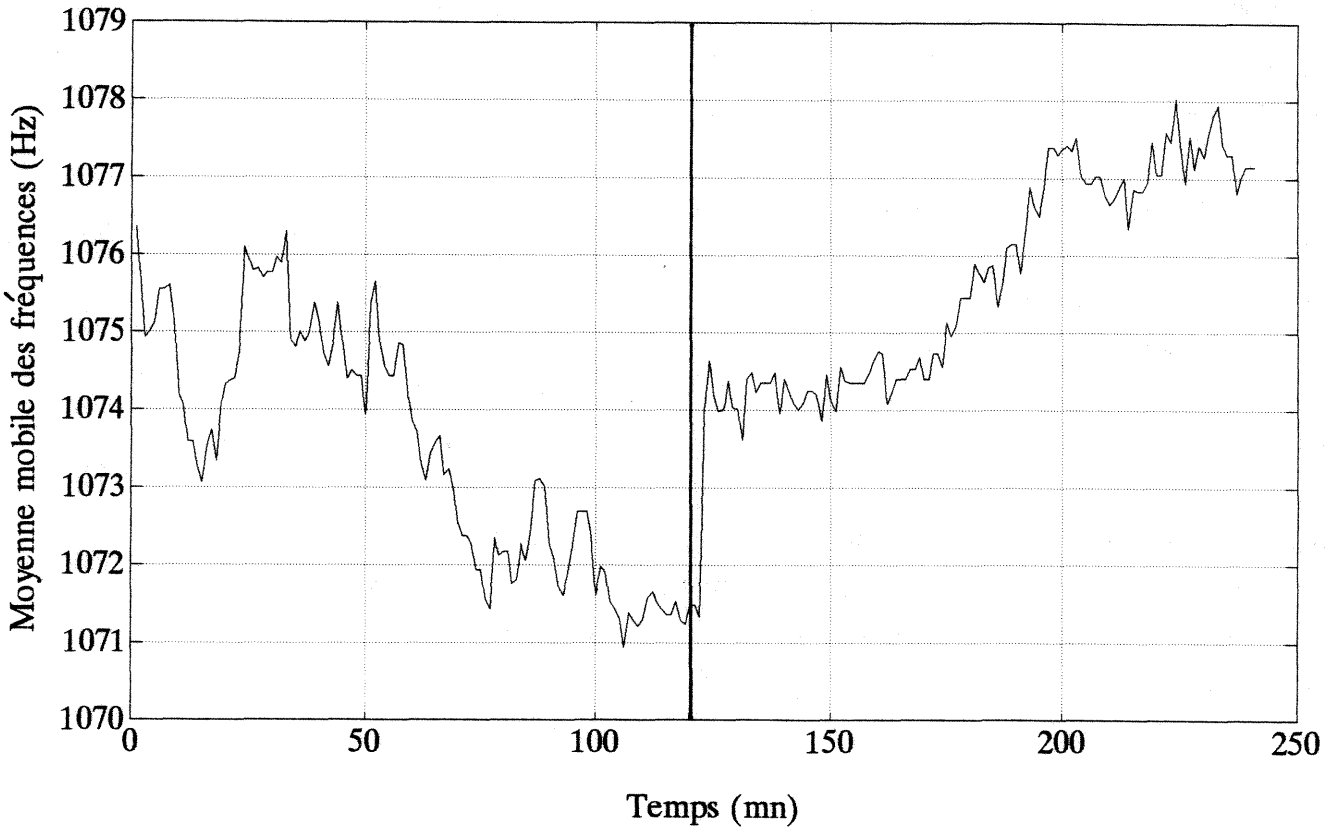


Figure 39 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 1 mg.l^{-1} de trichloroéthylène (120-240 mn), chez le poisson n°1 (temps de détection : 3 mn).

4.3.4.1.2. Forme des EOD

Les temps de détection de 3 concentrations de trichloroéthylène, à partir de l'étude de la forme du signal des aptéronotes, sont présentés dans le tableau XXX. Nous nous intéressons pour cela aux variations temporelles des rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale, désignés respectivement par H2, H3, H4 et H5. Ce tableau précise si la réponse a été enregistrée après franchissement soit de la limite supérieure (LS'), soit de la limite inférieure (LI') ; il donne, autrement dit, une information sur le sens de la réponse. Une précision sur les pourcentages de poissons qui développent une réponse positive est aussi apportée dans ce tableau.

Globalement, des intoxications au trichloroéthylène ne provoquent que peu de réponses, si l'on considère la forme du signal. Ceci est d'autant plus vrai que nous étudions des harmoniques éloignés de la fondamentale, toutes concentrations confondues. En effet, nous enregistrons 5 réponses avec l'étude de H2, 4 réponses avec H3, 2 réponses avec H4 et seulement une réponse avec H5.

L'examen détaillé des résultats montre que 0,6 $mg.l^{-1}$ et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène entraînent une réponse chez 25 % des poissons, alors qu'à 1 $mg.l^{-1}$, 50 % des organismes détectent la présence du solvant dans l'eau. Aussi retiendrons-nous que **le nombre d'aptéronotes qui développent une réponse positive est toujours moindre si nous considérons la forme des EOD plutôt que la fréquence des décharges électriques**.

Intéressons-nous à présent aux temps de détection des différentes concentrations de trichloroéthylène. Ils sont très variables, en particulier aux concentrations de 0,6 et 2 $mg.l^{-1}$. Des gammes de temps de (16-114 mn), (20-84 mn) et (16-111 mn) sont nécessaires aux poissons pour parvenir à révéler la présence respectivement de 0,6, 1 et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. Ces observations sont tirées de l'analyse du tableau XXX, qui indique également le sens de la réponse.

Mais l'étude de l'influence du trichloroéthylène sur la forme du signal ne permet pas de dire si l'intoxication conduit davantage à une baisse ou au contraire à une élévation des rapports, résultat attendu compte tenu du petit nombre de réponses enregistrées. Nous notons que la probabilité d'apparition de l'une ou l'autre de ces deux éventualités (*cf.* figures 40 et 41) est du même ordre.

	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE TRICHLOROETHYLENE A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FORME DES EOD					
①	HARMONIQUE 2					
N° des	0,6 mg.l^{-1}		1 mg.l^{-1}		2 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	20	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	111
6	114	-	-	-	-	-
7	-	16	84	-	-	-
8	-	-	84	-	-	-
②	HARMONIQUE 3					
N° des	0,6 mg.l^{-1}		1 mg.l^{-1}		2 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	25	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	71	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	23	-	-
8	-	-	-	-	-	16
③	HARMONIQUE 4					
N° des	0,6 mg.l^{-1}		1 mg.l^{-1}		2 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	72	-	-	-	-	-
8	-	-	-	32	-	-
④	HARMONIQUE 5					
N° des	0,6 mg.l^{-1}		1 mg.l^{-1}		2 mg.l^{-1}	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	24	-	82	-	-
8	-	-	-	-	-	-
Pourcentage de réponses positives*	25 %		50 %		25 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition au trichloroéthylène.
* : Au terme des 2 heures d'intoxication et toutes harmoniques confondus.

Tableau XXX : Temps de détection (en minutes) de différentes concentrations de trichloroéthylène, à partir de l'étude de la forme des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI'), soit de la limite supérieure (LS'), soit des deux.
Pourcentage de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

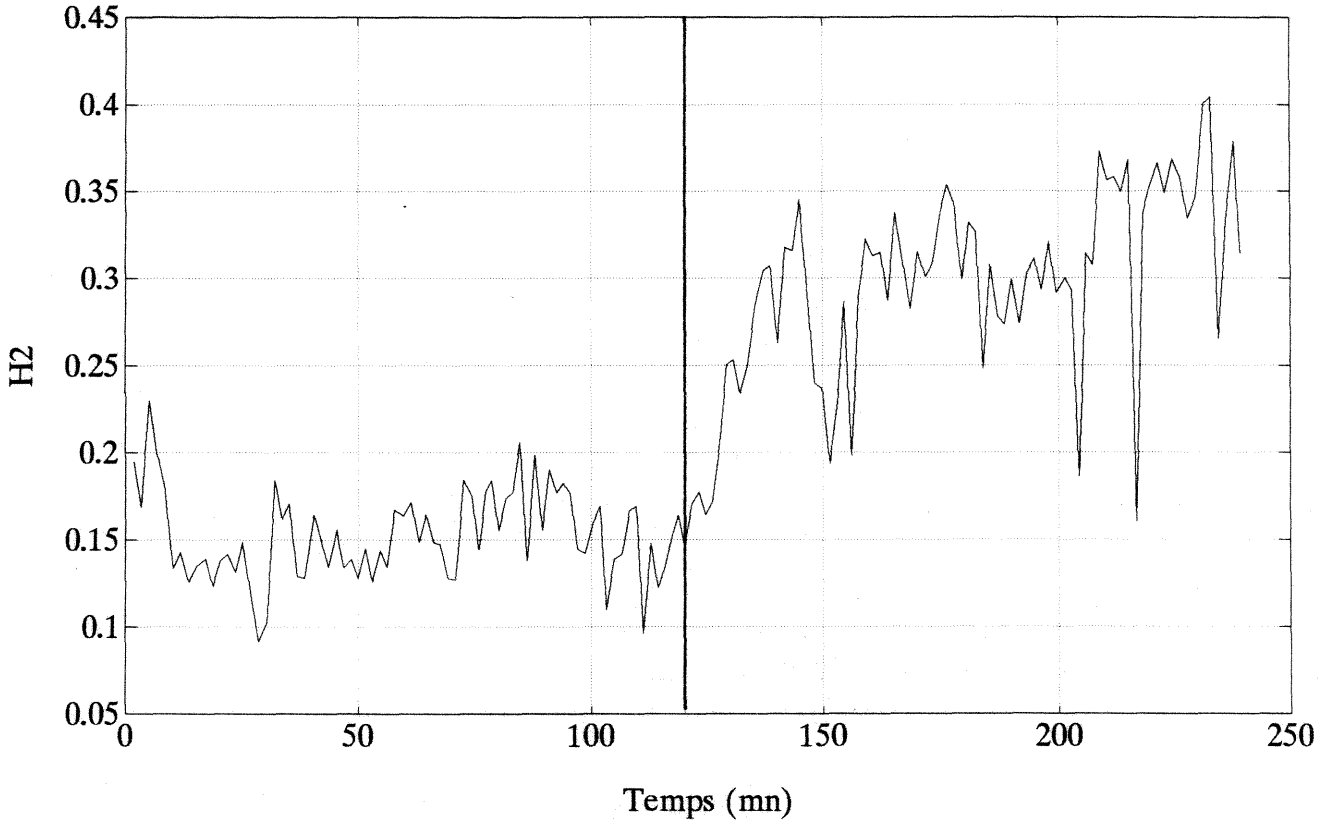


Figure 40 : Variation temporelle du rapport H2, durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 0,6 mg.l^{-1} de trichloroéthylène (120-240 mn), chez le poisson n°7 (temps de détection : 16 mn).

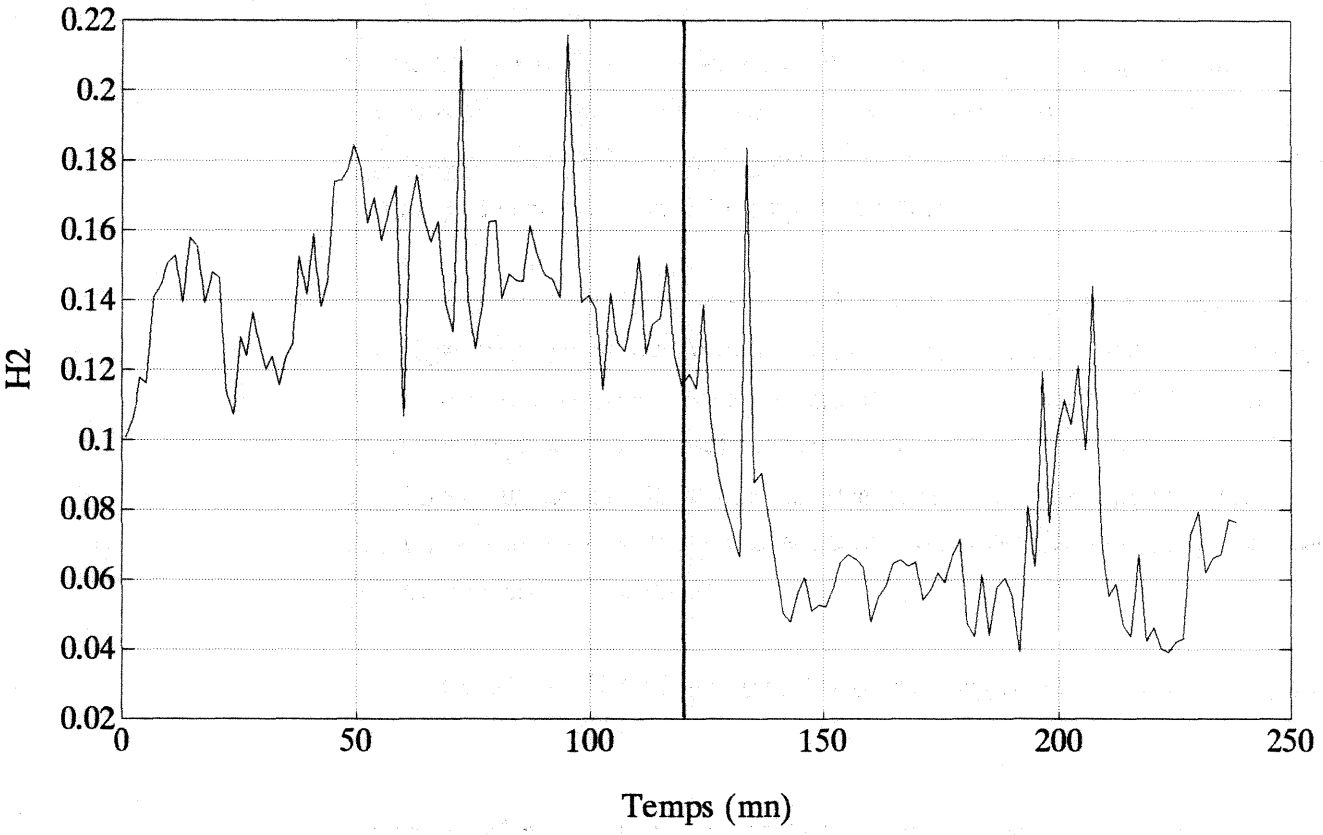


Figure 41 : Variation temporelle du rapport H2 durant les phases de standardisation (0 à 120 mn) et d'intoxication à 1 mg.l^{-1} de trichloroéthylène (120-240 mn), chez le poisson n°2 (temps de détection : 20 mn).

4.3.4.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Les performances de détection du trichloroéthylène selon ce second critère sont présentées dans le tableau XXXI.

Concentrations en trichloroéthylène ($mg.l^{-1}$)	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS		
	Fréquence des EOD	Forme des EOD	Fréquence et/ou forme des EOD
0,6	104	-*	104
1	79	71	20
2	9	-*	9

* : Deux poissons sur 8 répondent seulement.

Tableau XXXI : Temps de détection de différentes concentrations de trichloroéthylène, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude soit de la fréquence des EOD, soit de la forme des EOD, soit de ces deux caractéristiques combinées.

Pour qu'au moins 50 % des poissons exhibent une réponse positive à partir de l'étude de la fréquence des EOD, il est nécessaire d'attendre **104, 79 et 9 minutes respectivement pour détecter 0,6, 1 et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène**. En ce qui concerne les rapports H2, H3, H4 et H5, l'analyse n'est possible que dans le cas d'une intoxication avec 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène. Il faut alors attendre 71 minutes pour qu'apparaisse l'alarme chez 50 % des poissons. Soulignons que ce temps de détection est inférieur à celui enregistré avec l'étude de la fréquence des EOD, selon la même évaluation. Pour les deux autres concentrations (0,6 et 2 $mg.l^{-1}$), le critère d'alarme 2 n'est jamais atteint.

Les résultats de **l'analyse combinée de la fréquence et/ou de la forme des signaux** sont également présentés tableau XXXI. A partir de ce mode d'évaluation, il faut **104, 20 et 9 minutes pour détecter respectivement 0,6, 1 et 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène**. A ce titre, nous remarquons que l'étude combinée des deux caractéristiques électriques n'offre un avantage - au niveau du temps de détection - que pour la deuxième concentration testée (1 $mg.l^{-1}$). Aux deux autres concentrations, seule l'étude de la fréquence des EOD permet de répondre au critère d'alarme 2.

Le tableau XXXII présente les pourcentages de poissons qui répondent positivement lors des intoxications au trichloroéthylène. Il ressort que **l'analyse combinée des deux caractéristiques électriques permet l'obtention d'un plus fort pourcentage de réponses positives (87,5 %) pour 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène**. Mais aux deux autres concentrations,

les résultats correspondent à ceux enregistrés avec la seule analyse de la fréquence. Ce résultat, une nouvelle fois, n'étonne pas compte tenu du faible pourcentage de poissons qui répondent à la présence du polluant par une variation de la forme du signal, selon le critère d'alarme 1.

CONCENTRATIONS EN TRICHLOROETHYLENE ($mg.l^{-1}$)	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES
0,6	50
1	87,5
2	75

Tableau XXXII : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes concentrations de trichloroéthylène.

4.3.4.3. Influence d'intoxications successives au trichloroéthylène sur les performances de détection des aptéronotes

Précisons avant toute présentation des résultats, que les concentrations de trichloroéthylène, mesurées à partir de prélèvements réguliers, sont constantes durant les 2 heures d'intoxication. Une bonne homogénéité se retrouve aussi entre les diverses expériences, avec des concentrations qui se rangent dans la gamme de 1,9 $mg.l^{-1}$ (écart type : ± 0,2) à 2,1 $mg.l^{-1}$ (écart type : ± 0,1).

4.3.4.3.1. Fréquence des EOD

Les temps de détection de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène par 8 poissons intoxiqués à 4 reprises sont présentés figure 42. Ils sont déterminés - comme à l'accoutumée - à partir du critère d'alarme 1.

D'une façon générale, il est possible de distinguer **3 grandes catégories de poissons** :

- La première comprend **des organismes qui ne répondent jamais** : c'est le cas du poisson n°4.
- La deuxième catégorie concerne **des poissons qui répondent de façon sporadique** ; cette éventualité s'observe avec les réponses des poissons n°6 et 8.
- Enfin, et c'est le cas le plus fréquent, la troisième catégorie comprend **des poissons qui répondent régulièrement aux intoxications successives**. Ce dernier cas se présente avec les poissons n°1, 2, 3, 5 et 7.

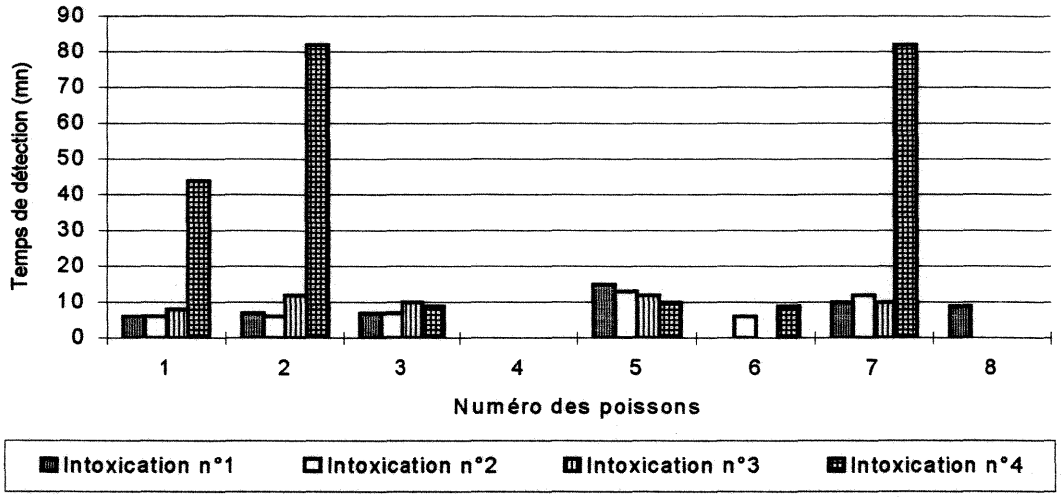


Figure 42 : Temps de détection de 2 mg.l^{-1} de trichloroéthylène, à partir de l'étude de la fréquence des EOD, chez 8 poissons intoxiqués à 4 reprises.

D'une façon plus détaillée, envisageons les réponses des poissons n°6 et 8. Le premier détecte le trichloroéthylène lors des deuxième et quatrième intoxications, respectivement en 6 et 9 minutes, alors que le poisson n°8 révèle la présence de ce solvant uniquement lors de la première intoxication, en 9 minutes.

Pour les poissons qui répondent positivement à chaque intoxication, plusieurs observations peuvent être formulées. La première, et la plus évidente, est qu'il existe véritablement une **similarité des temps de réponses des 5 poissons, non seulement entre eux, mais également entre les trois premières intoxications** (*cf.* figure 42). Insistons sur ce résultat original, en précisant que les temps de détection de 2 mg.l^{-1} de trichloroéthylène interviennent entre 6 et 8 minutes pour le poisson 1, entre 6 et 12 minutes pour le poisson 2, entre 7 et 10 minutes pour le n°3, entre 5 et 12 minutes pour le poisson n°5 et enfin entre 10 et 12 minutes pour le n°7. En revanche, **la quatrième intoxication entraîne dans 60 % des cas des réponses nettement plus tardives** que celles enregistrées après les 3 premières intoxications, avec pourtant la même concentration de trichloroéthylène. En effet, entre la première intoxication et la dernière, le temps de détection du solvant passe de 6 à 44 minutes chez le poisson n°1, de 7 à 82 minutes chez le poisson n 2 et de 10 à 82 minutes chez le poisson n°7. Mais cet accroissement du temps de réponse lors de la quatrième intoxication ne se présente pas toujours. Ainsi le poisson n°3 détecte le trichloroéthylène lors de la quatrième intoxication en 9 minutes, temps pratiquement identique à ceux relevés lors des 3 essais toxicologiques précédents. Il arrive même que le temps de détection baisse légèrement lors de la dernière intoxication. Ceci s'observe chez le poisson n°5, avec un temps de détection de 10 minutes.

Aussi retiendrons-nous principalement **la bonne reproductibilité des réponses de chaque poisson entre les 3 premières intoxications**, les écarts qui concernent les performances de détection du trichloroéthylène s'inscrivant surtout lors du dernier déversement.

4.3.4.3.2. Forme des EOD

Les réponses enregistrées à partir de l'étude des rapports H2, H3, H4 et H5 sont présentées tableau XXXIII. La détection de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène par les 8 poissons intoxiqués à 4 reprises intervient, à partir de l'étude de cette caractéristique électrique, seulement chez 25 % et 37,5 % des poissons respectivement aux 3 premières et dernière intoxications. D'ailleurs nous pouvons remarquer que **plus on s'éloigne de la fondamentale, moins il y a de réponses**, toutes intoxications confondues. Nous relevons ainsi 6 réponses avec H2, 4 réponses avec H3, 2 réponses avec H4 et une seule réponse avec H5.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn)							
	Intoxication n°1		Intoxication n°2		Intoxication n°3		Intoxication n°4	
	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	56^a	12^c	-	17^a
2	-	-	-	-	-	55^b	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	20^b
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	111^a	$19^a/36^d$	-	-	-	-	-
6	-	-	63^a	-	-	-	$30^a/27^c$	25^b
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	16^b	-	-	-	-	-	-	-

a : Réponse avec H2 ; b : Réponse avec H3 ; c : Réponse avec H4 ; d : Réponse avec H5.

Tableau XXXIII : Temps de détection de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène, à partir de l'étude de la forme des EOD, chez 8 poissons intoxiqués à 4 reprises.

Un examen plus détaillé des résultats montre que le poisson n°4, qui ne détectait pas le polluant lorsque nous considérions sa fréquence, ne répond pas davantage avec l'étude de la forme de son signal.

D'un autre côté, les intoxications auxquelles répondaient sporadiquement les poissons n°6 et 8 en fréquence, sont aussi détectées avec l'étude de la forme du signal. En réalité, ce sont les réponses électriques des poissons n°1, 2, 3, 5 et 7 qui révèlent les différences les plus nettes entre l'étude des fréquences des EOD et celle de la forme du signal. Alors que le trichloroéthylène était systématiquement détecté par l'étude de la fréquence chez ces poissons,

ce n'est absolument plus le cas lorsque nous considérons les rapports H2, H3, H4 et H5. Par exemple, chez le poisson n°7, les variations de l'un ou l'autre de ces rapports ne permettent jamais de répondre au critère d'alarme 1. Chez le poisson n°1, une détection du solvant se produit lors des troisième et quatrième intoxications ; pour les poissons n°2 et 3, ce sont respectivement les troisième et quatrième déversements de trichloroéthylène qui conduisent à une réponse positive. Enfin la forme du signal du poisson n°5 varie suffisamment pour répondre au critère d'alarme 1, mais aux deux premières intoxications uniquement.

Hormis une seule exception (poisson n°1 - quatrième intoxication), la détection de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène est plus tardive lorsque nous travaillons sur la forme du signal plutôt que sur la fréquence des EOD. Malgré tout, la détection de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène intervient généralement dans la première heure (*cf.* tableau XXXIII).

En conclusion, la répétition d'intoxications identiques sur les mêmes organismes indique très clairement que **l'étude de cette caractéristique électrique ne permet pas une bonne reproductibilité des résultats**.

4.3.5. Performances de détection du chrome hexavalent

Cinq essais toxicologiques ont été réalisés avec cette substance. Selon le protocole expérimental habituel, des échantillons d'eau ont été prélevés tous les 15 minutes. Leur analyse par spectrométrie de masse révèle que les valeurs des concentrations mesurées sont inférieures à celles des concentrations nominales. Les moyennes et les écarts-types des concentrations de chrome, calculés pour les 5 expériences, donnent les résultats suivants : 0,2 $mg.l^{-1}$ (± 0,02) ; 0,75 $mg.l^{-1}$ (± 0,06) ; 1,6 $mg.l^{-1}$ (± 0,1) ; 2,7 $mg.l^{-1}$ (± 0,5) et 3,4 $mg.l^{-1}$ (± 0,6). C'est à partir de ces valeurs que s'engagent notre étude et notre discussion.

4.3.5.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.5.1.1. Fréquence des EOD

Pour chaque concentration, le tableau XXXIV indique, à partir de l'étude de la fréquence des EOD, les temps de détection du polluant ainsi que les pourcentages de poissons qui répondent au critère d'alarme 1.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE CR (VI), A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FREQUENCE DES **EOD**									
	0,2 $mg.l^{-1}$		0,75 $mg.l^{-1}$		1,6 $mg.l^{-1}$		2,7 $mg.l^{-1}$		3,4 $mg.l^{-1}$	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	-	-	-	-	41	-	5	-	5	23
2	-	-	-	-	104	-	-	-	6	-
3	-	-	-	-	105	-	7	-	4	-
4	-	-	-	-	3	-	-	-	6	-
5	-	-	-	-	107	-	9	-	6	-
6	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
7	-	-	-	-	-	30	5	-	5	-
8	-	-	-	-	-	-	6	-	4	36
Pourcentage de réponses positives	0 %		0 %		75 %		75 %		87,5 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme de 2 heures d'exposition.

Tableau XXXIV : Temps de détection de différentes concentrations de chrome hexavalent, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux.
Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

D'une façon très générale, soulignons que **plus la concentration en chrome (VI) est élevée, plus le nombre de réponses positives est grand**. Ainsi aucune réponse n'est enregistrée chez les deux lots de 8 poissons intoxiqués avec 0,2 et 0,75 $mg.l^{-1}$ de chrome. Mais, 75 % des poissons répondent positivement à des expositions de 1,6 et 2,7 $mg.l^{-1}$ de Cr (VI). Enfin la concentration la plus élevée, soit 3,4 $mg.l^{-1}$, est aussi celle qui entraîne le plus fort pourcentage de réponses (87,5 %) de la part des aptéronotes.

Une **variabilité intraspécifique des temps de réponses** apparaît très clairement **à 1,6 $mg.l^{-1}$ de chrome (VI)**. Nous notons en effet qu'un intervalle de temps de 3 à 107 minutes est nécessaire pour détecter cette concentration. Mais il est intéressant de souligner que cette variabilité des temps de réponses, entre poissons soumis à de mêmes conditions toxicologiques, **s'amoindrit nettement lorsque les concentrations atteignent 2,7 et 3,4 $mg.l^{-1}$**. Il faut alors respectivement entre 5 et 9 minutes d'une part et entre 4 et 6 minutes d'autre part pour détecter ces 2 concentrations.

Les résultats consignés dans le tableau XXXIV révèlent que la détection de chrome aux concentrations de 1,6, 2,7 et 3,4 $mg.l^{-1}$, intervient préférentiellement après franchissement de la limite inférieure, LI. Autrement dit, **les poissons répondent à la présence du polluant par une baisse de la fréquence de leurs EOD**. Les figures 43 et 44 illustrent ce cas général.

Une exception se présente toutefois chez le poisson n°7 intoxiqué avec 1,6 mg.l^{-1} de Cr (VI). En effet, il répond en 30 minutes au critère d'alarme 1 par le franchissement de la limite supérieure (LS), comme l'indique le tableau XXXIV.

Au même chapitre, soulignons encore 2 autres cas particuliers développés par les poissons 1 et 8 intoxiqués par du chrome à la concentration de 3,4 mg.l^{-1}. La détection du polluant se fait après un premier franchissement de LI et se confirme quelques minutes plus tard avec un second dépassement de la limite supérieure cette fois-ci. Ce phénomène, déjà rencontré lors d'essais toxicologiques précédents, s'explique par le fait que nous travaillons sur des **limites d'alarme dynamiques**. Une illustration de ce type de réponse est donnée figure 45.

La relativement **bonne homogénéité du sens de la réponse** chez les poissons qui parviennent à révéler la présence du chrome, se retrouve aussi lorsque nous considérons **l'amplitude de la réponse**. Celle-ci correspond à une variation de fréquence de l'ordre de 2 à 3 Hz, quelle que soit la concentration détectée (*i.e.* 1,6, 2,7 ou 3,4 mg.l^{-1}), ce qui peut se constater sur les figures 43, 44 et 45.

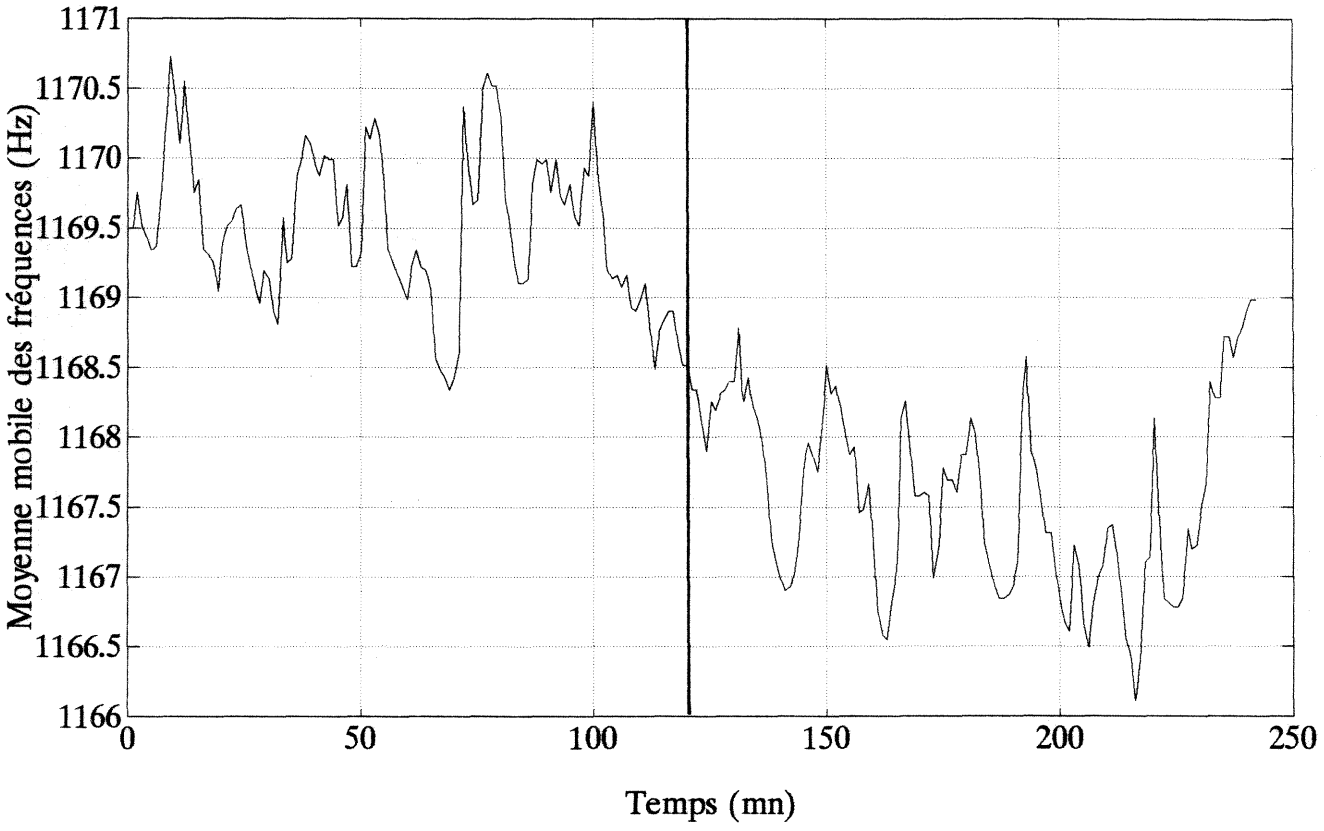


Figure 43 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 1,6 mg.l^{-1} de chrome hexavalent (120-240 mn), chez le poisson n°2 (temps de détection : 104 mn).

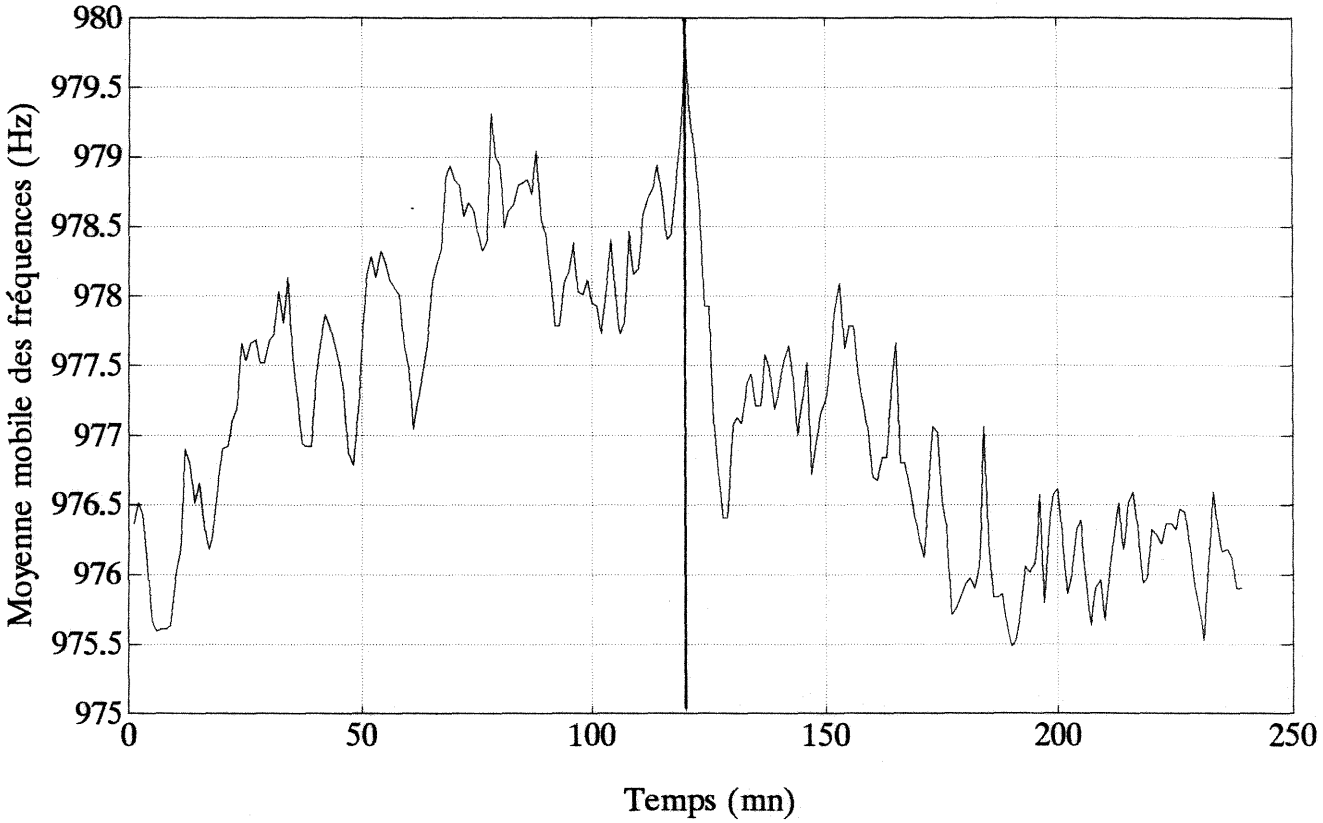


Figure 44 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 2,7 mg.l^{-1} de chrome hexavalent (120-240 mn), chez le poisson n°3 (temps de détection : 7 mn).

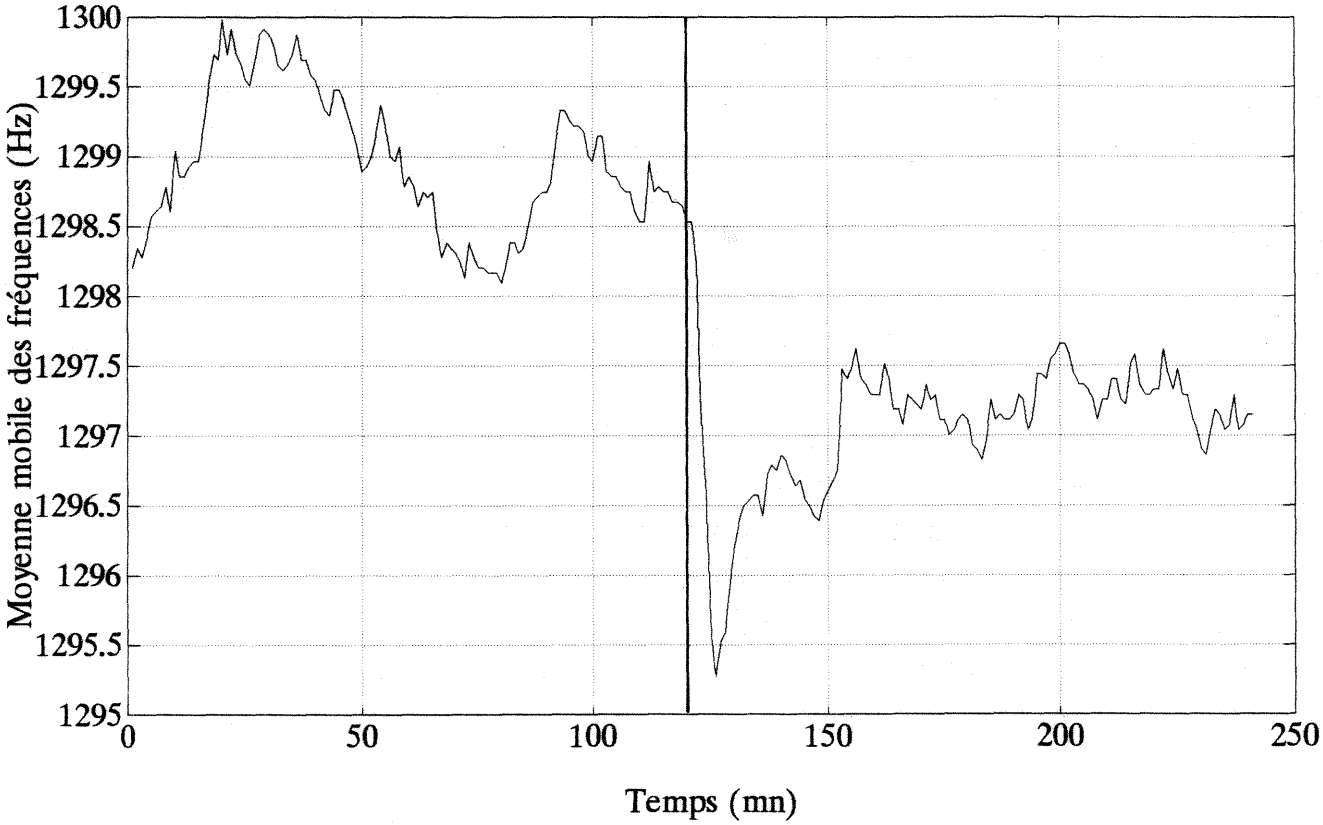


Figure 45 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 3,4 mg.l^{-1} de chrome hexavalent (120-240 mn), chez le poisson n°8 (temps de détection : 4 mn).

4.3.5.1.2. Forme des EOD

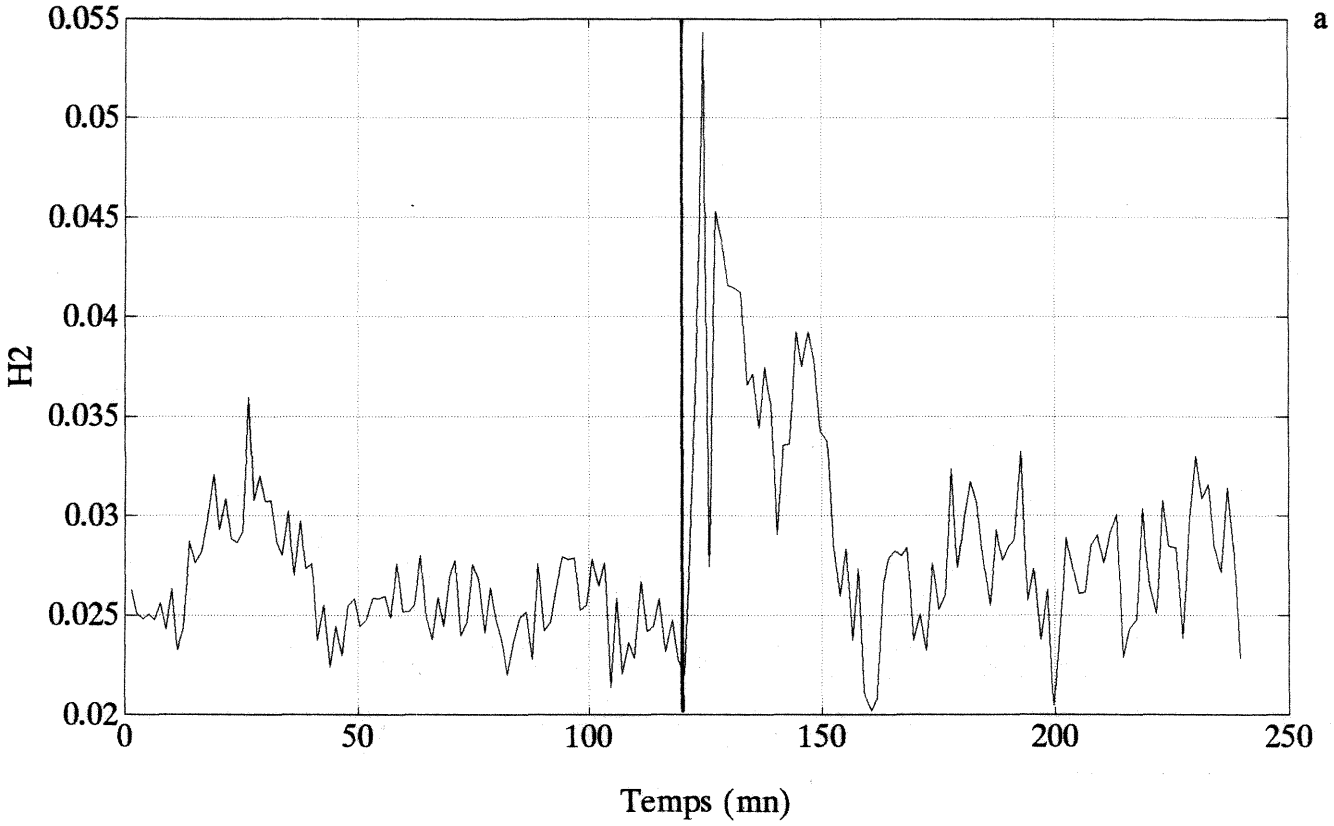
D'une façon très générale, la considération de cette caractéristique électrique n'apporte qu'un très petit nombre de réponses de la part des 5 lots de 8 poissons. C'est la raison pour laquelle nous préférerons présenter les résultats, non pas classiquement dans un tableau, mais dans le paragraphe qui suit.

Précisons que toutes expériences confondues, nous enregistrons **seulement 8 réponses** ! La plus petite concentration testée, soit 0,2 $mg.l^{-1}$, n'est pas détectée à partir de l'étude de ce critère électrique, pas plus d'ailleurs qu'elle ne l'était avec l'analyse de la fréquence. Mais alors qu'aucune réponse n'avait pu être enregistrée précédemment à la concentration de 0,75 $mg.l^{-1}$, la limite inférieure (LI') du rapport H2 est franchie avec une déviation suffisante pour répondre au critère d'alarme 1 à 45 et 49 minutes, respectivement chez les poissons n°5 et 8. Nous enregistrons d'ailleurs chez ce dernier poisson un nouveau dépassement de LI' à 91 minutes avec l'étude de H5.

Une seule réponse s'observe à la concentration de 1,6 $mg.l^{-1}$ de chrome, chez le poisson n°7. Elle apparaît lors du franchissement de la limite supérieure de H3, au terme d'un temps de contact poisson-polluant de 11 minutes.

De même, après 115 minutes d'exposition à 2,7 $mg.l^{-1}$ de chrome, seul l'individu n°7 développe une réponse positive, après un franchissement de LI' du rapport H3. Enfin, à la plus haute concentration étudiée (*i.e.* 3,4 $mg.l^{-1}$), seuls 2 poissons à nouveau développent des réponses positives. Il s'agit du poisson n°6 qui révèle la présence du Cr (VI) à la 97ième minute (dépassement significatif de LI' - selon le critère d'alarme 1- du rapport H4) et du poisson n°8 qui répond en 13 et 15 minutes, par la variation des rapports H2 et H3 respectivement. Ce phénomène est représenté sur la figure 46, qui révèle clairement que la détection intervient après franchissement de LS'.

Même si **le nombre de réponses recueillies avec l'étude de la forme du signal est faible**, puisqu'il concerne, toutes concentrations confondues, 6 poissons seulement, cette voie d'exploration est cependant intéressante à considérer. Effectivement, pour 4 aptéronotes des 6 concernés, l'étude de la forme du signal présente un avantage en termes de temps de détection comparativement à celle de la fréquence des EOD. C'est bien sûr évident pour les poissons n°5 et 8 à 0,75 $mg.l^{-1}$, dont l'étude des fréquences n'apportait aucune réponse. Mais c'est aussi le cas chez les poissons n° 6 et 7, lors des intoxications avec 3,4 et 1,6 $mg.l^{-1}$ de chrome respectivement.



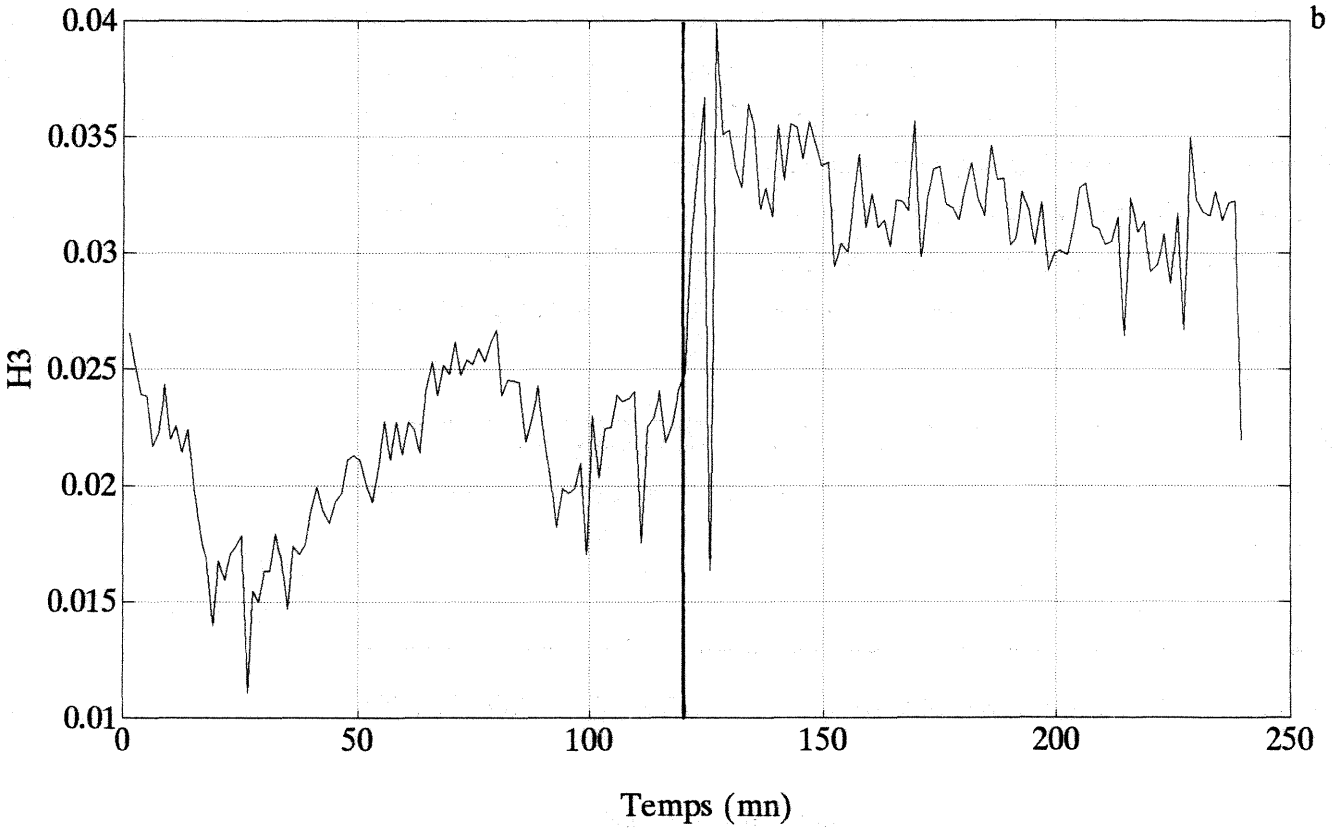


Figure 46 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 3,4 mg.l^{-1} de chrome hexavalent (120-240 mn), des rapports H2 (graphe a, poisson n°8, temps de détection : 13 mn) et H3 (graphe b, poisson n°8, temps de détection : 15 mn).

4.3.5.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Précisons immédiatement que les performances de détection enregistrées à partir de l'étude de la forme du signal ne satisfont jamais à ce second critère, qui exige 50% de réponses positives. Aussi, seuls seront présentés dans le tableau XXXV les résultats issus de l'analyse de la fréquence des EOD. Ainsi **des concentrations de 1,6, 2,7 et 3,4 mg.l^{-1} de chrome sont respectivement détectées en 104, 6 et 5 minutes d'exposition**.

Concentrations en chrome hexavalent (mg.l^{-1})	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FREQUENCE DES EOD
0,2	-
0,75	-
1,6	104
2,7	6
3,4	5

- : Moins de 50 % des poissons développent une réponse positive en présence de chrome.

Tableau XXXV : Temps de détection de différentes concentrations de chrome, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude de la fréquence des EOD.

Le tableau XXXVI expose les pourcentages d'aptéronotes qui développent une réponse positive, au terme des 2 heures d'intoxication avec les différentes concentrations de chrome, en étudiant les deux caractéristiques électriques combinées l'une à l'autre. Des pourcentages de réponses de 25 % à 0,75 mg.l^{-1} de chrome, de 75 % aux concentrations de 1,6 et 2,7 mg.l^{-1} et de 100 % à 3,4 mg.l^{-1} de chrome sont ainsi enregistrés. En ce qui concernent les concentrations de 0,75 et 3,4 mg.l^{-1} de chrome, **l'étude de la fréquence et/ou de la forme selon le meilleur des deux cas constitue, par rapport à la seule étude de la fréquence des EOD, un avantage en termes de pourcentages de réponses recueillies**.

CONCENTRATIONS EN CHROME (mg.l^{-1})	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES (%)
0,2	0
0,75	25
1,6	75
2,7	75
3,4	100

Tableau XXXVI : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes concentrations de chrome.

4.3.6. Performances de détection du gazole

Rappelons que les intoxications avec le gazole ne durent qu'une seule heure et que des échantillons d'eau sont prélevés toutes les 10 minutes, directement dans le volume d'eau qui entoure le poisson. La figure 47 présente l'évolution des concentrations mesurées de gazole en fonction du temps, lors des 3 essais toxicologiques. Dans tous les cas, nous enregistrons une **baisse de la concentration en hydrocarbures**, très marquée en début d'expérience. Une perte toujours supérieure à 50 % s'observe entre les prélèvements effectués 10 et 20 minutes après le déversement du polluant dans l'eau. Cette diminution s'amenuise ensuite. Plus précisément, **nous passons de 18,4 à 1,9 mg.l^{-1}, de 45 à 6,5 mg.l^{-1} et de 89 à 20,3 mg.l^{-1} entre les premiers et derniers prélèvements**, respectivement pour les expériences 1, 2 et 3. Nous garderons toujours à l'esprit cette évolution temporelle des quantités de gazole dans l'eau pour la présentation et l'interprétation des réponses bioélectriques recueillies. Dans la suite de l'exposé, nous parlerons simplement des expériences 1, 2 et 3, en nous souvenant des gammes de concentration qu'elles sous-entendent.

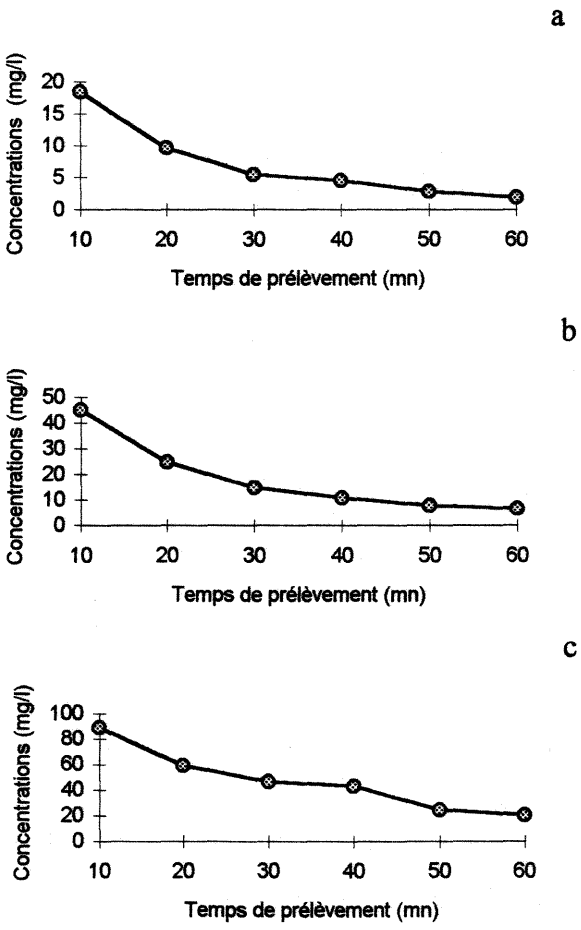


Figure 47 : Evolution des concentrations de gazole mesurées par méthode spectrophotométrique en fonction du temps, lors des 3 essais toxicologiques. a : Expérience 1. b : Expérience 2. c : Expérience 3.

4.3.6.1. Evaluation selon le critère d'alarme 1

4.3.6.1.1. Fréquence des EOD

Les résultats sont présentés dans le tableau XXXVII. Il indique les temps de détection du gazole et les pourcentages de réponses positives obtenues, lors des trois essais toxicologiques, à partir de l'étude de la fréquence des EOD.

Numéro des poissons	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE GAZOLE, A PARTIR DE L'ETUDE DE LA **FREQUENCE DES EOD**					
	Expérience 1		Expérience 2		Expérience 3	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS
1	-	-	11	-	10	-
2	-	-	43	-	9	-
3	13	-	-	-	8	-
4	13	-	-	-	7	-
5	12	-	-	-	10	-
6	17	-	24	-	9	-
7	-	-	10	-	9	-
8	-	-	17	-	10	-
Pourcentage de réponses positives	50 %		62,5 %		100 %	

- : aucune réponse enregistrée après 2 heures d'exposition au gazole.

Tableau XXXVII : Temps de détection de différentes concentrations de gazole, à partir de l'étude de la fréquence des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives au franchissement soit de la limite inférieure (LI), soit de la limite supérieure (LS), soit des deux. Pourcentages de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Soulignons d'abord que **le nombre de poissons qui détectent le gazole augmente au fur et à mesure que les gammes de concentrations s'élèvent**. Ainsi nous enregistrons 50, 62,5 et 100 % de réponses positives lors des expériences 1, 2 et 3 respectivement.

D'une façon globale, les **temps de détection du gazole** s'amenuisent au fur et à mesure que l'intoxication s'aggrave. Pour l'expérience 1, la gamme de temps nécessaire au déclenchement de l'alarme est comprise entre 12 et 17 minutes. Elle n'est plus que de 7 à 10 minutes, lors de l'expérience 3. Cependant, lors de la deuxième expérience, non seulement nous observons avec surprise une plus grande dispersion des temps de réponses, mais encore nous constatons que ces derniers sont dans certains cas plus élevés que ceux enregistrés pour une plus petite quantité de gazole ! En effet, la détection du gazole nécessite parfois une durée d'exposition de 43 minutes.

En fait, à considérer les courbes de réponse en fréquence, tous les poissons, sans exception, détectent la présence de l'hydrocarbure dans l'eau, quelle que soit la gamme de concentrations testée. A ce titre, il est utile d'insister sur deux points.

Le premier est que **la détection de gazole intervient toujours après une chute de la fréquence des EOD**, comme en témoigne l'examen du tableau XXXVII. Ce dernier précise en effet que c'est dans tous les cas un franchissement de la limite inférieure qui permet de répondre au critère d'alarme 1. Les figures 48, 49 et 50 l'illustrent aussi très clairement ; elles imposent également une seconde observation, qui concerne l'amplitude de la variation des réponses bioélectriques enregistrées. Indubitablement, **plus sévère est la pollution, plus marquée est la réponse**, ce qui est somme toute logique.

Plus en détail, lors de l'expérience 1, **les moyennes mobiles des fréquences baissent de 4 à 9 Hz**, ce dont témoigne la figure 48. La courbe 48a illustre la réponse du poisson n°1, qui malgré sa baisse en fréquence, ne répond pas au critère d'alarme 1, tandis que la courbe 48b concerne le poisson n°3 qui détecte en 13 minutes la présence du gazole.

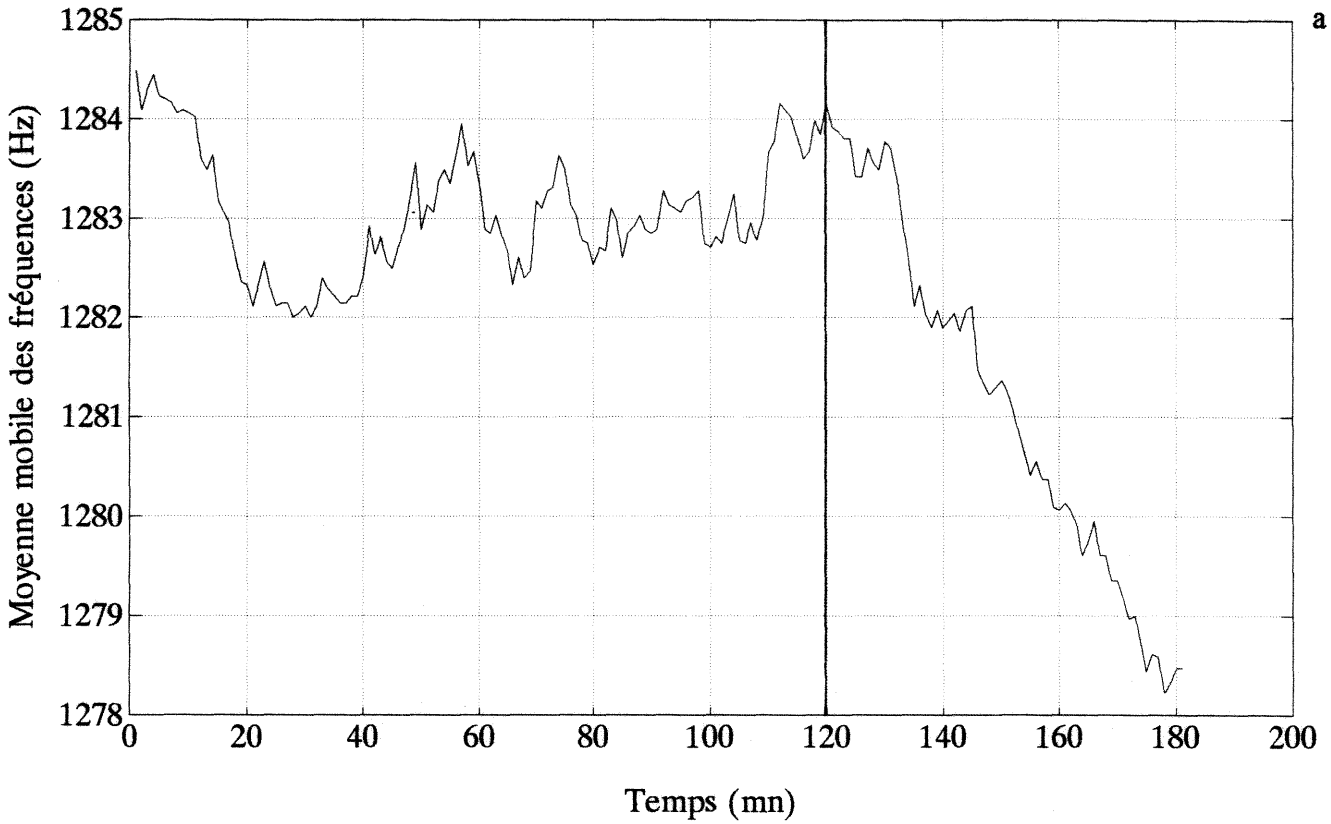
Le même cas de figure se reproduit lors de la deuxième expérience. **Une chute de la moyenne mobile des fréquences** s'y présente également, mais cette fois **dans une gamme de 7 à 16 Hz**. Elle ne répond pas pour autant au critère d'alarme 1, autrement dit elle n'aboutit pas nécessairement à la détection de l'hydrocarbure. La figure 49 en est une illustration, dans laquelle le graphe 49a précise la variation en fréquence du poisson n°4, variation qui ne permet pas de répondre au premier critère d'alarme. En revanche, le graphe 49b présente la réponse du poisson 8, qui détecte le gazole au terme de 17 minutes d'exposition.

A noter qu'il s'est produit lors de cet essai une très légère élévation de la température de l'eau quelques minutes avant le déversement du polluant[8]. Cela explique le petit accroissement des moyennes mobiles des fréquences avant 120 minutes chez l'ensemble des sujets.

Enfin, **la chute en fréquence** des poissons utilisés pour l'expérience 3 s'inscrit **dans une gamme de 13 à 30 Hz**. La figure 50 en présente un enregistrement typique, obtenu avec le poisson n°6. La détection de la pollution y survient au terme de 9 minutes d'exposition seulement.

---

[8] : Rappelons que les essais d'intoxication avec le gazole ont été réalisés durant la canicule estivale, dans un local non climatisé, ce qui compliquait nécessairement la régulation thermique.



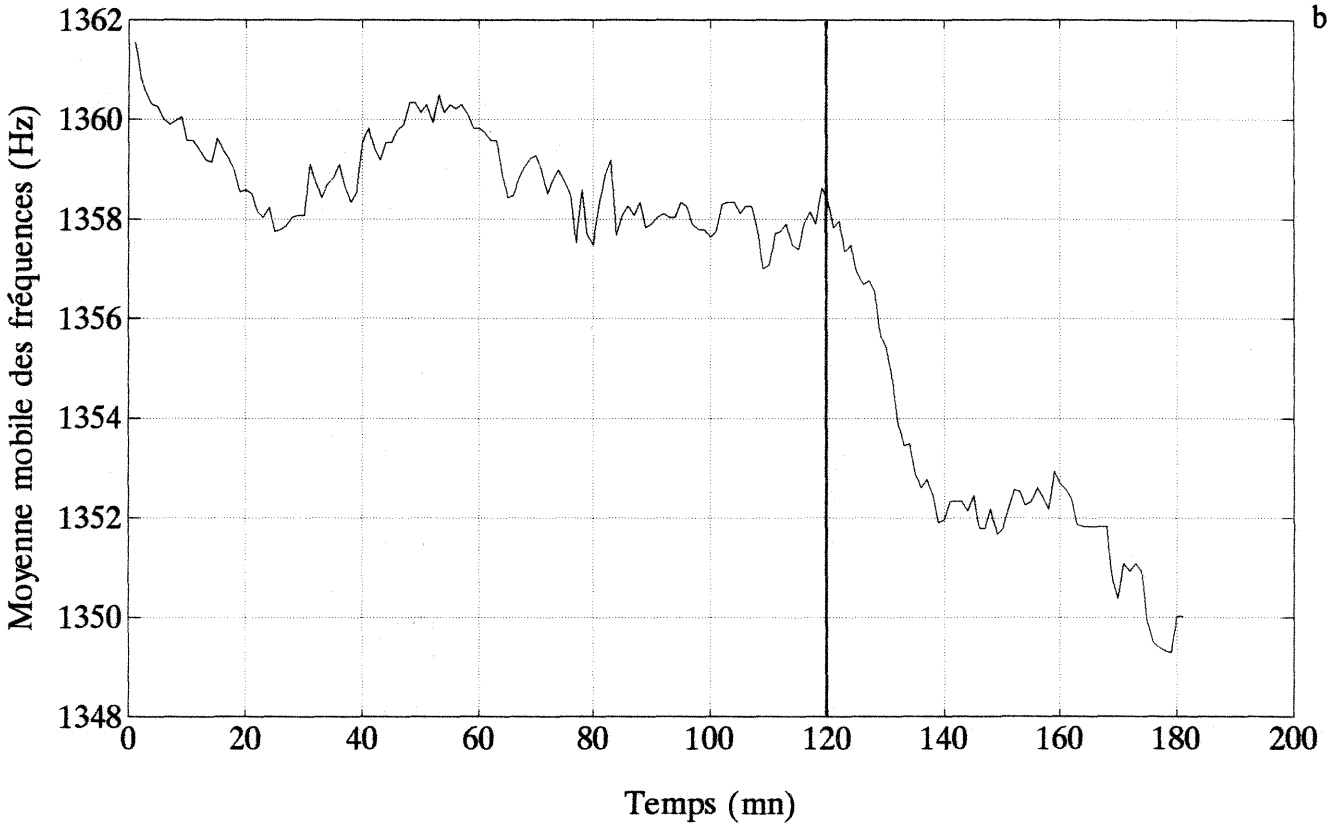
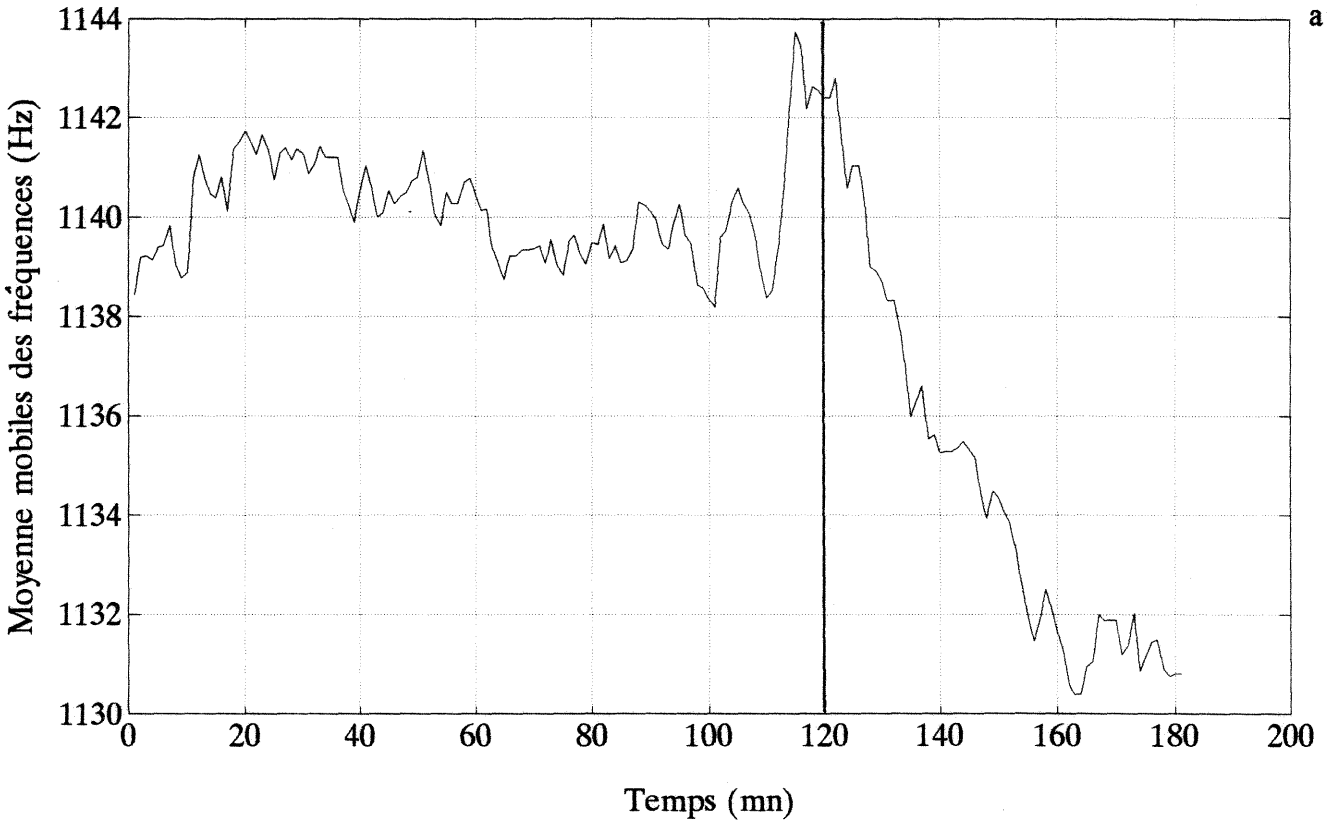


Figure 48 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 1, chez les poissons n°1 (graphe a, détection nulle) et n°3 (graphe b, temps de détection : 13 mn).



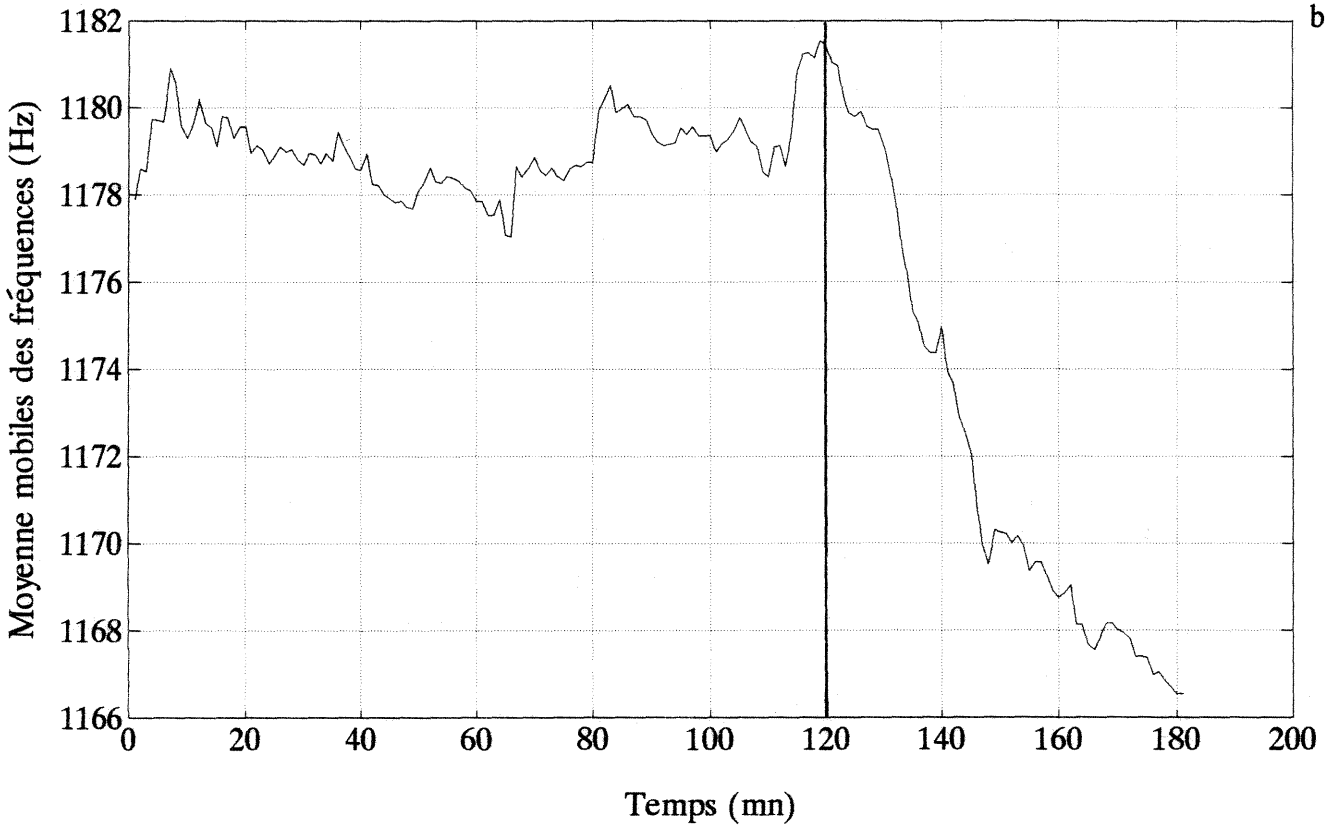


Figure 49 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 2, chez les poissons n°4 (graphe a, détection nulle) et n°8 (graphe b, temps de détection : 17 mn).

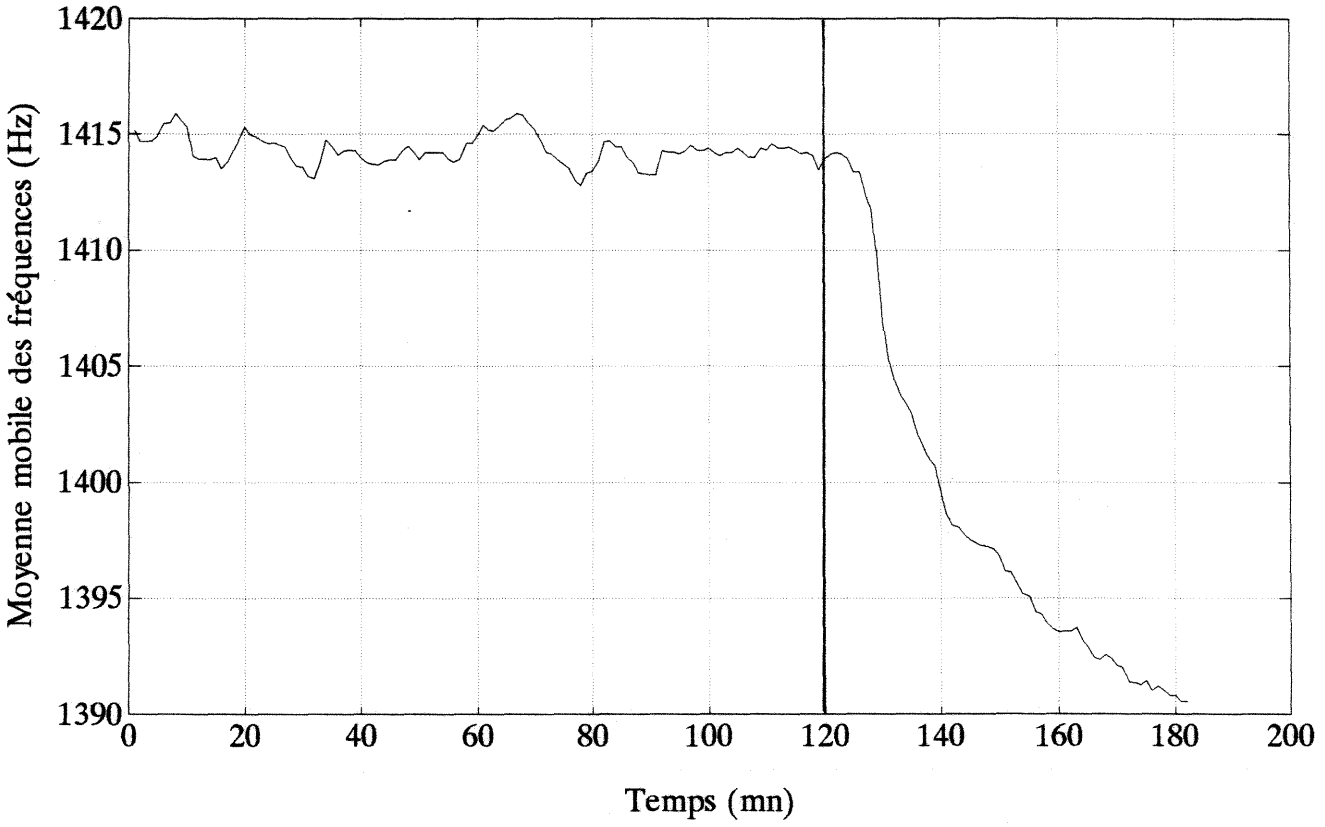


Figure 50 : Variation temporelle des moyennes mobiles des fréquences des EOD durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 3, chez le poisson n°6 (temps de détection : 9 mn).

4.3.6.1.2. Forme des EOD

Les temps de détection enregistrés à partir de l'étude de la forme des EOD sont détaillés dans le tableau XXXVIII, pour les 3 essais toxicologiques. Une information sur les pourcentages de réponses positives, pour l'ensemble des rapports H2, H3, H4 et H5, est également présentée dans ce tableau.

Soulignons tout d'abord que nous enregistrons **87,5 % de réponses positives aux première et troisième expériences, alors que pour le deuxième essai, seuls 50 % des poissons détectent la présence de gazole**. Ces pourcentages tiennent compte de l'ensemble des résultats enregistrés avec H2, H3, H4 et H5. A ce propos d'ailleurs, et d'une façon générale, nous remarquons que **le nombre de réponses décroît au fur et à mesure que l'on s'intéresse à des harmoniques plus éloignés de la fondamentale**. Ainsi aucune réponse n'est même enregistrée pour H5.

	TEMPS DE DETECTION (mn) DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE GAZOLE A PARTIR DE L'ETUDE DE LA FORME DES **EOD**					
①	**HARMONIQUE 2**					
N° des	Expérience 1		Expérience 2		Expérience 3	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	36	15	-	-	20
2	24	-	-	53	-	-
3	-	30	-	-	-	49
4	-	-	-	-	13	-
5	-	-	-	-	16	-
6	-	32	-	-	-	15
7	-	33	16	-	-	-
8	-	-	-	-	-	36
②	**HARMONIQUE 3**					
N° des	Expérience 1		Expérience 2		Expérience 3	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	30	-	-	27
2	-	54	-	53	-	-
3	-	-	-	-	57	-
4	-	-	-	-	28	-
5	21	-	-	-	19	-
6	-	19	-	-	-	16
7	-	25	33	-	-	-
8	23	-	52	-	-	-
③	**HARMONIQUE 4**					
N° des	Expérience 1		Expérience 2		Expérience 3	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	35
2	-	26	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	24	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	58
8	-	-	-	-	-	-
④	**HARMONIQUE 5**					
N° des	Expérience 1		Expérience 2		Expérience 3	
poissons	LI'	LS'	LI'	LS'	LI'	LS'
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
Pourcentage de réponses positives *	87,5 %		50 %		87,5 %	

- : aucune réponse enregistrée au terme d'une heure d'exposition au gazole.
* : Au terme d'une heure d'intoxication et toutes harmoniques confondus.

Tableau XXXVIII : Temps de détection de différentes gammes de concentrations de gazole, à partir de l'étude de la forme des EOD de 8 *Apteronotus albifrons*. Réponses consécutives aux franchissements soit de la limite inférieure (LI'), soit de la limite supérieure (LS'), soit des deux.
Pourcentage de réponses positives enregistrées aux différentes intoxications.

Quelle que soit la gamme de concentrations de gazole testée, **l'étude de la forme des EOD fournit des temps de détection toujours supérieurs à ceux relevés avec la seule analyse de la fréquence des émissions électriques**. Cette comparaison est possible dans les cas où les poissons répondent à la présence de gazole, à la fois par la fréquence et la forme des EOD.

Il arrive cependant que la détection du gazole ne s'opère que par variation de la forme des EOD. C'est le cas par exemple des poissons n°1, 2, 7 et 8 dans l'expérience 1. Cette occurence ne se présente cependant pas dans les deux autres expériences. Pour ces dernières, c'est même l'inverse qui se produit : des poissons peuvent répondre à la présence de gazole par une variation de la fréquence des EOD, sans qu'il y ait une modification significative de la forme de leurs signaux.

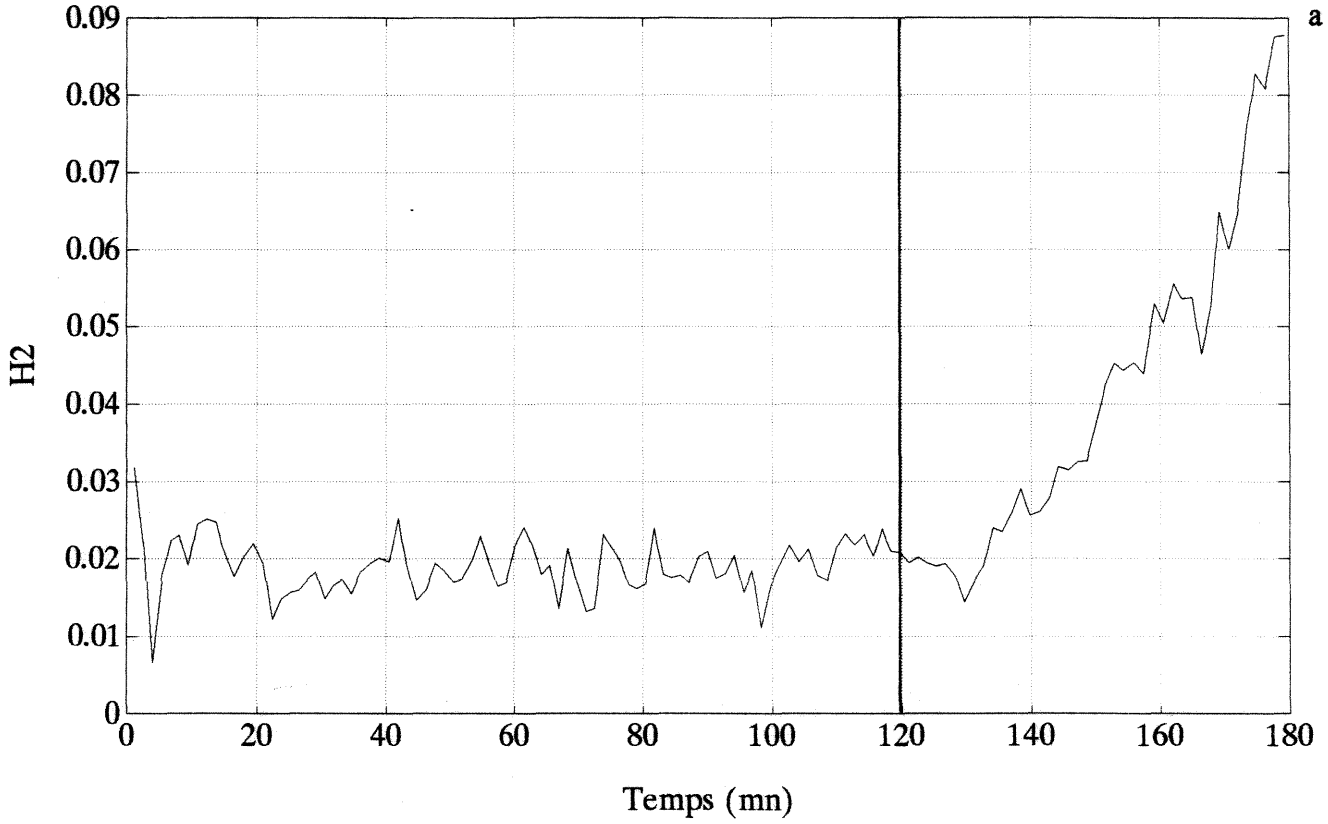
D'une façon plus détaillée, **des gammes de temps de 19 à 36 minutes, de 15 à 53 minutes et de 13 à 58 minutes ont été respectivement enregistrés lors des expériences 1, 2 et 3**. Nous pouvons remarquer que l'étude de la forme du signal des aptéronotes révèle des gammes de temps de détection globalement similaires pour les trois tests.

La détection du gazole par l'étude des rapports des harmoniques à la fondamentale intervient aussi bien après franchissement de la limite inférieure, LI', que de la limite supérieure, LS'. L'examen du tableau XXXVIII l'indique clairement, en précisant que ceci est vrai quel que soit le rapport considéré (H2, H3 et H4).

Ces deux sens possibles de la réponse sont illustrés par exemple dans la figure 51, pour l'expérience 1. Dans ce cas, l'augmentation de H2 et la baisse de H3 conduisent à une détection du gazole, respectivement en 32 minutes (poisson n°6) et 23 minutes (poisson n°8).

Il arrive parfois que le déversement de gazole conduise à un changement de l'un ou l'autre des rapports, mais insuffisant pour répondre au critère d'alarme 1. C'est ce que présente la figure 52, avec les variations dans le temps des rapports H2 et H5 des poissons n°4 et 5 respectivement.

Toujours pour illustrer le sens des réponses développées par des poissons exposés à cet hydrocarbure, la figure 53 présente les variations temporelles de H2 durant l'expérience 2. A nouveau, nous notons soit une baisse, soit une augmentation de ce rapport.



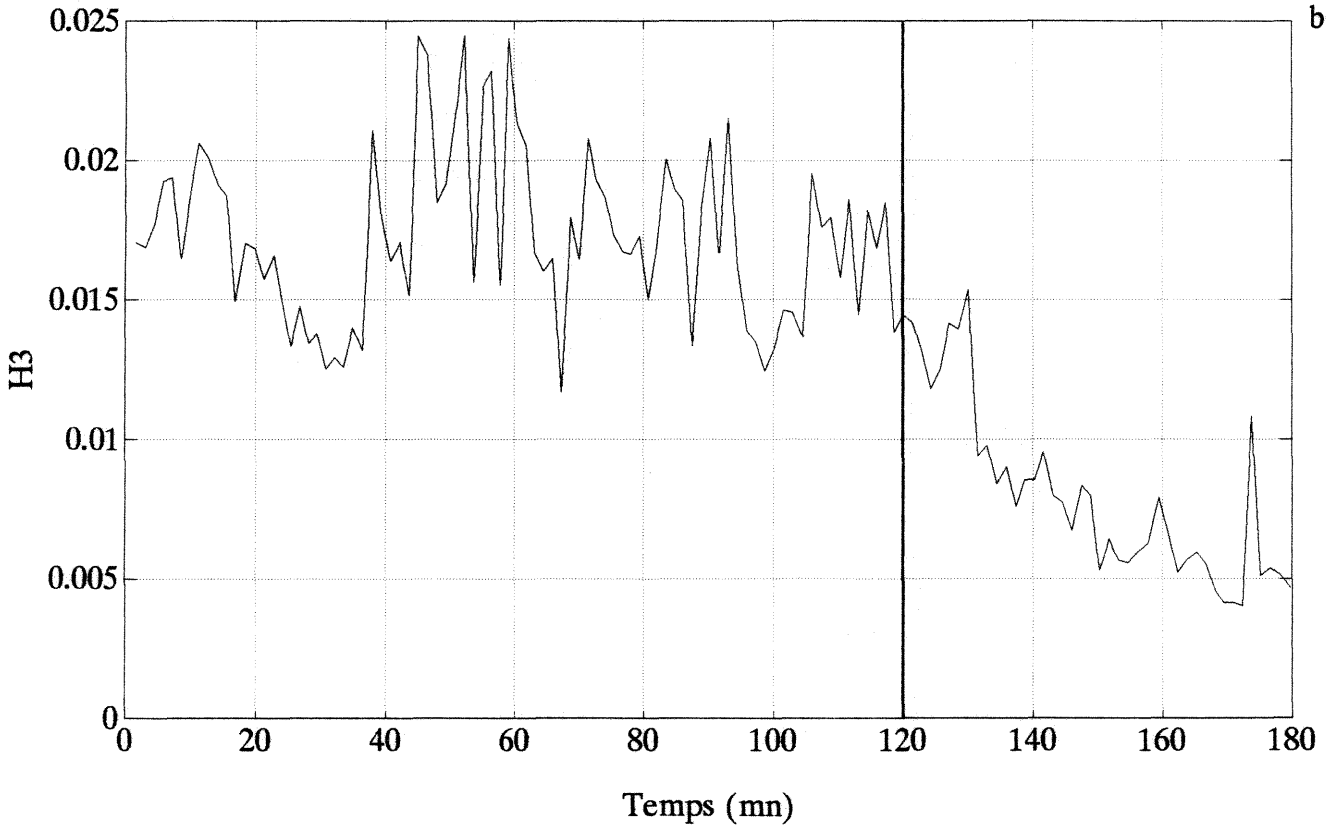
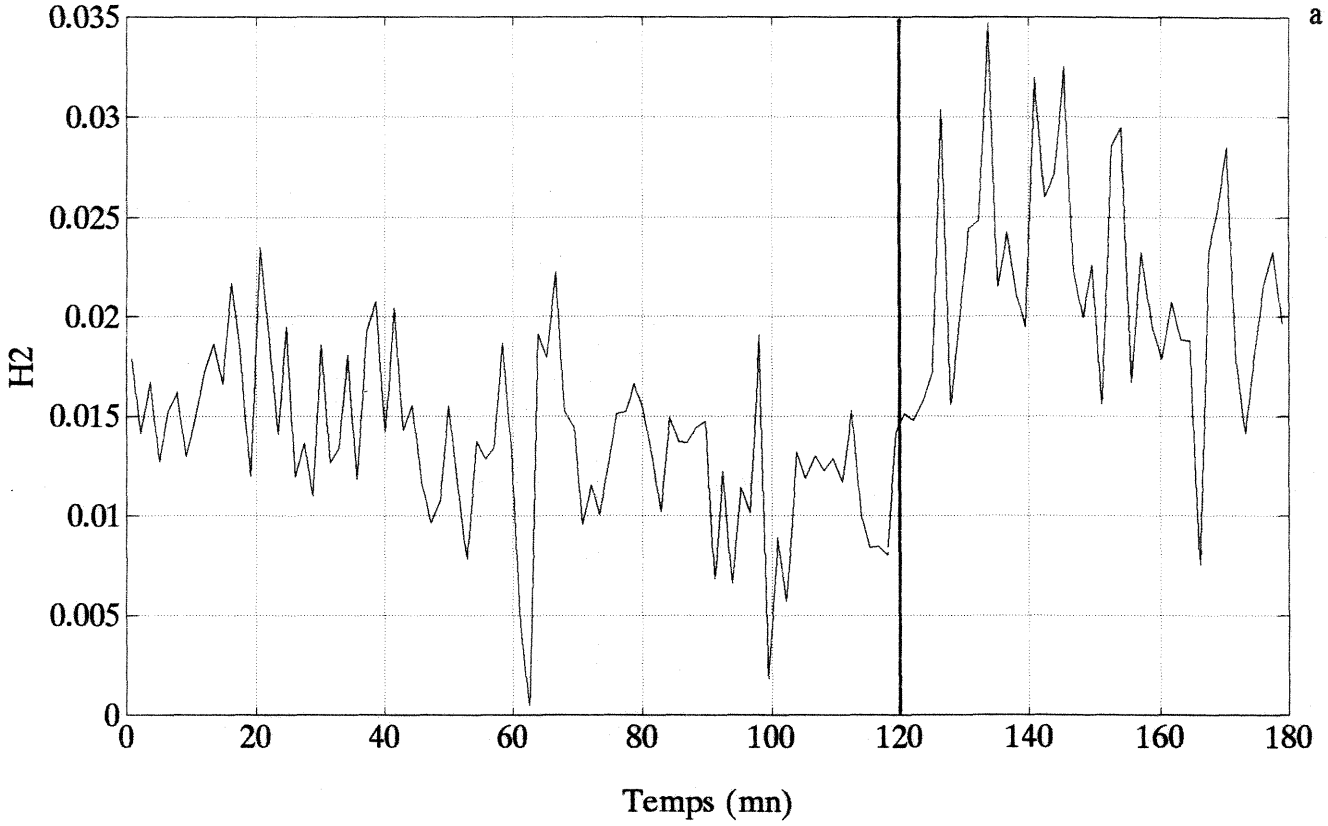


Figure 51 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 1, des rapports H2 (graphe a, poisson n°6, temps de détection : 32 mn) et H3 (graphe b, poisson n°8, temps de détection : 23 mn).



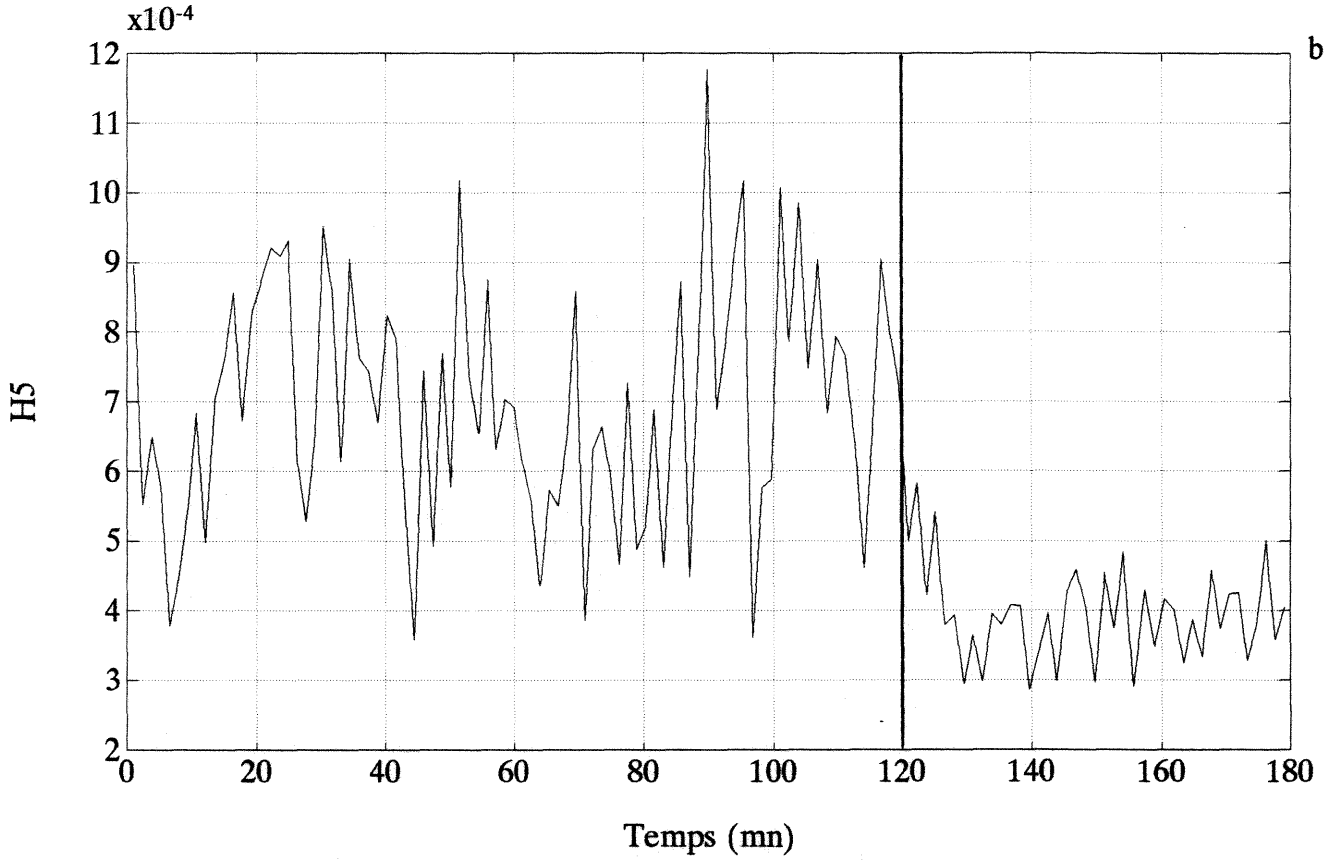
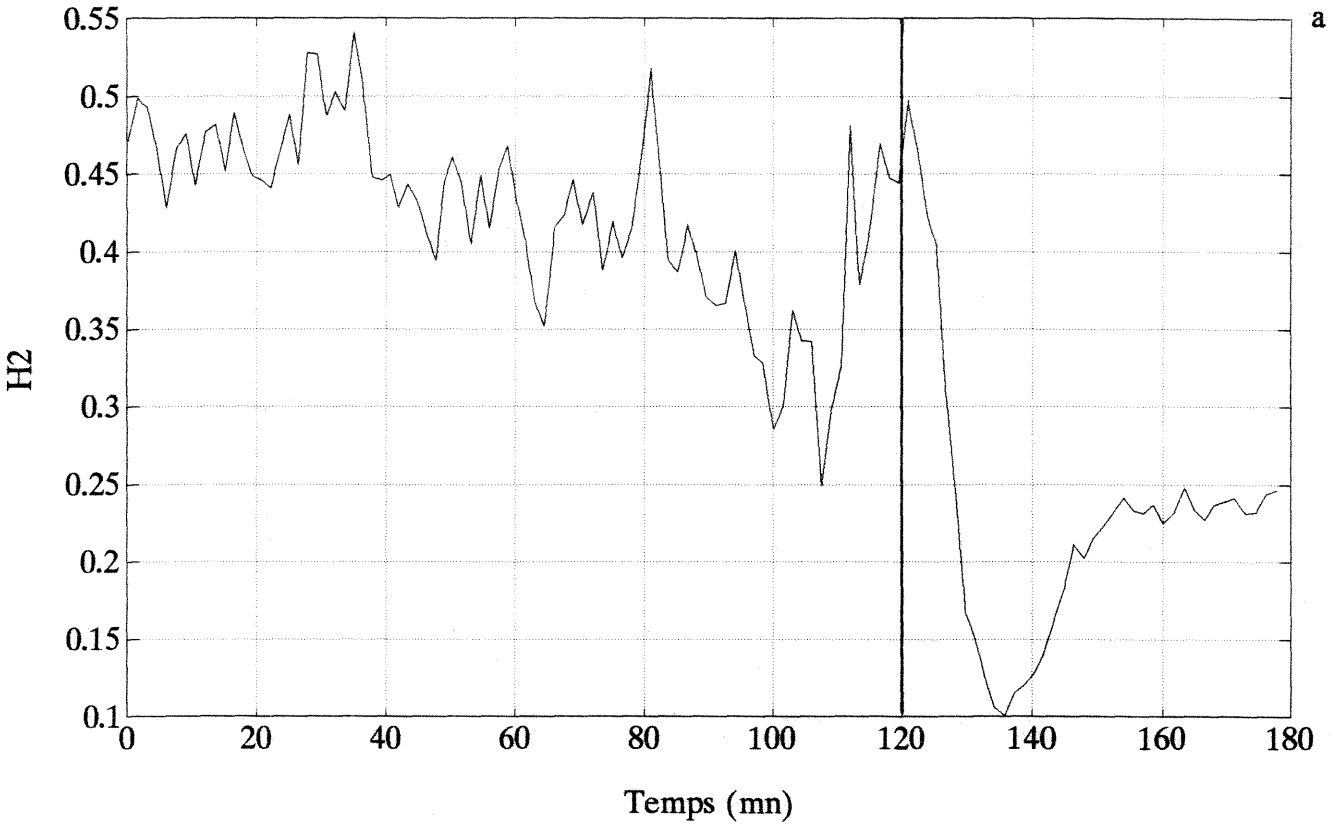


Figure 52 : Variation temporelle, durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 1, des rapports H2 (graphe a, poisson n°4, détection nulle) et H5 (graphe b, poisson n°5, détection nulle).



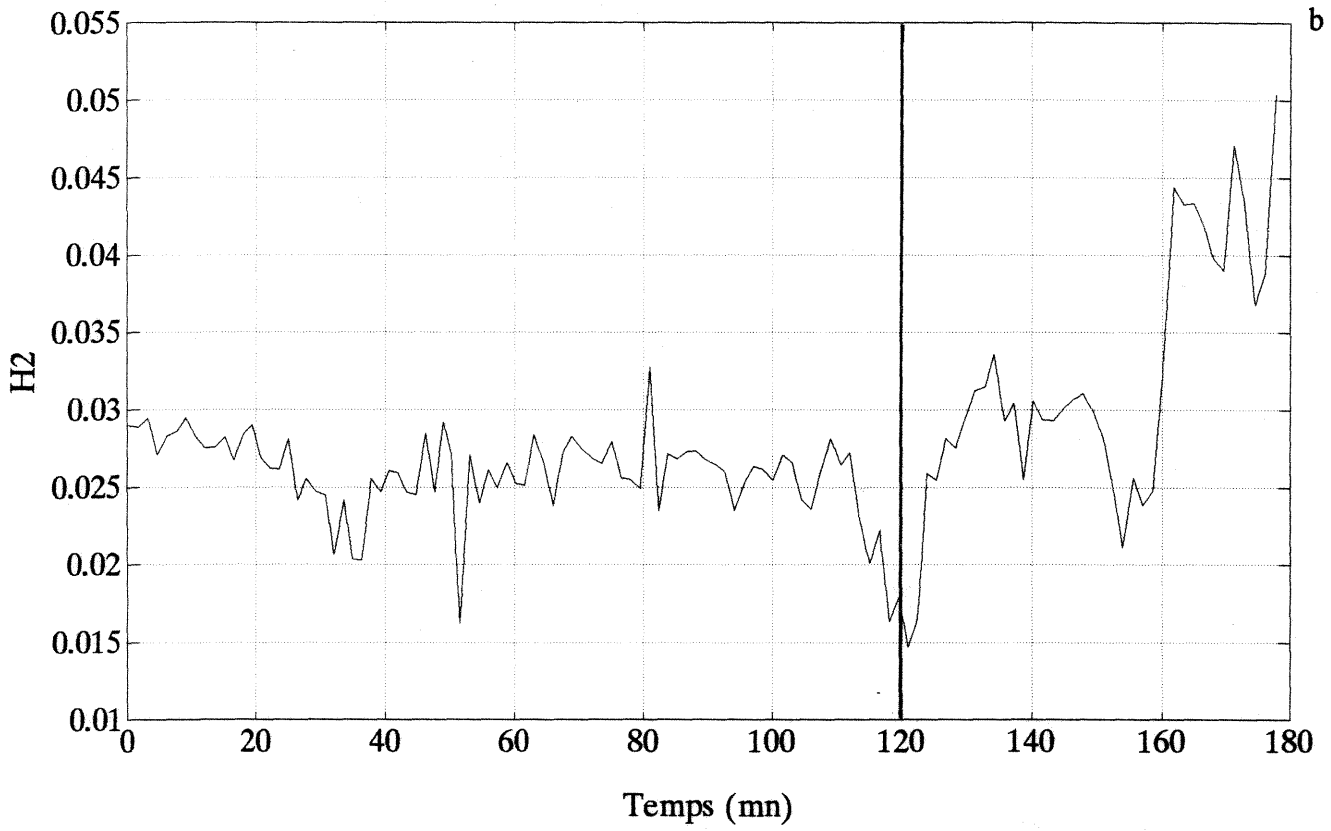


Figure 53 : Variation temporelle du rapport H2 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 2, chez les poissons n°1 (graphe a, temps de détection : 15 mn) et n°2 (graphe b, temps de détection : 53 mn).

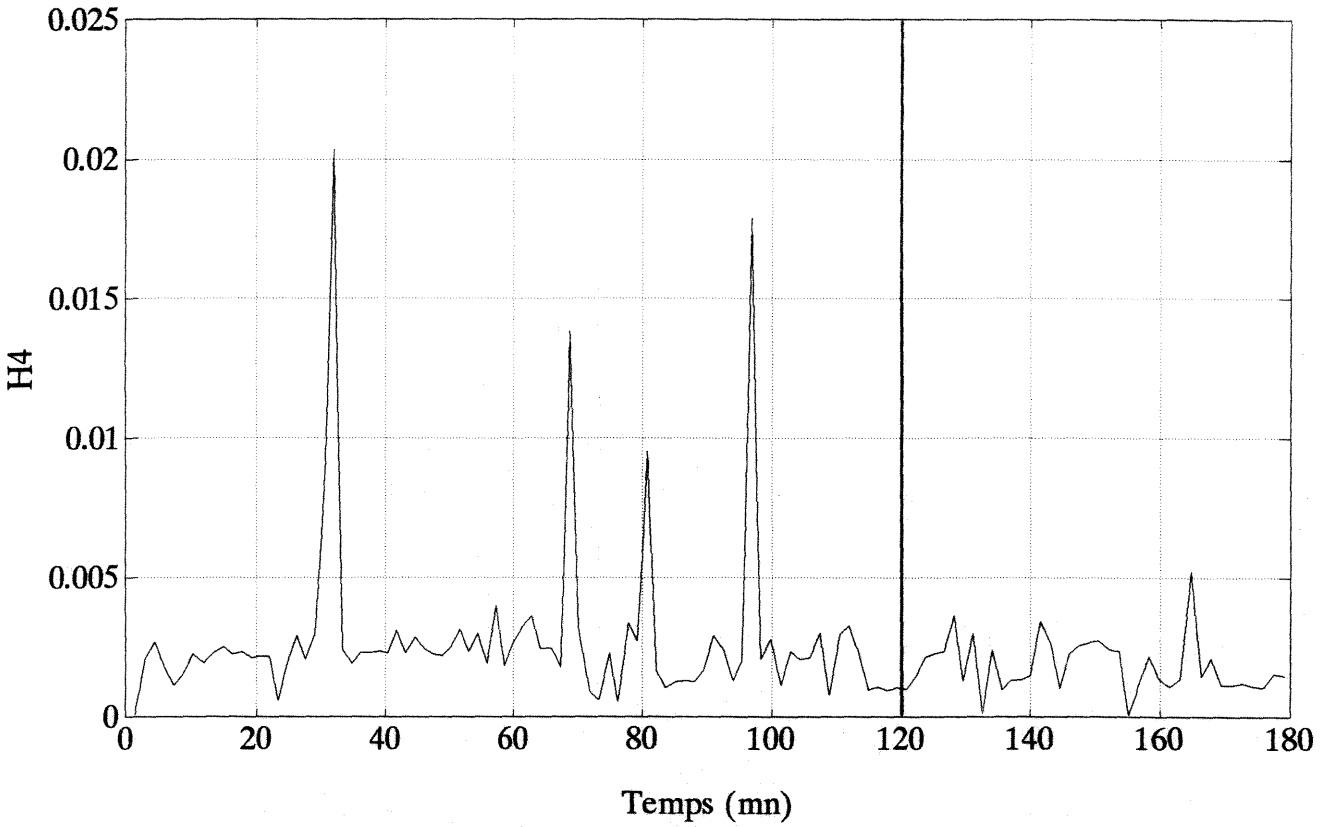
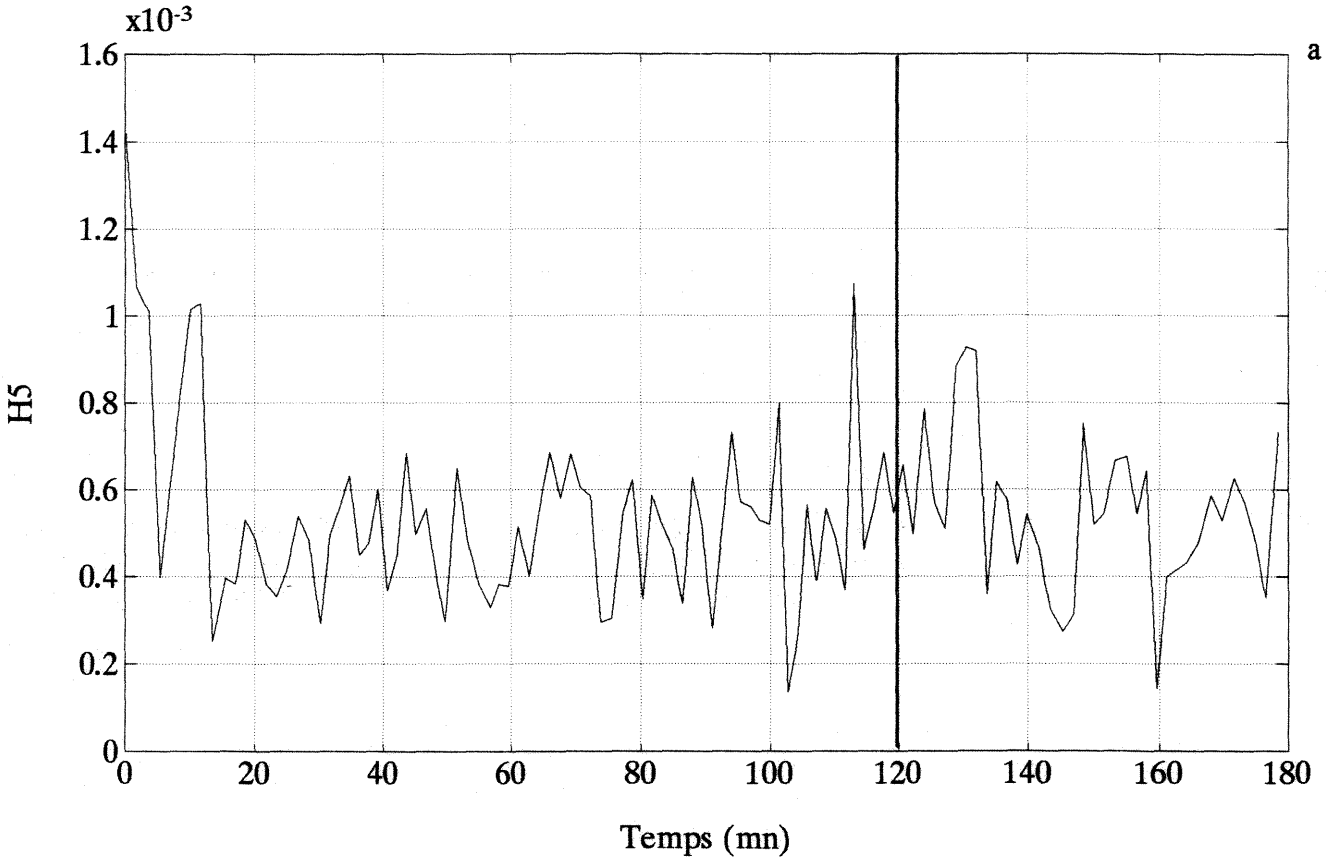


Figure 54 : Variation temporelle du rapport H4 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 2, chez le poisson n°8 (détection nulle).

Il est intéressant à propos de l'expérience 2, de faire une petite **remarque de nature comportementale**. Alors que les poissons se tiennent habituellement dans leur tube durant la phase diurne et n'en sortent à la recherche de nourritures qu'une fois les lumières éteintes, nous avons pu observer que le poisson n°8 se permettait de temps à autre des excursions hors du tube pendant la phase de standardisation. Ses sorties intempestives l'ont placé temporairement en-dehors du canal de captage optimal de l'information électrique. Un tel comportement locomoteur, qui n'affecte pas la mesure de la fréquence, s'est répercuté essentiellement sur la qualité de l'enregistrement de la forme du signal, ce que traduisent les pics relevés lors de la phase de standardisation de la figure 54[9].

Enfin, aucune réponse significative (*i.e.* satisfaisant au critère d'alarme 1) n'a pu être enregistrée par l'étude de H5. En effet, ce rapport présente généralement une bonne stabilité dans le temps (*cf.* figure 55a). Notons néanmoins chez 2 poissons (n°4 et 5) une tendance à la baisse de ce rapport, insuffisante cependant pour atteindre le niveau d'alarme (*cf.* figure 55b).

[9] : Théoriquement l'information recueillie sur la forme du signal ne serait totalement fiable que dans un espace électriquement homogène, illimité et dépourvu d'obstacles. En s'approchant des parois, en faisant varier sa position par rapport à son tube de sécurisation, le poisson ne déclenche pas seulement dans son champ des variations de résistance ohmique, mais aussi d'inductance et de réactance capacitive, qui pourraient bien être à l'origine des déformations spectrales de son signal par effet de filtre (Florion, comm. pers.), déformations que nous avons souvent constatées de manière transitoire sur l'écran de l'oscilloscope.



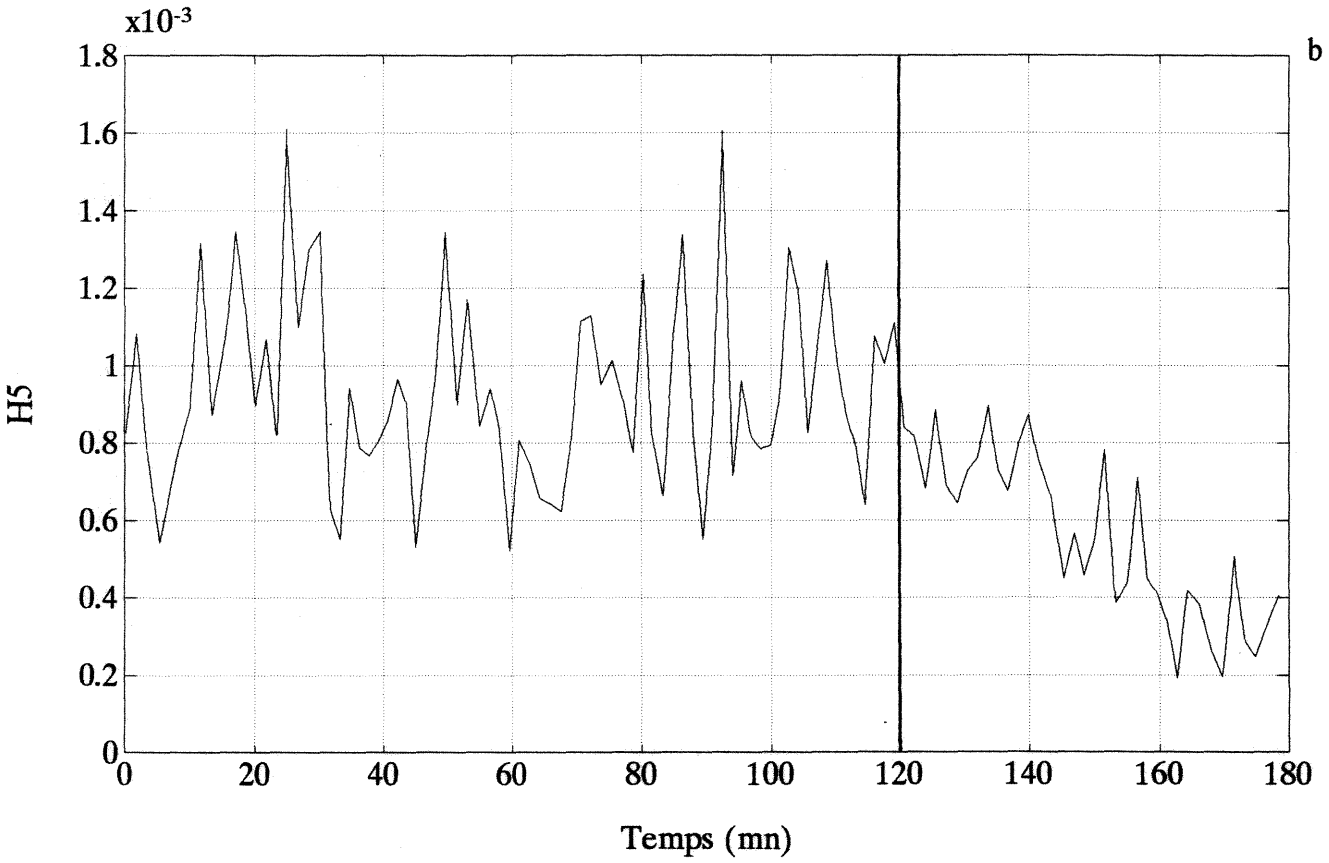


Figure 55 : Variation temporelle du rapport H5 durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication au gazole (120-180 mn), lors de l'expérience 3, chez les poissons n°8 (graphe a, détection nulle) et n°4 (graphe b, détection nulle).

4.3.6.2. Evaluation selon le critère d'alarme 2

Les réponses bioélectriques développées par les poissons ne sont plus considérées individuellement, mais globalement. Les résultats figurent tableau XXXIX.

Numéro des expériences	TEMPS DE REPONSE (mn) CHEZ 50 % DES POISSONS		
	Fréquence des EOD	Forme des EOD	Fréquence et/ou forme des EOD
1	17	24	17
2	24	53	24
3	9	20	9

Tableau XXXIX : Temps de détection de différentes gammes de concentrations de gazole, par 50 % des poissons (critères d'alarme 1 et 2), à partir de l'étude soit de la fréquence des EOD, soit de la forme des EOD, soit de ces deux caractéristiques combinées.

Ainsi la considération de la *fréquence des EOD* permet d'enregistrer **des temps de réponse de 17, 24 et 9 minutes, pour les expériences 1, 2 et 3 respectivement**. Comme nous l'avions déjà noté précédemment, le temps de réponse de l'expérience 2 est supérieur à celui du premier essai. Ce résultat est surprenant compte tenu du fait que la gamme de concentrations de gazole utilisée pour l'expérience 2 est supérieure à celle testée dans l'essai 1.

Cette dernière remarque s'applique tout aussi bien lorsque nous considérons la *forme des EOD*. En effet, les **temps de réponse** chez 50 % des individus sont respectivement de **24, 53 et 20 minutes, pour les expériences 1, 2 et 3**. Dans tous les cas, ces temps de détection sont supérieurs à ceux relevés par la seule analyse de la fréquence. Ceci explique que la combinaison des deux critères électriques, selon le meilleur des deux cas, revient à reporter directement les performances de détection enregistrées dans l'étude de la fréquence des EOD. Seule la considération des pourcentages de réponses positives enregistrées à partir de la fréquence et/ou de la forme des EOD autorise une amélioration des résultats, comme l'indique l'examen du tableau XXXX. Nous enregistrons en effet jusqu'à 100 % de réponses significatives pour les expériences 1 et 3, et 62,5 % de réponses pour le second essai.

NUMERO DES EXPERIENCES	POURCENTAGES DE REPONSES POSITIVES (%)
1	100
2	62,5
3	100

Tableau XXXX : A partir d'une étude combinée des 2 caractéristiques électriques (fréquence et forme), pourcentages de poissons électriques qui développent une réponse positive, au terme de 2 heures d'exposition aux différentes gammes de concentrations de gazole.

4.3.7. Les fausses alarmes

La sensibilité des aptéronotes vis-à-vis de substances toxiques a été appréhendée au travers de 6 séries d'expérimentations, dont les résultats viennent d'être présentés. Mais nous avons totalement occulté, à leur propos, le problème des fausses alarmes, thème que nous souhaitons aborder à présent.

En effet, au cours de nos expérimentations, nous avons pu noter de temps à autre des **comportements électriques anormaux durant certaines phases de standardisation**, c'est à dire en-dehors de toute pollution de l'eau. L'analyse des données (fréquence ou forme des EOD) révèle ainsi l'existence de ce que nous allons définir comme "fausses alarmes". Il s'agit de réponses électriques qui varient de façon significative mais sans raison apparente, autrement dit, qui répondent aux exigences du premier critère d'alarme alors que le milieu environnemental du poisson n'est pas dégradé. La figure 56 fait le bilan des fausses alarmes relevées pour l'ensemble des expériences, relatives soit à la fréquence des EOD, soit à la forme du signal. Cette figure précise également si les fausses alarmes ont été obtenues après franchissement des limites inférieures (LI / LI') ou supérieures (LS / LS')[10] de l'une ou l'autre de ces 2 caractéristiques électriques.

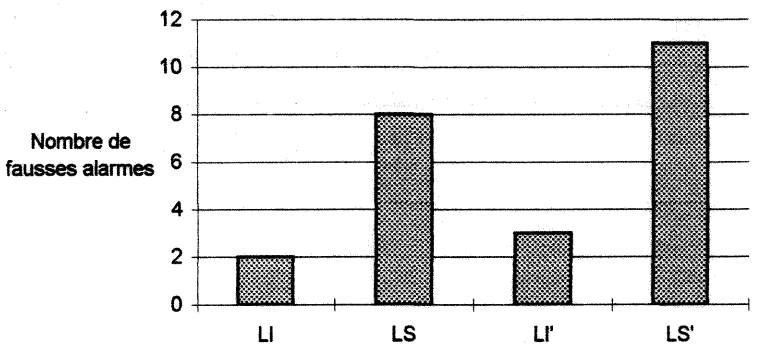


Figure 56 : Evaluation du nombre de fausses alarmes pour l'ensemble des essais toxicologiques réalisés avec *Apteronotus albifrons*, après un franchissement significatif des limites inférieures ou supérieures, soit de la fréquence des EOD (respectivement LI ou LS), soit de la forme du signal (respectivement LI' ou LS').

[10] : Rappelons que LI et LS correspondent respectivement aux limites inférieures et supérieures des variations de fréquence des EOD. Pour l'étude de la forme du signal, ce sont LI' et LS' qui déterminent les limites inférieures et supérieures respectivement.

Ainsi, en ce qui concerne **l'étude de la fréquence des décharges électriques**, nous dénombrons **10 fausses alarmes**. Plus précisément, nous remarquons que l'essentiel de ces "mauvaises" réponses survient après franchissement de la limite supérieure (8 cas contre 2 pour la limite inférieure). Ce cas précis correspond généralement à une **augmentation soudaine de la fréquence des poissons**. La figure 57 est un exemple type d'un tel comportement électrique. Elle représente l'évolution de la somme des pentes (Vi) sur 15 minutes en fonction du temps, encadrée par LI et LS, chez le poisson n°8 lors d'une intoxication avec 2,7 $mg.l^{-1}$ de chrome hexavalent. Durant la phase de standardisation, qui dure 120 minutes, nous enregistrons 2 pics qui franchissent LS. Seul le deuxième est à l'origine d'une fausse alarme, compte tenu des exigences du critère d'alarme 1 (degré de variation supérieur ou égal à 500). La fin de la phase de standardisation (indiquée sur le graphe par le symbole '/') est immédiatement marquée par une brusque chute de Vi. Ceci témoigne d'une baisse de la fréquence des EOD émises par ce poisson, qui en conséquence détecte la présence du chrome dans l'eau (avec un degré de variation supérieur à 30).

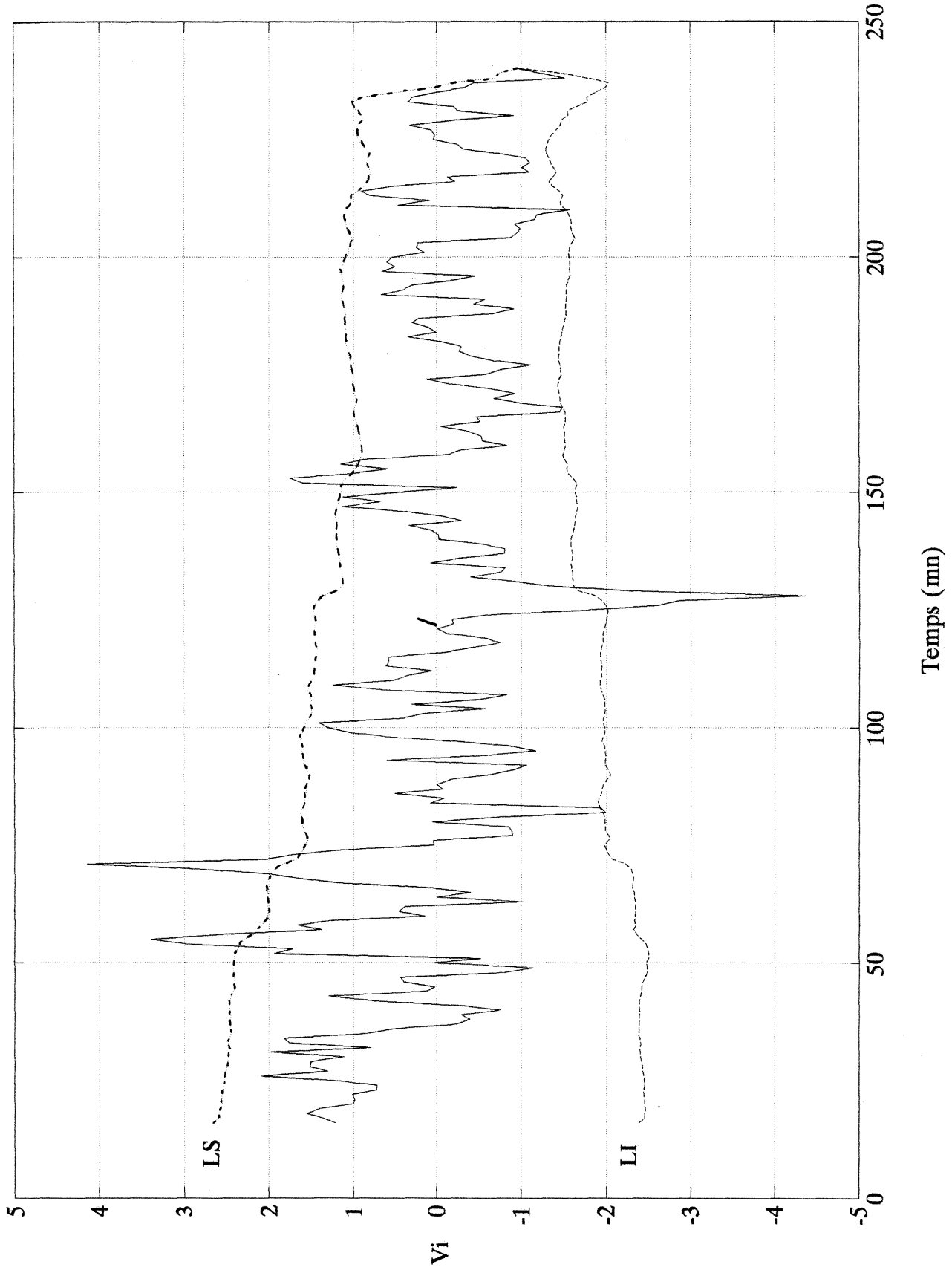
Le **franchissement significatif de LI** lors de la phase de standardisation est un phénomène plus rare (seuls 2 cas sont rencontrés) et n'est pas justifié par un comportement électrique particulier des poissons.

L'**étude de la forme du signal** engendre aussi de fausses alarmes. Nous en dénombrons **3 par franchissement de LI' et 11 relatives à LS'**. Nous ne sommes pas en mesure d'incriminer davantage un harmonique particulier, les faux positifs apparaissant de façon fortuite dans l'ensemble des rapports H2, H3, H4 et H5 étudiés. Ainsi, non seulement l'étude de la forme du signal fournit de moins bons résultats en termes de temps de détection et de pourcentage de réponses, mais elle est également à l'origine d'un plus grand nombre de fausses alarmes.

Il convient cependant de relativiser ces résultats à la lumière du tavail expérimental réalisé. Le profil toxicologique des aptéronotes a été dressé à partir de 24 expériences, réalisées chacune sur 8 poissons différents. Très précisément, ce sont 192 enregistrements de 4 heures, soit 768 heures de données qui sont archivées pour chaque caractéristique électrique. Globalement, cela correspond donc à 3840 heures d'enregistrement dont 50 % intéressent la phase de standardisation.

En résumé, les 24 fausses alarmes répertoriées au cours de nos expériences surviennent dans un laps de temps de 1920 heures, ce qui rend plus acceptable, dans une certaine mesure, ces résultats.

Figure 57 : Variation temporelle de la somme des pentes (Vi), encadrée par les limites dynamiques d'alarmes supérieures et inférieures réestimées toutes les minutes, chez un aptéronote durant les phases de standardisation (0-120 mn) et d'intoxication à 2,7 $mg.l^{-1}$ de chrome hexavalent (120-240 mn).



4.4. Discussion

Elle s'articulera autour de 4 grands thèmes :

a) ***Le concept de réponse sensible.*** Il est clair que cette notion ne prend son sens que par rapport à deux autres : la première est celle de plus petite concentration détectée, la seconde celle du temps nécessaire au déclenchement de l'alerte. Ces deux notions caractérisent l'information utile pour une station d'alerte à la pollution des eaux de surface. Par conséquent, elles feront l'objet de la première partie de notre discussion et seront pour cela confrontées à des résultats enregistrés par d'autres auteurs[11].

b) ***Le concept de crédibilité et de fiabilité.*** Outre ses qualités de sensibilité et de rapidité, nous savons qu'un biodétecteur doit aussi répondre à deux exigences essentielles, qui sont la crédibilité et la fiabilité de l'information collectée. Ce sera le deuxième thème de notre discussion.

c) ***La variabilité spécifique.*** Rencontrée lors de nos expériences, elle constitue un réel obstacle à la biodétection des faibles concentrations toxiques.

d) ***Le mode d'action de la toxicité d'une substance sur l'électrogenèse.*** Enfin, comme nous l'exposions dans le premier chapitre, la connaissance des mécanismes toxicologiques peut expliquer - au moins partiellement - la sensibilité et la rapidité des réponses enregistrées. Aussi conclurons-nous notre discussion, en formulant diverses hypothèses relatives aux modes d'action physico-chimique des substances toxiques sur la physiologie et les facultés électrogènes des aptéronotes.

4.4.1. Sensibilité et rapidité des réponses

Le profil de sensibilité des aptéronotes a été établi au travers de plusieurs essais toxicologiques et surtout par des techniques particulières d'échantillonnage, de traitement et d'analyse des données. C'est la raison pour laquelle il est plus juste de parler de la sensibilité des réponses du biodétecteur développé plutôt que de celle de l'organisme utilisé. C'est une précision qu'il convenait d'apporter. Intéressons-nous à présent aux performances enregistrées dans cette étude. Celles-ci ont été établies à partir d'une large gamme de pollluants (cyanure, phénol, herbicide, métaux et hydrocarbures). D'une façon très générale, précisons

[11] : Précisons que l'ensemble des performances de détection des différentes substances testées au cours de notre étude sera considéré à partir des critères d'alarme 1 et 2 simultanément.

immédiatement que l'essentiel de l'information utile, qui permet la détection d'une pollution, est fourni par l'étude de la fréquence des EOD.

Au cours de la discussion qui va suivre, n'oublions pas de garder à l'esprit que ces résultats ont été obtenus après des intoxications qui durent au maximum 2 heures. Prolonger cette durée d'expérimentation, c'est assurément augmenter la probabilité d'obtenir un plus grand nombre de réponses. Mais nous avons délibérément limité la durée des intoxications, posant en principe qu'une réponse trop tardive est de toute façon une information inutile dans le contexte qui nous intéresse. A ce propos, précisons encore que la notion de seuil de détection devrait en toute logique être toujours considérée en rapport avec le temps de réponse, sous peine de ne rien signifier. C'est la raison pour laquelle cette discussion sera conduite sans jamais dissocier ces deux notions, lesquelles seront confrontées aux exigences de qualité des eaux brutes destinées à la consommation humaine. La référence aux valeurs définies dans des directives nationales ou internationales ne nous fournit qu'un point de repère. En aucun cas, elle n'établit la pertinence du principe d'un système biologique donné en rapport avec ses performances de détection.

4.4.1.1. Le cyanure de potassium

Dans le cas d'une pollution de l'eau par du cyanure, l'exploitation des signaux électriques délivrés par *A. albifrons* est très satisfaisante. En effet, **en moins de 30 minutes, le procédé est capable de détecter une concentration aussi faible que 35 µg.l^{-1}**. Cette valeur est inférieure aux normes française et européenne de la qualité des eaux superficielles destinées à la consommation humaine (Décret 91-257, 1991 ; *cf.* tableau IX). Selon ces directives, la limite de qualité est fixée à 50 µg.l^{-1} de cyanure.

Une telle performance de détection est obtenue uniquement avec l'étude de la fréquence des EOD délivrés par les aptéronotes. Si nous nous intéressons à présent à **la forme du signal**, nous constatons qu'à l'envisager seule, **son analyse ne semble offrir que peu ou pas d'avantages par rapport à l'étude de la fréquence des EOD**. En effet, les temps de réponse enregistrés selon nos critères d'alarme par analyse de la forme du signal sont toujours - à une exception près - supérieurs à ceux relevés par la mesure de la fréquence. En revanche, l'étude combinée de la fréquence et/ou de la forme des EOD, selon le meilleur des deux cas, apparaît intéressante à envisager. Elle contribue à abaisser les temps de détection parce qu'elle concerne un plus grand nombre de poissons qui développent une réponse positive. Il est de toute façon certain que la multiplicité des réponses étudiées engendre une sensibilité et une fiabilité accrues des systèmes de biodétection en général (van der Schalie, 1986). Ainsi si nous décidons de

déclencher une alarme lorsque 50 % des poissons au moins entraînent une réponse positive, **les performances de détection de *A. albifrons* sont tout à fait remarquables au regard de la sensibilité d'autres biodétecteurs**. L'examen de la figure 58, qui répertorie les résultats enregistrés avec d'autres systèmes d'alerte biologique, l'indique clairement. A titre comparatif et attendu que dans le domaine de la toxicologie on formule principalement les résultats sous forme de concentration létale pour 50 % des individus, nous rappellerons que les CL50-24 heures pour le cyanure sont généralement comprises entre 0,07 $mg.l^{-1}$ pour les Salmonidés (Alabaster *et al.*, 1983) et 0,1 $mg.l^{-1}$ pour les autres familles ichtyaires (Doudoroff *et al.*, 1966 ; Solbé *et al.*, 1985).

A considérer d'un peu plus près les résultats de la figure 58, il ressort que **les poissons sont visiblement les organismes aquatiques les plus sensibles au cyanure**, ce qui confirmerait l'observation d'Eisler (1991). Deux exceptions se présentent toutefois. La première est celle rencontrée avec *Pseudomonas fluorescens*, bactérie chez laquelle on évalue la consommation en oxygène (Axt, 1973). La mise en œuvre de ce principe permet de détecter 0,04 $mg.l^{-1}$ de cyanure, soit une concentration comparable à celle détectée par *A. albifrons*. Nous ne conclurons pas pour autant à une sensibilité toxicologique similaire entre ces deux types d'organismes, car le biocapteur bactérien réclame, pour révéler la présence d'une telle concentration, un temps deux fois supérieur à celui du biodétecteur à poisson électrique. Cette dernière remarque peut aussi être formulée à propos de la seconde exception fournie par les bactéries : *Nitrosomonas* sp. et *Nitrobacter* sp. (Holland et Green, 1975). Ces auteurs nous apprennent qu'une concentration de 0,04 $mg.l^{-1}$ de cyanure est suffisante pour inhiber, significativement les processus de nitrification bactérienne, mais en un peu moins de ...trois heures !

En réalité, parmi tous les résultats rencontrés dans la littérature, seule l'étude de Lewis *et al.* (1992b) décrit des performances de détection du cyanure très comparable à celle relevée dans notre étude, aussi bien en termes de concentration détectée que de temps de réponse. Ceci n'est guère surprenant, compte tenu qu'il s'agit aussi de l'étude la plus proche de la nôtre. Les auteurs utilisent pour cela 2 espèces ichtyaires électrogènes, *Gnathonemus petersi* et *Gnathonemus tamandua*, chez lesquelles ils exploitent la fréquence des décharges électriques (et uniquement cette caractéristique électrique). Fondée sur ce principe[12], la biodétection d'une concentration de 25 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure n'exige que 15 à 30 minutes. Ce qui est par contre étonnant, c'est la différence de cette performance avec les résultats obtenus par Geller (1984) qui a travaillé sur la même espèce et selon le même principe ! Cet auteur montre en effet que *G. petersi* est capable de détecter 100 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure en 240 minutes (soit une pollution 4 fois supérieure, en un temps 8 à 16 fois plus grand !). La raison d'une telle différence, quoique

[12] : Présenté en détail chapitre 1, §. 1.5.1.4.

difficile à élucider, est probablement à mettre au compte du traitement mathématique. Geller (1984) définit très précisément différents modes d'analyse des données ; il s'agit soit de la moyenne des fréquences des EOD, soit de l'étude des intervalles de silence électrique entre décharges. D'un autre côté, Lewis *et al.* (1992b) travaillent sur le nombre d'impulsions électriques émises par minute ("*Pulses Per Minute*" ou "*PPM*") et expriment les résultats à partir de moyennes calculées sur 15 minutes. Les auteurs confrontent alors les moyennes enregistrées 15 minutes avant et après l'intoxication, ce procédé étant appliqué tous les quarts d'heure pendant 1 heure. Ils établissent enfin si les valeurs sont ou non significativement différentes entre elles (avec un intervalle de confiance à 95 %). Nous déplorons que des détails supplémentaires de l'analyse des données ne soient pas précisés dans cette étude. C'est pourquoi nous nous autoriserons à émettre une petite réserve touchant les résultats avancés par Lewis et ses collaborateurs[13].

Les différences de sensibilité de la réponse de *G. petersi*, relevées entre les études de Geller (1984) et Lewis *et al.* (1992b), peuvent également trouver leur origine dans les conditions mêmes du test[14]. Précisons à ce propos que la toxicité du cyanure est amplifiée par une diminution du pH (Doudoroff, 1956 ; Eisler, 1991) ou encore de l'oxygène dissous (Alabaster *et al.*, 1983). La température de l'eau intervient aussi (Cairns et Scheier, 1963 ; Kovacs et Leduc, 1982a, 1982b ; Smith et Heath, 1979 ; Wuhrmann et Woker, 1955), ce qui se conçoit facilement étant donné que les poissons sont des organismes poïkilothermes. Ces auteurs montrent que l'influence de la température sur la toxicité du cyanure est fonction de la concentration des solutions. Mais en l'occurrence, ce facteur ne peut pas être incriminé pour expliquer les différences de sensibilité de la réponse de *G. petersi* enregistrées par Geller (1984) et Lewis *et al.* (1992b), puisqu'ils travaillent à la même température.

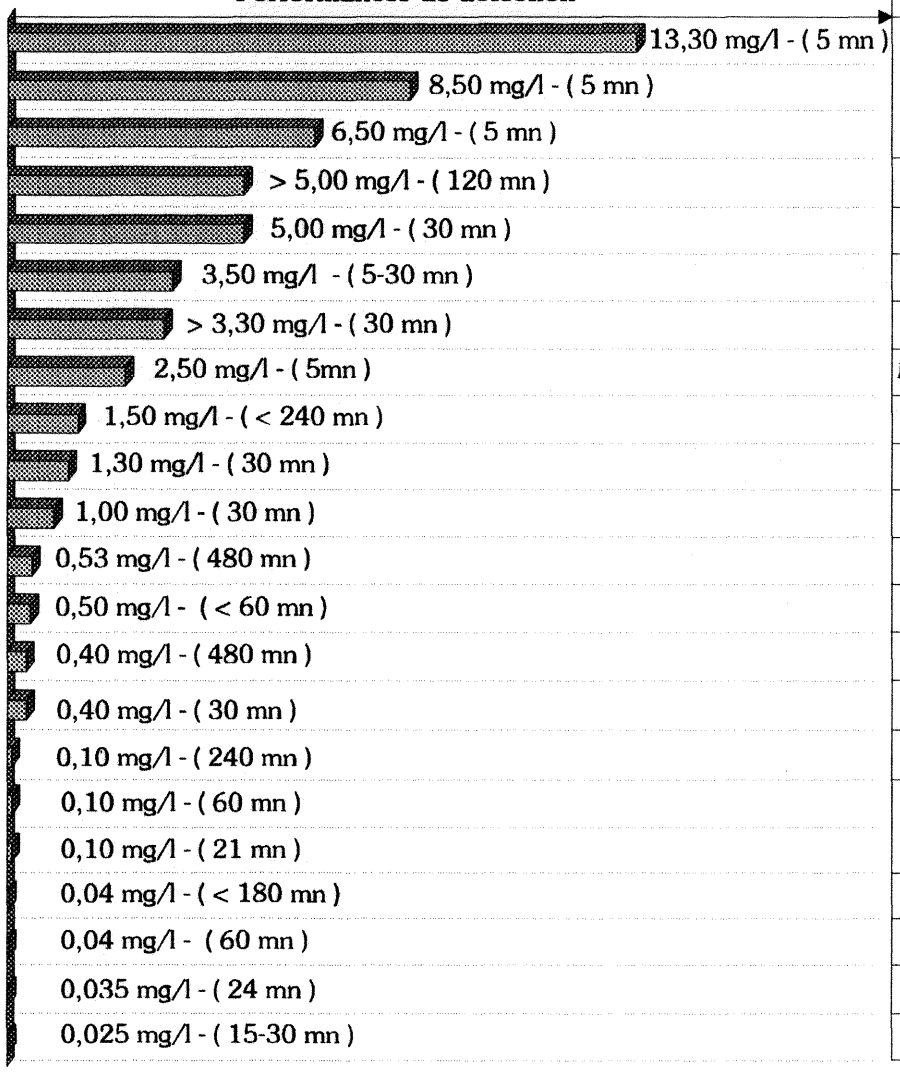
C'est l'occasion de rappeler combien ce facteur thermique est essentiel à maîtriser pour une analyse fiable de telles données. Nous savons en effet qu'il existe aussi chez *G. petersi* une dépendance de la fréquence des EOD vis-à-vis de la température[15]. A ce titre nous pouvons nous demander si la régulation thermique de 25°C ± 0,5°C mise en place par Lewis *et al.* (1992b) est suffisante face à un tel problème ? Mieux encore, le fait que la relation qui lie fréquence et température soit plus précise chez les espèces à fréquence naturellement stable (cas d'*A. albifrons*) que chez les poissons à modulation de fréquences (cas de *G. petersi*) accentue par surcroît ce problème spécifique (Toerring et Serrier, 1978).

---

[13] : Nous ne réitérerons pas ces réserves à chaque fois qu'il sera fait référence aux travaux de Lewis *et al.*, mais nous n'oublierons pas non plus de les garder à l'esprit.

[14] : Nous renvoyons pour cela le lecteur au paragraphe 1.7. (chapitre 1) qui exposait ce type de problème, bien connu des toxicologistes.

[15] : Voir chapitre 1, § 1.5.1.4..



Réactifs biologiques	Réponses étudiées	Références
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50% de la luminescence	Qureshi et coll., 1982
		Bulich et Isenberg, 1981
		Samak et Nolseux, 1981
Haematococus pluvialis	Production en oxygène	Geller et Mäckle, 1977
Biofiltre bactérien	Consommation d'oxygène	Shieh et Yee, 1985 Solyom et coll, 1976
Escherichia coli	Production de gaz carbonique	Dorward et Barlsas, 1984
Chlorella vulgaris	Inhibition de 50% de la production d'oxygène	Pandard et Vasseur, 1992
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50% de la luminescence	Chang et coll., 1981
Daphnia pulex	Inhibition de la mobilité	Geller et mäcke, 1977
Scenedesmus subspicatus	Inhibition de 50% de la production d'oxygène	Pandard et Vasseur, 1992
Selenastrum capricornutum		
Dreissena polymorpha	Mouvement valvaire	Slooff et coll., 1983
Micropterus salmoïdes	Activité respiratoire	Morgan et Kühn, 1974
Dreissena polymorpha	Mouvement valvaire	Jenner et coll., 1992
Oncorhyncus mykiss	Rhéotaxie	van Hoof, 1980
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Geller, 1984
Micropterus salmoïdes	Activité locomotrice	Morgan, 1979
	Activité respiratoire	
Nitrosomonas sp. *Nitrobacter* sp.	Inhibition de la nitrification	Holland et Green, 1975
Pseudomonas fluorescens	Consommation en oxygène	Axt, 1973
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Lewis et coll., 1992 b

Figure 58 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour le cyanure.

4.4.1.2. Le phénol

En l'absence de polluant, l'activité électrique des aptéronotes présente une remarquable régularité dans le temps. En revanche, une exposition de ces organismes à des concentrations de 1, 2,2, 4,4 et 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol induit des changements de leurs caractéristiques électriques. Nous avons pu remarquer que ces modifications bioélectriques intéressaient essentiellement la fréquence des EOD. **La plus petite concentration testée, soit 1 $mg.l^{-1}$ de phénol, permet déjà d'enregistrer des réponses chez 50 % des poissons**, ceci en considérant indifféremment la fréquence ou la forme des EOD.

Pour une évaluation réaliste de la sensibilité du biodétecteur à poisson électrique, il est intéressant de confronter nos résultats avec les limites de qualité des eaux brutes destinées à la consommation humaine (*cf.* tableau IX, Annexe III du décret français n°991-257, code de la santé publique). Nous constatons alors que la concentration de 1 $mg.l^{-1}$ de phénol détectée par les aptéronotes est dix fois supérieure à la valeur retenue dans cette annexe. Or, bien que nous n'ayons pas testé des concentrations de phénol inférieures à 1 $mg.l^{-1}$, il semblerait que cette valeur soit très proche du seuil de détection. Cette hypothèse nous est suggérée par l'étude de l'amplitude de variation des réponses électriques (principalement de la fréquence des EOD) lors des diverses intoxications au phénol. En effet, nous avions souligné que les variations sont d'autant plus marquées que les concentrations sont plus élevées. Ainsi une concentration de 1 $mg.l^{-1}$ de phénol n'était pas toujours suffisante pour provoquer un changement visuellement discernable de l'une ou l'autre des deux caractéristiques électriques. Seule l'analyse mathématique permettait alors une telle discrimination. En résumé, la concentration seuil de phénol que pouvent détecter les aptéronotes est vraisemblablement très proche de 1 $mg.l^{-1}$.

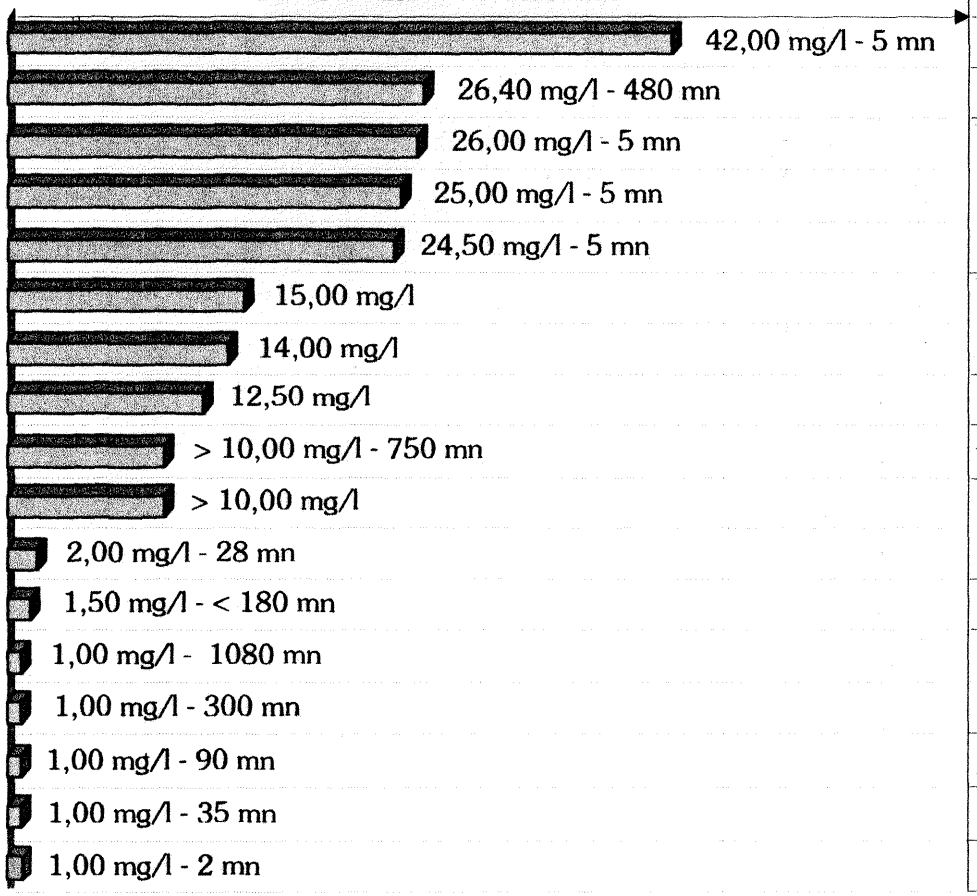
De prime abord, nous pourrions déplorer que cette valeur soit supérieure à la norme de qualité des eaux brutes. Ce serait en réalité oublier la véritable fonction des systèmes biologiques d'alerte en général qui est - rappelons-le - de nous avertir de changements brusques et relativement marqués de la qualité des eaux[16]. Par là même, leur champ d'application est essentiellement dirigé vers les pollutions de type accidentel et momentané. Dans ce contexte, la vitesse de réponse est essentielle. Ainsi, nos expériences nous ont permis d'enregistrer **des temps de réponse de 35, 8, 5 et 4 minutes, respectivement pour la détection de 1, 2,2, 4,4 et 6,8 $mg.l^{-1}$ de phénol**.

Il est intéressant de situer les performances de détection des aptéronotes par rapport à d'autres systèmes biologiques, en terme de seuils de concentration et de temps d'alerte. De l'examen de la figure 59, il ressort que le biodétecteur le plus performant pour la détection du

[16] : Se référer au paragraphe 1.8. du chapitre 1 pour davantage de détails.

phénol est celui qui utilise *Daphnia magna*. Smith et Bailey (1988), qui proposent ce système, exploitent l'activité locomotrice de ce crustacé, à partir d'enregistrements vidéo. Les images recueillies, qui traduisent la vitesse de déplacement et la position des organismes dans l'enceinte expérimental, sont digitalisées avant d'être analysées par un micro-ordinateur. Ce système, également étudié par van Hoof et ses collaborateurs (1994), permet de révéler le même seuil de concentration qu'*A. albifrons* (*i.e.* 1 $mg.l^{-1}$ de phénol) mais en 2 minutes seulement. Une telle performance de détection est en contradiction avec le résultat d'une étude de Leblanc (1980). Celui-ci mentionne en effet que la concentration seuil de phénol n'entraînant aucun effet discernable est de 2,2 $mg.l^{-1}$ chez *D. magna*. **Les daphnies exceptées, l'examen de la figure 59 révèle que les poissons sont plus sensibles à la présence de phénol que les organismes de niveau d'organisation inférieur.** Encore faut-il recourir à des types de réponses biologiques adaptées. Ainsi l'étude du comportement de préférence/évitement n'est absolument pas adéquate pour détecter de faibles quantités de phénol. En témoignent d'ailleurs les résultats rapportés par Sprague et Drury (1969), Besch et Juhnke (1971) ou encore Stott et Buckley (1979). Ces auteurs notent que des concentrations supérieures à 10 $mg.l^{-1}$ ne sont pas évitées par *Oncorhynchus mykiss*, *Cyprinus carpio* et *Phoxinus phoxinus*. Giattina et Garton (1983), qui ont réalisé une synthèse très complète sur ce type de réponse, le confirment sans ambiguïté.

En réalité, il paraît préférable d'évaluer chez les poissons leurs activités locomotrices et respiratoires ou encore leur faculté électrogène pour la détection du phénol. Ainsi Morgan (1979) et Morgan et Kühn (1974) montrent que *M. salmoïdes* est capable de détecter 1 $mg.l^{-1}$ de phénol, en 300 ou 1080 minutes, suivant que l'on exploite respectivement son activité locomotrice ou respiratoire. De même, le suivi du rythme respiratoire chez *O. mykiss* permet de révéler 2 $mg.l^{-1}$ de phénol en 28 minutes (Evans et Wallwork, 1988). Chez les poissons électriques, les performances de détection du phénol sont très satisfaisantes puisqu'une concentration de 1 $mg.l^{-1}$ de phénol est détectée en 90 minutes par *G. petersi* (Kay et Lewis, 1993 ; Lewis *et al.*, 1990) et en 35 minutes par *A. albifrons*. En revanche, la pollution par le phénol doit être très sévère pour pouvoir être détectée par des biodétecteurs de type "*Musselmonitor*®" et "*Microtox*". En effet, le niveau d'alarme est atteint que lorsque ces concentrations se rangent entre 14 et 26,4 $mg.l^{-1}$ pour les moules (de Zwart *et al.*, 1993 ; Jenner *et al.*, 1992 ; Slooff *et al.*, 1983) et entre 24,5 et 42 $mg.l^{-1}$ avec *Photobacterium phosphoreum* (Bulich et Isenberg, 1981 ; Chang *et al.*, 1981 ; Qureshi *et al.*, 1984 ; Samak et Noiseux, 1981). A noter que de telles quantités de phénol dans les eaux de surface ne doivent se rencontrer que lors de pollutions très exceptionnelles ! Enfin, et toujours à titre comparatif, l'étude de la dénitrification chez *Nitrosomonas* sp. ou *Nitrobacter* sp. permet de révéler une concentration de seulement 1,5 $mg.l^{-1}$, en un temps inférieur à 180 minutes (Holland et Green, 1975).



Réactifs biologiques	Réponces étudiées	Références
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50% de la luminescence	Samak et Noiseux, 1981
Dreissena polymorpha	Mouvement valvaire	Slooff et coll., 1983
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50% de la luminescence	Chang et coll., 1981
		Bulich et Isenberg, 1981
		Qureshi et coll., 1984
Dreissena polymorpha	Mouvement valvaire	de Zwart et coll., 1993
		Jenner et coll., 1992
Cyprinus carpio	Préférence / Evitement	Besch et Juhnke, 1971
Phoxinus phoxinus		Stott et Buckley, 1979
Oncorhynchus mykiss		Sprague et Drury, 1969
	Activité respiratoire	Evans et Wallwork, 1988
Nitrosomonas sp. *Nitrobacter* sp.	Inhibition de la nitrification	Holland et Green, 1975
Micropterus salmoïdes	Activité respiratoire	Morgan et Kühn, 1974
	Activité locomotrice	Morgan, 1979
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Kay et Lewis, 1993 Lewis et coll., 1990
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Daphnia magna	Activité locomotrice	Smith et Bailey, 1988

Figure 59 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour le phénol.

4.4.1.3. L'atrazine

Insistons une fois de plus sur le fait que nous avons utilisé de l'ATRAPHYT EL pour nos tests et sur l'extrême difficulté de dosage de cet herbicide, laquelle nous contraint de raisonner à partir des concentrations nominales. Il est vrai que cette pratique est courante dans beaucoup d'études, quand bien même la substance testée n'offre pas de difficulté particulière de dosage.

L'analyse de nos résultats soulignait que plus les concentrations en atrazine augmentent, plus les réponses positives sont marquées et nombreuses. Ainsi **des concentrations d'atrazine de 100, 250 et 500 µg.l^{-1} sont respectivement détectées en 81, 68 et 16 minutes par *A. albifrons*.** De tels résultats ne sont pourtant pas réellement satisfaisants au regard de la valeur seuil tolérée pour l'atrazine dans les eaux brutes destinées à la consommation humaine (*cf.* annexe III - décret français n°91-257). La limite de qualité est en effet fixée à 0,1 µg.l^{-1} d'atrazine, valeur également retenue dans le Journal Officiel des Communautés Européennes (*cf.* tableau IX). Ce niveau de contamination n'appartient pas au domaine de la toxicité aiguë, qui est normalement le champ d'application des biodétecteurs en général. Voilà qui peut atténuer dans une certaine mesure les critiques que nous pourrions être amenés à formuler sur les niveaux de sensibilité des détecteurs biologiques, à l'égard de l'atrazine. En effet, aucun des biodétecteurs ou biocapteurs actuellement connus n'est capable d'atteindre un tel niveau de sensibilité. En témoigne d'ailleurs l'examen de la figure 60, qui répertorie les seuils de temps et de concentrations pour la détection de l'atrazine, au travers de différents procédés et réactifs biologiques.

L'action herbicide se développe par inhibition des processus photosynthétiques (Stratton, 1984). Aussi il est normal que **les systèmes les plus sensibles pour la détection de l'atrazine sont ceux qui font appel à des organismes phototrophiques.** C'est le cas des biocapteurs qui exploitent le phénomène de fluorescence algale. Par exemple, Schmitz *et al.* (1994) mentionnent qu'une inhibition significative de la fluorescence se présente déjà chez *Chlamydomonas reinhardii*, lorsque la concentration atteint 0,85 µg.l^{-1} d'atrazine. Néanmoins, nous déplorons qu'aucune référence sur le temps ne soit donnée, s'agissant là d'une information essentielle à la caractérisation des performances d'un biodétecteur.

La même réponse biologique est exploitée par Benecke *et al.* (1982), mais sur d'autres réactifs biologiques, qui sont *Scenedesmus* sp. et *Chlorella* sp.. Ceux-ci détectent une concentration de 32,5 µg.l^{-1} d'atrazine, après 5 minutes de contact seulement. Aussi apparaît-il intéressant de recourir à une telle réponse biologique pour révéler la présence de cet herbicide dans l'eau. En tout cas, elle l'est davantage que l'estimation de l'inhibition de la production

d'oxygène, chez de mêmes organismes phototrophiques. Plus précisément, notons que des CI50-30 mn[17] de 100 et 200 µg.l^{-1} d'atrazine ont été enregistrées chez *Chlorella vulgaris* et *Selenastrum capricornutum* respectivement (Pandard et Vasseur, 1992 ; Pandard et Rawson, 1993 ; Pandard *et al.*, 1993). Par ailleurs, l'évaluation de la photosynthèse microbienne, appréhendée à partir d'événements métaboliques tels que le transfert d'électrons chez *Synechoccocus* sp., permet de révéler des concentrations d'atrazine comprises entre 33 et 50 µg.l^{-1} d'atrazine (Schmitz *et al.*, 1994 ; van Hoof *et al.*, 1992). Ces niveaux de détection sont satisfaisants dans la mesure où ils correspondent à ce qui pourrait se présenter dans le milieu naturel. A l'encontre de cette remarque, Roberts *et al.* (1990) affirment qu'il n'y a pas d'effet toxique de l'atrazine sur les bactéries et les protozoaires aux concentrations rencontrées *in situ*.

Par ailleurs, le seuil de détection de l'atrazine enregistré avec des moules est relativement élevé. Ainsi l'étude de l'activité valvaire chez *Dreissena polymorpha* ou chez *Unio pictorum* permet de recueillir une réponse à partir d'une concentration de 500 µg.l^{-1} d'atrazine[18] (Jenner *et al.*, 1992).

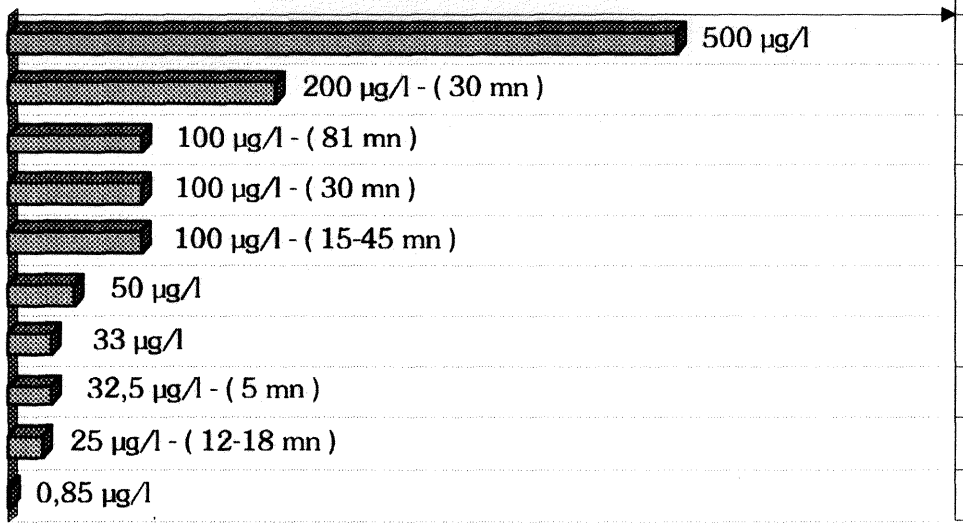
Enfin, les résultats enregistrés dans notre étude montre que le seuil de concentration révélée par *A. albifrons* est très proche de 100 µg.l^{-1} d'atrazine. Cette détection intervient au terme de 81 minutes de contact poisson-polluant. A titre comparatif, notons que *G. petersi* est capable de détecter une même concentration d'atrazine, mais en 15 à 45 minutes (Lewis *et al.*, 1993), soit un temps de 2 à 5 fois inférieur. Ce dernier résultat ne s'accorde pas avec celui obtenu par Kunze (1989), qui a travaillé également sur la fréquence des EOD de *G. petersi*. Cet auteur signale que cette espèce est capable de détecter 25 µg.l^{-1} d'atrazine après 12 à 18 minutes d'exposition.

Par ailleurs, il est curieux de remarquer qu'hormis les travaux sur les poissons électriques, aucune étude n'a été réalisée avec l'atrazine pour estimer les performances des ichtyodétecteurs. Nous pensons que les "contre-performances" attendues de telles études n'encouragent bien entendu pas les auteurs à les entreprendre. D'ailleurs à titre de remarque, notons que les herbicides sont nettement moins toxiques pour les poissons que les insecticides (Johnson, 1968). Pour s'en persuader, rapportons un résultat de Neskovic *et al.* (1993), qui ont calculé une CL50-48 heures de 41 mg.l^{-1} d'atrazine chez *Cyprinus carpio*. Malgré tout, il semblerait que d'une façon générale, les triazines soient plus toxiques pour les poissons que pour les daphnies (Marchini *et al.*, 1988).

---

[17] : C'est à dire, la Concentration qui Inhibe 50 % de la production d'O_2 en 30 minutes.

[18] : A nouveau, nous pouvons déplorer qu'aucune référence sur le temps de détection ne soit mentionnée.



Réactifs biologiques	Réponses étudiées	Références
Dreissena polymorpha *Unio pictorum*	Mouvement valvaire	Jenner et coll., 1992
Selenastrum capricornutum	Inhibition de 50 % de la production d'oxygène	Pandard et Vasseur, 1992
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Chlorella vulgaris	Inhibition de 50 % de la production d'oxygène	Pandard et Rawson, 1993 Pandard et coll., 1993
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Lewis et coll., 1993
Synechococcus sp.	Transfert d'électrons	van Hoof et coll., 1992 Schmitz et coll., 1994
Scenedesmus sp. *Chlorella* sp.	Inhibition de la fluorescence	Benecke et coll., 1982
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Kunze, 1989
Chlamydomonas reinhardii	Inhibition de la fluorescence	Schmitz et coll., 1994

Figure 60 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour l'atrazine.

4.4.1.4. Le trichloroéthylène

Les expériences réalisées en laboratoire ont montré que l'activité électrique des aptéronotes est perturbée en présence de trichloroéthylène. Cela concerne essentiellement la fréquence des EOD, la forme des signaux étant peu ou pas influencée en présence de cet hydrocarbure chloré. Au cours de ces expériences, nous avons établi que **des concentrations de 0,6, 1 et 2 mg.l^{-1} entraînaient des changements significatifs de la fréquence et/ou de la forme des EOD au terme de 104, 20 et 9 minutes d'exposition.** La plus petite concentration testée, soit 0,6 mg.l^{-1}, est tout juste suffisante pour répondre simultanément aux 2 critères d'alarme. Elle est néanmoins supérieure à la valeur de 30 µg.l^{-1} de trichloroéthylène recommandée par l'O.M.S. (*cf.* tableau IX).

Comme la fonction première des biodétecteurs est de donner l'alerte en cas de pollution aiguë, la détection d'une concentration de 0,6 mg.l^{-1} de trichloroéthylène correspond à un niveau de sensibilité correct. Cette détection intervient après 104 minutes d'exposition du poisson au solvant.

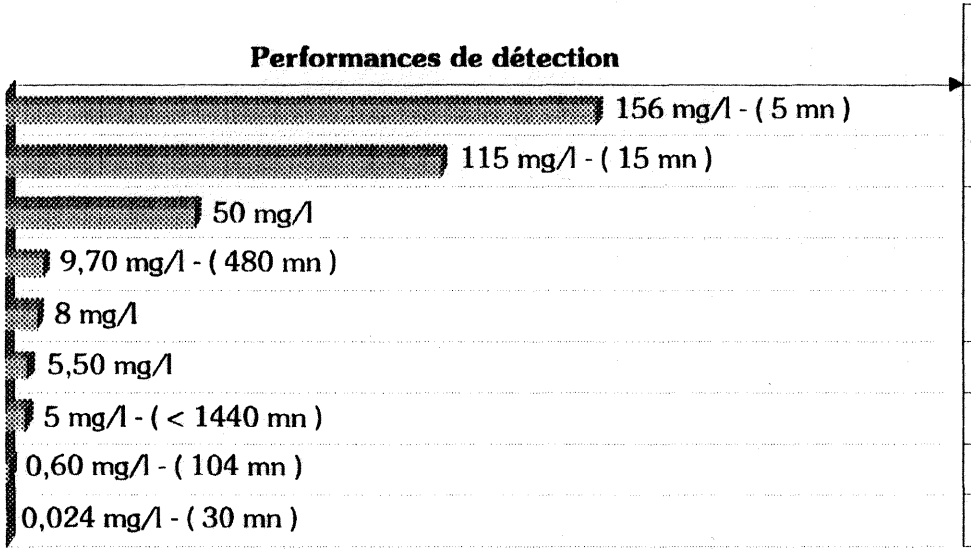
Dans la définition des protocoles expérimentaux, nous avions estimé qu'il n'était pas pertinent de prolonger l'intoxication au-delà de 2 heures, une réponse trop tardive devenant une information inutile. Il paraît difficile d'apprécier dans le cadre d'expériences réalisées en laboratoire si ce temps de 104 minutes nécessaire à la détection de 0,6 mg.l^{-1}, est satisfaisant ou non. Cette approche serait plus pertinente dans le cadre d'essais réalisés *in situ*, où le schéma d'aménagement de la rivière serait connu[19].

De toute façon, il est certain que le délai d'apparition d'une réponse est d'une importance opérationnelle considérable (Price, 1979). A ce titre, les temps de réponses de 20 et 9 minutes obtenus pour des intoxications à 1 et 2 mg.l^{-1} de trichloroéthylène respectivement, prêtent beaucoup moins à discussion. Il s'agit là d'une détection relativement rapide, intéressant des concentrations susceptibles d'être rencontrées effectivement dans les eaux de surface.

En conséquence, **les aptéronotes peuvent être qualifiés de réactifs biologiques adéquats à la détection de cet hydrocarbure chloré**, *a fortiori* si nous confrontons les performances d'*A. albifrons* à celles exhibées par d'autres réactifs et procédés biologiques (*cf.* figure 61).

---

[19] : Nous renvoyons pour cela le lecteur aux paragraphes 1.8. (chapitre 1) et 4.2.5. (chapitre 4).



Réactifs biologiques	Réponses étudiées	Références
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50 % la luminescence	de Zwart et Slooff, 1983
Dreissena polymorpha	Mouvement valvaire	Slooff et coll., 1983 Jenner et coll., 1992 de Zwart et coll., 1993
Lepomis macrochirus	Activité respiratoire	Parson et coll., 1990
Oncorhynchus mykiss		Slooff, 1979
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Lepomis macrochirus	Activité respiratoire	Diamond et coll., 1990

Figure 61 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour le trichloroéthylène.

En fait, seul un biodétecteur affiche un seuil de détection inférieur. Il s'agit du *"Biosensor®"*, qui exploite le comportement ventilatoire du crapet arlequin, *Lepomis macrochirus* (Diamond *et al.*, 1990). Une concentration aussi petite que 24 $\mu g.l^{-1}$ peut être détectée en 30 minutes par ce procédé. Parson *et al.* (1991) modèrent ce résultat en précisant que la réponse est révélée visuellement, ce qui constitue à notre avis à un procédé subjectif. Ces auteurs rapportent néanmoins qu'une amplification de la fréquence des mouvements ventilatoires se présente sans aucune ambiguïté lorsque la concentration de trichloroéthylène atteint 5,5 $mg.l^{-1}$. Par ailleurs, il semblerait que le *"Biosensor®"* affiche une meilleure sensibilité au trichloroéthylène avec *L. macrochirus* plutôt qu'avec *O. mykiss* (Slooff, 1979).

Concrètement, si le crapet arlequin s'avère être un réactif biologique sensible à ce solvant, rappelons que sa CL50-24 heures est comprise entre 68 et 100 $mg.l^{-1}$ (Buccafuso *et al.*, 1981). Cette gamme de concentrations semble relativement élevée. Elle le paraîtra d'autant plus, d'ailleurs, qu'on la comparera aux 22 $mg.l^{-1}$, qui constituent la valeur de la CL50-24 heures des daphnies (Leblanc, 1980). Voilà qui laisserait présager de la part de *D. magna,* des performances de détection encore plus satisfaisantes que celles obtenues avec le crapet arlequin. Cependant, nous n'avons trouvé aucune étude dans la littérature pouvant infirmer ou confirmer une telle hypothèse.

Notons au terme de cette étude comparative que **les moules ou les bactéries s'avèrent les réactifs biologiques les moins sensibles au trichloroéthylène.** Nous n'en voulons pour preuve que la performance de *Dreissena polymorpha*, qui n'est capable de révéler la présence de 9,7 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène qu'au terme de 8 heures d'exposition (Slooff *et al.*, 1983). C'est là un niveau de réponse peu satisfaisant, aussi bien en sensibilité qu'en rapidité de détection. Enfin le "*Microtox*", qui exploite le phénomène de bioluminescence bactérienne, détecte des concentrations de trichloroéthylène si élevées qu'il paraît très improbable qu'elles puissent se présenter dans le milieu naturel. (Les CE50-5 minutes ont été estimées entre 156 et 164 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène ! [de Zwart et Slooff, 1983]).

4.4.1.5. Le chrome hexavalent

L'analyse des résultats montre une fois encore que l'étude de la forme des EOD ne permet de recueillir qu'un très petit nombre de réponses. En réalité, les différentes pollutions de l'eau par le chrome sont principalement révélées par la variation de la fréquence des décharges électriques des aptéronotes.

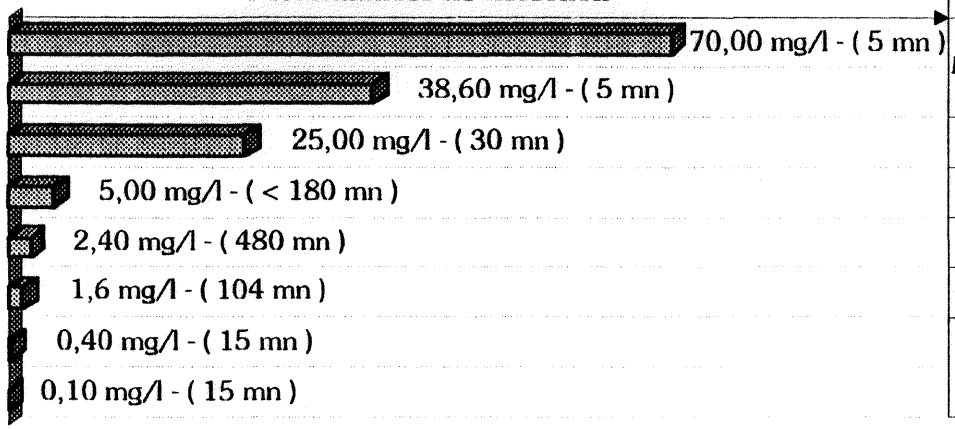
Nous avons pu constater que **les poissons électriques détectent des concentrations de 1,6, 2,7 et 3,4 mg.l^{-1} de chrome (VI), respectivement après 104, 6 et 5 minutes de contact.** A la différence des autres intoxications, on remarque avec surprise que l'aggravation de la pollution ne se répercute pas sur l'amplitude de la réponse. En effet, la chute de fréquence, qui est globalement la réponse-type, n'est jamais que de 2 à 3 Hz, quelle que soit la quantité de chrome présente dans le milieu. D'un autre côté, une modification du rapport H2 intervient chez 2 poissons, à 45 et 49 minutes précisément, lors d'une exposition à 0,75 mg.l^{-1} de Cr (VI). Avec 1,6 mg.l^{-1}, nous enregistrions déjà 75 % de réponses positives. Ceci nous suggère que le seuil de détection des aptéronotes devrait se situer entre ces 2 valeurs, 0,75 et 1,6 mg.l^{-1} de chrome hexavalent, en considérant bien entendu nos 2 critères d'alarme.

Ce niveau de détection du chrome par les aptéronotes est de toute façon insuffisant pour satisfaire aux exigences de qualité des eaux brutes destinées à la consommation humaine, selon les directives nationales et internationales (*cf.* tableau IX). Encore faudrait-il préciser que cette limite de qualité intéresse le chrome total et qu'elle est de 50 µg.l^{-1}. En réalité, si nous nous référons à nouveau aux seuils de détection du chrome enregistrés avec d'autres procédés et réactifs biologiques, nous remarquons qu'aucun d'entre eux n'est à même de répondre à de telles exigences de sensibilité.

Soulignons qu'**une étude comparative des différents systèmes biologiques pour la détection du chrome est particulièrement favorable aux poissons électriques**, comme en témoignent les résultats relevés dans la littérature (*cf.* figure 62). Ainsi dans le meilleur des cas, *G. petersi* est capable de détecter 0,1 mg.l^{-1} de chrome hexavalent, après 15 minutes d'exposition (Kay et Lewis, 1993). Cependant une étude plus récente, réalisée par la même équipe de chercheurs, ne mentionnait aucune réponse pour des concentrations inférieures à 0,4 mg.l^{-1} de Cr (VI) (Lewis *et al.*, 1994). Il existe donc entre ces deux résultats un facteur de variation égal à 4, que nous ne sommes pas en mesure d'expliquer.

Au cours de nos propres tests, les premières réponses développées par les aptéronotes apparaissent pour une concentration légèrement supérieure (*i.e.* 0,75 mg.l^{-1} de chrome hexavalent), à celle que rapportent ces auteurs. Rappelons que nous nous sommes attachés à définir deux critères d'alarme de façon à assurer une bonne crédibilité des réponses enregistrées. A partir de ce mode d'analyse, une concentration de chrome égale à 1,6 mg.l^{-1} est détectée en 104 minutes par *A. albifrons*, sans aucune ambiguïté. Nous ne réitérerons pas ici les remarques formulées précédemment[20] à propos des temps de détection, elles restent toujours vraies, quelle que soit la nature de la pollution.

[20] : Voir paragraphe 4.4.1.4.



Réactifs biologiques	Réponses étudiées	Références
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de 50 % de la luminescence	Bulich et Isenberg, 1981
		Qureshi et coll., 1984
Biofiltre bacterien	Consommation d'oxygène	Shieh et Yee, 1985
Nitrosomonas sp. *Nitrobacter sp.*	Inhibition de la nitrification	Holland et Green, 1975
Aedes aegypti	Inhibition de la photomigration	Simonet et coll., 1978
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Gnathonemus petersi	Fréquence des EOD	Lewis et coll., 1993
		Kay et Lewis,1993

Figure 62 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour le chrome hexavalent.

En tout état de cause, si ce temps s'avérait trop long, il faudrait alors des niveaux d'intoxications plus aigus, pour obtenir une détection plus précoce. C'est le cas pour les concentrations de 2,7 et 3,4 $mg.l^{-1}$ de chrome que nos poissons ont respectivement détectées au terme de 6 et 5 minutes d'exposition. Ces résultats sont encore plus satisfaisants si l'on précise que le chrome est loin d'être le plus toxique des métaux vis-à-vis des poissons (Buhl et Hamilton, 1991).

En pratique, **les performances de détection relevées avec les poissons électriques ne sont pas égalées par les autres biodétecteurs ou biocapteurs,** du moins dans les cas mentionnés dans la littérature. Seule peut-être l'étude de l'inhibition de la photomigration d'*Aedes aegypti* apporte un seuil de détection du chrome comparable au nôtre, soit 2,4 $mg.l^{-1}$ (Simonet *et al.*, 1978). Mais ce résultat est nettement moins satisfaisant si nous l'envisageons en termes de rapidité de détection, puisqu'il est nécessaire d'attendre 8 heures pour obtenir une réponse. Concernant le chrome (VI), les autres résultats rencontrés dans la littérature sont exclusivement obtenus avec des réactifs bactériens (Bulich et Isenberg, 1981 ; Holland et Green, 1975 ; Qureshi *et al.*, 1984 ; Shieh et Yee, 1985). La sensibilité et la rapidité des réponses sont alors fonction de l'espèce bactérienne et du principe de mesure développé, comme le montre la figure 62. A ce propos, notons la mauvaise sensibilité de *Photobacterium phosphoreum* vis-à-vis du chrome, espèce chez laquelle on enregistre des CE50-5 minutes qui varient selon les auteurs entre 38,6 $mg.l^{-1}$ (Qureshi *et al.*, 1984) et 70 $mg.l^{-1}$ (Bulich et Isenberg, 1981).

4.4.1.6. Le gazole

Au cours des différents tests, les concentrations de gazole mesurées par spectrophotométrie infrarouge se sont rapidement amenuisées au cours du temps. Ce phénomène est probablement dû à une volatilisation partielle du produit, associée à un phénomène d'adsorption, en particulier au niveau des parois. A ce propos, la réalisation de notre unité expérimentale en PVC est dans une certaine mesure critiquable. Il est vrai que pour minimiser cette adsorption des produits chimiques, la préférence est généralement donnée à des matériaux chimiquement inertes, tels que le verre (Parrish, 1985). Mais en contre partie, ces substances compliquent, et même limitent, la conception des enceintes expérimentales. C'est la raison pour laquelle nous avons malgré tout choisi d'utiliser du PVC.

Il faut également insister sur la faible solubilité de ce polluant dans l'eau, ce qui complique encore la réalisation de telles études toxicologiques. Aussi préconise-t-on parfois le

recours à des préparations de "fractions solubles dans l'eau"[21] (Anderson *et al.*, 1974). Nous avons cependant préféré un mélange direct du gazole dans l'eau, de façon à nous replacer dans les conditions d'une pollution accidentelle et prendre en compte la fraction insoluble (pellicule de surface et gouttelettes en émulsion). A ce propos, il est important de souligner l'efficacité du bac de brassage. En effet, nous estimons visuellement que le mélange hydrocarbure-eau est correctement réalisé. Les résultats des analyses tendent d'ailleurs à le prouver, en révélant une diminution logique et relativement régulière des concentrations de gazole en fonction du temps. Il est probable que la technique de prélèvement des échantillons d'eau y contribue aussi. Rappelons que les prélèvements ont été effectués, non pas à la sortie des bacs de contention comme ce fut le cas général, mais directement dans le volume d'eau où se tiennent les poissons.

Mais l'ensemble de ces considérations démontre combien il est délicat de comparer les résultats de tests différents et dont les protocoles expérimentaux sont toujours dissemblables. Plus encore, la toxicité du gazole moteur est fonction de la composition de cet hydrocarbure, auquel on adjoint très souvent des additifs. Ces derniers peuvent interférer sur la toxicité globale du produit. Cette donnée supplémentaire nous suggère beaucoup de prudence avant d'entreprendre une quelconque étude comparative avec ces produits.

Lors des 3 expériences réalisées avec le gazole moteur, nous avons présenté nos résultats en se basant sur des gammes de concentrations mesurées. Cette méthode a été préférée à celle consistant à calculer une concentration moyenne, comme cela ait fait parfois (Poirier *et al.*, 1986). Mais notre choix, qui nous paraît plus représentatif des conditions toxiques réellement appliquées aux organismes, ne facilite pas l'interprétation des résultats, ainsi que leur confrontation à d'autres études.

Les 3 gammes de concentrations testées, soit (1,9 à 18,4 mg.l^{-1}), (6,5 à 45 mg.l^{-1}) et (20,3 à 89 mg.l^{-1}), entraînent des pourcentages de réponses toujours supérieurs ou égaux à 50 %, quelle que soit la caractéristique électrique considérée. Cette observation diverge des résultats précédemment cités, où nous déplorions généralement le petit nombre de réponses obtenus avec l'étude de la forme des EOD.

En revanche, les meilleurs temps de détection du gazole sont toujours enregistrés par l'analyse de la fréquence plutôt que par l'étude de la forme des EOD. A ce titre, **il pourrait être intéressant de considérer les réponses données par la forme du signal comme des confirmations d'alarme.**

[21] : On parle de WSF ou "*Water-Soluble Fractions*".

Toujours en ce qui concerne les temps de détection, au cours de l'expérience 2, l'étude de deux cas avaient montré l'apparition de réponses paradoxalement plus tardives dans la gamme de 6,5 à 45 mg.l^{-1} de gazole qu'avec des concentrations inférieures (*i.e.* de 1,9 à 18,4 mg.l^{-1}). Pour expliquer ce résultat surprenant, nous ne pouvons en fait que formuler des hypothèses :

- Il est probable qu'un mauvais brassage de l'eau ait conduit à l'obtention de zones inégalement polluées.

- Les réponses tardives des 2 poissons pourraient aussi être dues à une résistance plus marquée de ces individus vis-à-vis de changements environnementaux. C'est là un sujet de discussion essentiel, que nous traiterons ci-après en détail.

- Enfin, au cours de cette expérience, nous soulignions qu'une légère augmentation de la température de l'eau était survenue juste avant le déversement du polluant. Bien évidemment, cela s'est immédiatement répercuté par une hausse des fréquences des EOD et par là-même a retenti sur les limites d'alarme dynamiques. En effet, plus la stabilité des caractéristiques électriques durant la phase de standardisation est grande, plus les limites d'alarme inférieure et supérieure sont proches l'une de l'autre, et plus la détection d'un comportement électrique anormal est précoce. Aussi cette élévation thermique a-t-elle contribué à un éloignement des 2 limites d'alarme. Cette hypothèse pourrait expliquer les mauvaises performances enregistrés chez ces 2 poissons comparativement à celles des aptéronotes intoxiqués avec de plus faibles concentrations de gazole. Mais alors pourquoi le phénomène ne s'observe-t-il pas dans l'ensemble des sujets testés ?

Il est probable que plusieurs des hypothèses émises ci-dessus contribuent simultanément aux résultats enregistrés. Cependant nous montrions que si les temps de détection ne variaient pas en fonction inverse des concentrations, comme il était raisonnable de l'attendre, en revanche l'amplitude des réponses était bien, elle, fort logiquement proportionnelle à la gravité des intoxications. L'antinomie qui éclate ainsi entre des réponses de plus en plus marquées et des temps de détection qui ne diminuent pas quand l'intoxication s'aggrave, pourrait bien cependant trouver une voie d'explication du côté de l'analyse mathématique des données. Nous y reviendrons.

En dépit du paradoxe signalé, il reste patent qu'à partir des 2 critères d'alarme, **les trois gammes de concentrations testées, soit (18,4 à 1,9 mg.l^{-1}), (45 à 6,5 mg.l^{-1}) et (89 à 20,3 mg.l^{-1}) permettent d'enregistrer des réponses au terme de 17, 24 et 9 minutes**

respectivement. Nous insistions aussi sur l'homogénéité du sens de la réponse pour la première caractéristique électrique étudiée, le gazole provoquant toujours une **chute de la fréquence**.

Les temps de réponse sont tout à fait corrects dans le cadre d'une détection de pollution *in situ*. Mais ces quantités de gazole sont relativement élevées, quand bien même elles pourraient accidentellement se présenter. Le décret français n°91-257 fixe comme limite de qualité des eaux brutes destinées à la consommation humaine la valeur d'1 $mg.l^{-1}$ d'hydrocarbures dissous (*cf.* tableau IX). La valeur limite impérative de l'annexe I de ce même décret est de 0,2 $mg.l^{-1}$ d'hydrocarbures. Précisons que pour les réponses les plus tardives, nous ne savons pas si c'est uniquement la concentration mesurée au départ qui permet d'enregistrer la réponse ou bien si c'est l'exposition à la gamme entière qui y participe.

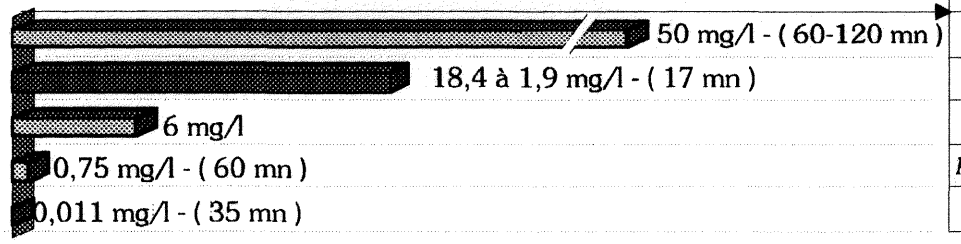
Si nous nous référons à présent à la littérature, nous remarquons qu'il existe en réalité peu d'études qui se soient attachées à définir les performances de biodétecteurs ou biocapteurs vis-à-vis des hydrocarbures (voir figure 63).

A titre d'exemple, notons cependant que l'évaluation de l'inhibition de la luminescence (CE51%-60 mn) chez *P. phosphoreum* permet de détecter 0,75 $mg.l^{-1}$ d'hydrocarbures (Chevillion, 1994).

Par ailleurs, *Mytilus edulis* répond par une variation de son activité valvaire lorsque la concentration en hydrocarbures atteint 6 $mg.l^{-1}$ (Kramer *et al.*, 1989). On ne précise cependant pas le temps nécessaire au recueil de telles réponses.

Besch *et al.* (1977) rapportent que la rhéotaxie de *Cyprinus carpio* est perturbée 60 à 120 minutes après le déversement de 50 $mg.l^{-1}$ d'hydrocarbures. Enfin un résultat intéressant est enregistré par Evans et Wallwork (1988), qui mentionnent déjà une variation des mouvements respiratoires chez *O. mykiss*, après 35 minutes d'exposition à 11 $\mu g.l^{-1}$ d'hydrocarbures.

Terminons ce chapitre en soulignant que de telles études comparatives sont délicates à mener et le sont d'autant plus qu'elles intéressent des polluants tels que les hydrocarbures. Aussi toutes ces informations n'ont-elles en réalité qu'une valeur indicative et ne peuvent être raisonnablement confrontées les unes aux autres, sans beaucoup de prudence.



Réactifs biologiques	Réponses étudiées	Références
Cyprinus carpio	Rhéotaxie	Besch et coll., 1977
Apteronotus albifrons	Fréquence et forme des EOD	Cette étude
Mytilus edulis	Activité valvaire	Kramer et coll., 1989
Photobacterium phosphoreum	Inhibition de la luminescence	Chevillon, 1994
Oncorhynchus mykiss	Activité respiratoire	Evans et Wallwork, 1988

Figure 63 : Echelle de sensibilité toxicologique interspécifique pour les hydrocarbures.

4.4.2. Fiabilité et crédibilité de l'information collectée

Avant d'entreprendre toute discussion sur ce thème, il est nécessaire de rappeler la distinction que nous faisons dans cette étude, entre les termes de fiabilité d'une part et de crédibilité d'autre part. Le premier fait référence au problème des "faux négatifs". **Un système n'est pas fiable, s'il n'avertit pas de la présence d'une pollution.** C'est une notion à relier à la sensibilité du système (un détecteur idéalement fiable détecte toutes les pollutions parce qu'il est idéalement sensible). Par opposition, **un biodétecteur n'est pas crédible s'il déclenche une alarme sans raison.** On envisage ici le problème des "faux positifs". C'est autour de ces deux notions que nous allons articuler notre discussion. Débutons d'ailleurs immédiatement ce chapitre en envisageant les fausses alarmes que nous avons rencontrées au cours des divers essais toxicologiques, réalisés avec 6 substances différentes.

Nous pouvons formuler plusieurs hypothèses qui expliqueraient l'origine de ces faux positifs. La première intéresserait directement - semble-t-il - le comportement électrique d'*A. albifrons*. A ce propos, nous insistions tantôt[22] sur le fait que la régularité de l'activité électrique de cette espèce pouvait être de façon stochastique perturbée par des signaux d'information. Ces derniers correspondent à des élévations de la fréquence et on en distingue généralement deux types. Le premier (désigné par le terme anglais "*chirp*") est une augmentation de 10 à 30 % de la fréquence sur une durée de 20 à 100 ms (Black-Cleworth, 1970 ; Bullock, 1969 ; Hopkins, 1977 ; Scheich et Bullock, 1974). Le second type quant à lui (dont la dénomination anglaise est "*spike*") correspond aussi à une élévation de la fréquence, mais de 2 % seulement et sur une durée de 0,1 à 100 secondes (Erskine *et al.*, 1966). En conséquence, **ces élévations intempestives de la fréquence perturbent la régularité coutumière du nombre d'impulsions électriques émises par seconde.** Pour parer à ces accidents de fréquence, plusieurs procédures ont été adoptées, la principale étant de **travailler sur des limites d'alarmes dynamiques.**

Il faut savoir à ce propos, comme le signifiaient très justement Gruber et Cairns (1981), que la plupart des méthodes statistiques qu'on croirait pouvoir employer sont inappropriées dans ce domaine d'étude. La raison très simple en est que les analyses statistiques s'appliquent à des séries de données normalement distribuées, dont les valeurs sont indépendantes les unes des autres. Or dans le cas très général des biodétecteurs (ou biocapteurs), la valeur d'un paramètre recueilli au temps (t) dépend le plus souvent de celui enregistré au temps (t-1). Cette remarque s'applique d'ailleurs tout particulièrement aux poissons électriques. En effet, la fréquence d'un poisson sur une période de temps (p) dépend très étroitement de la fréquence enregistrée durant la période précédente (p-n, avec n = 1), les fréquences ne variant pas au

[22] : Chapitre 2, §. 2.2.4.4.

hasard mais se suivant sans discontinuité. Aussi est-on conduit à considérer chaque organisme comme son propre témoin, et les auteurs analysent souvent les données recueillies au temps (t) en les confrontant au temps (t-x). On définit alors des données de référence (*"the baseline"*), qui seront traitées de façon soit statique (*"the static baseline approach"*), soit dynamique (*"the time series approach"*).

Dans notre étude, les limites d'alarmes sont calculées en tenant compte de l'**historique des variations précédentes** et donc des éventuels pics de fréquence. Pour davantage de crédibilité encore, **un procédé original de calcul de rang, de déviation et de degré** a été mis en place pour chaque valeur recueillie. C'est alors la valeur des degrés qui définit si une situation d'alarme est ou non atteinte. En exposant ci-dessus (§. 4.2.6.5.) cette procédure mathématique, nous insistions sur le fait que nous avions été amenés à adopter une valeur du degré plus grande lors d'un franchissement de la limite supérieure (LS) que dans le cas d'un dépassement de LI, justement en raison de ces pics de fréquence qu'il fallait bien intégrer.

Or cette procédure mathématique n'est pas sans répercussions sur la sensibilité du biodétecteur. En effet, si la réponse typique, lors d'une dégradation du milieu, est une baisse de fréquence, il arrive parfois que les aptéronotes réagissent par une augmentation. Ce cas s'est par exemple observé à 125 et à 180 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure. C'est la raison pour laquelle le déversement de 125 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure fut détectée seulement au terme de 32 minutes d'exposition alors que la concentration de 70 $\mu g.l^{-1}$ était déjà révélée après 6 minutes de contact poisson-polluant. Ce retard à la détection, dû au sens de la réponse, ne s'est cependant pas observé à 180 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure, l'amplitude de la réponse (d'une vingtaine de Hertz) outrepassant largement la limite dynamique supérieure.

Mais **le recours à des limites d'alarmes dynamiques d'une part et à l'attribution d'un degré de variation à chaque mesure d'autre part ne constitue pas les seules solutions adoptées pour s'affranchir de ces pics de fréquence occasionnels.** Ainsi une remise automatique à la moyenne a été programmée pour toute valeur supérieure de 15 Hz à la valeur précédemment enregistrée. Une autre façon de répondre à l'apparition aléatoire de ces pics a consisté à lisser les données recueillies, grâce au calcul des moyennes mobiles d'une dizaine de valeurs, toutes les minutes.

Or nous pouvons déplorer que malgré ces dispositions, il soit encore possible d'enregistrer de légers pics de fréquence, qui peuvent dans certains cas répondre au critère d'alarme 1. Ce comportement électrique est à même d'expliquer 8 cas de fausses alarmes sur les 10 rencontrés avec l'étude de la fréquence. Mais il est fondamental de souligner que la discrimination entre ces faux positifs et une véritable situation d'alarme est sans ambiguïté,

lorsque nous considérons visuellement les enregistrements des données ainsi traitées. En effet, une fausse alarme consiste en un événement électrique qui est d'une part **ponctuel** et qui d'autre part **intervient toujours après franchissement de LS**. Or nous avons vu qu'une situation d'alarme était généralement caractérisée par une réponse en sens inverse, c'est à dire une chute de la fréquence. Seules les deux exceptions ci-dessus rappelées (avec 125 et 180 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure) ont été rencontrées. Mais dans ces cas précis, l'amplitude de la réponse était telle que là non plus la confusion n'était pas visuellement permise, d'autant que la réponse n'était pas ponctuelle mais étalée sur un grand laps de temps.

Il n'en reste pas moins que d'autres situations d'alarmes se sont présentées, en particulier dans l'étude de la forme du signal, chez des poissons en phase de standardisation. Nous imputons leur apparition à une tout autre raison que celle précédemment discutée. Nous avions évoqué, concernant l'étude des rapports des harmoniques à la fondamentale, l'extrême régularité des données recueillies. Celle-ci était telle d'ailleurs, que nous avions mis en place de simples limites d'alarmes statiques. Mais nous avons pu constater (durant l'expérimentation sur le cyanure, par exemple), que des sorties du poisson hors de son tube se répercutaient essentiellement sur la forme des EOD. L'étude de cette caractéristique électrique exige en effet que le poisson se tienne dans le plan déterminé par les deux électrodes pour un captage optimal des signaux. **Aussi pensons-nous pouvoir incriminer les fausses alarmes enregistrées avec l'étude de la forme du signal à l'activité de nage des poissons électriques.** Cette hypothèse expliquerait jusqu'à 14 fausses alarmes. Ce nombre relativement important nous amène à chercher les raisons pour lesquelles les poissons sortent de leur tube durant la phase diurne. Il faut préciser à ce propos que les poissons, en conditions normales de stabulation, ne présentent que très rarement un tel comportement. Ils se tiennent d'ordinaire dans leur tube, parfois même couchés sur le côté ou sur le dos. Seule la distribution de la nourriture, à une heure régulière en fin d'après midi, amène certains poissons à quitter leur tube. Aussi pouvons-nous considérer comme une erreur d'avoir réalisé les premières expériences durant l'après-midi. Nous avons en effet pu constater que certains poissons commençaient à rechercher, à l'heure habituelle, une nourriture qui n'était pas encore distribuée. Des quatorze fausses alarmes répertoriées dans l'étude de la forme du signal électrique, dix ont été enregistrées lors des expérimentations sur le cyanure. Ce furent là les premiers tests et nous avions fait le (mauvais) choix de les réaliser l'après-midi.

Lorsque nous fûmes confrontés pour la première fois à ce problème, la première solution que nous envisageâmes fut d'intensifier l'éclairage de l'unité expérimentale. En réalité, si cela incite effectivement les poissons à rester dans leur tube, cela contribue malheureusement à perturber la thermorégulation de l'eau (même en éloignant au maximum la source lumineuse de la surface). C'est pourquoi dans ce cadre expérimental, la solution la plus simple qui était de

réaliser les essais toxicologiques en début de journée fut adoptée. Une autre solution eût été de nourrir les poissons durant la phase nocturne, ce qui aurait davantage respecté leur rythme biologique. Mais c'est une solution qui est aussi plus difficile à gérer[23].

Toujours au même chapitre des fausses alarmes, nous avons pu constater que certains individus présentaient une activité de nage anormalement soutenue en phase diurne ; un tel comportement serait à même d'expliquer les quatre autres fausses alarmes enregistrées dans l'analyse de la forme des EOD. L'hypothèse la plus vraisemblable est qu'il s'agit ici de poissons insuffisamment acclimatés aux conditions du test. Certains d'entre eux exigeraient apparemment, pour une bonne adaptation à ce nouvel environnement, un temps supérieur à 48 heures. Il est vrai que cette acclimatation de deux jours est la durée minimale habituellement conseillée (Parrish, 1985). En définitive, nous pouvons attribuer les sorties des poissons hors de leur tube, soit à un comportement alimentaire acquis, soit à une acclimatation insuffisante aux conditions expérimentales. Insistons cependant sur le fait que **ces deux causes possibles n'ont de répercussions que sur l'étude de la forme du signal**.

En résumé, **deux raisons essentielles permettent d'expliquer l'apparition des fausses alarmes. La première fait appel au phénomène électrique des pics de fréquence à caractère stochastique. La seconde est de type comportemental et met en cause les sorties du poisson hors de son tube, soit parce qu'il recherche de la nourriture, soit parce qu'il est insuffisamment acclimaté aux conditions du test.** Il s'agit là de voies d'explication très probables, mais certainement pas exclusives. En tout état de cause, il subsiste deux irréductibles faux positifs, apparus dans l'étude de la fréquence après franchissement normal de la limite inférieure.

Comme il apparaît nécessaire de minimiser le nombre de fausses alarmes (Gruber *et al.*, 1991), on propose parfois de suivre parallèlement aux informations biologiques, l'évolution de facteurs physico-chimiques tels que le pH, la température, l'oxygène dissous, les matières en suspension, ... Une telle solution a par exemple été exploitée par Dobbs et Briers (1988), dans le cadre d'un procédé appelé "*Intake Protection System*". Mais vouloir limiter les fausses alarmes, ce qui semble logique de prime abord, est un objectif qui prête à discussion et mérite un peu plus d'attention. Nous savons en effet que l'augmentation de la crédibilité d'un système se fait au détriment de sa sensibilité (Cairns *et al.*, 1972). A trop vouloir supprimer les fausses alarmes, on passe à côté des vraies. Il paraît alors intéressant de s'interroger sur les priorités, c'est à dire sur ce que l'on attend d'abord des biodétecteurs et biocapteurs. C'est en fait le champ d'application de ces systèmes qui va commander un tel choix. Ainsi il est probable que

[23] : *A priori*, il ressort que l'étude de la forme du signal est inopérante la nuit, puisque le poisson est presque constamment hors de son tube. Aussi une réponse à ce problème pourrait-il être le recours à des "poissons-relais" ayant des rythmes nycthéméraux inversés.

certains utilisateurs consentent à sacrifier la sensibilité du système en échange d'un taux très bas de fausses alarmes. D'autres au contraire pourraient donner la priorité à la fiabilité du système, avec comme corollaire obligé une probabilité plus grande de faux positifs. De telles considérations sont essentielles car le déclenchement d'une fausse alarme peut temporairement créer davantage de problème(s) que le biodétecteur n'en résout. Une alarme, quelle qu'elle soit, a en effet des implications économiques et sociales, comme un retard dans la distribution ou la production d'eau potable, un arrêt temporaire d'activités industrielles, *etc.*. En fait, le coût engendré par des fausses alarmes doit être pesé face aux risques de pollutions accidentelles. L'équilibre que l'on cherche à atteindre entre la sensibilité du biodétecteur et sa crédibilité est un sujet largement abordé (Evans et Wallwork, 1988 ; Diamond *et al.*, 1988 ; Schorr et Gruber, 1990).

Dans le contexte plus particulier de notre étude, insistons sur **l'avantage qu'offre notre système de traitement de données.** En effet, le choix entre fiabilité et crédibilité du système peut être facilement orienté par l'utilisateur, les paramètrages étant possibles à de multiples niveaux. A ce propos, il est intéressant de rappeler que l'analyse mathématique exploite les ruptures de pente des moyennes mobiles des fréquences ou des rapports d'amplitude des harmoniques à la fondamentale. Par exemple pour la première caractéristique électrique étudiée, nous comprenons qu'une diminution de la fréquence puisse être plus ou moins rapidement détectée - voire même non détectée - suivant qu'une variation survient brutalement ou non. En outre, pour répondre au critère d'alarme 1, l'amplitude de la réponse n'intervient qu'indirectement. Un tel cas de figure s'est par exemple rencontré lors des intoxications avec l'atrazine. Ainsi le poisson n°8 a répondu au déversement de 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine par une chute de 5 Hz de la moyenne mobile des fréquences, sans pour autant atteindre le premier niveau d'alarme (*cf.* figure 33). En revanche, la réponse du poisson n°6, pour la même intoxication, a été de moindre amplitude (baisse de 2,5 Hz seulement), mais cependant suffisante pour répondre au critère d'alarme n°1 (*cf.* figure 35). Ceci est possible simplement parce que les modifications de cette caractéristique électrique interviennent rapidement. En somme, **le taux de variations des caractéristiques électriques par unité de temps est plus significatif pour la définition d'une situation d'alarme que l'amplitude de ces mêmes variations.** Une telle grandeur s'avère particulièrement intéressante à considérer lorsque par exemple un poisson, après avoir détecté une pollution, retrouve très vite son niveau de fréquence de pré-intoxication. Cela conduit à l'enregistrement d'une seconde alarme (par franchissement de LS généralement), qui confirme la première détection. De tels cas se sont rencontrés lors d'intoxications par le phénol ou le chrome. Mais l'étude de la cinétique des variations électriques peut être dans certains cas un inconvénient. Cela s'est particulièrement révélé lors de l'étude de l'influence du gazole sur les caractéristiques électriques d'*A. albifrons*. En effet, une considération visuelle des données enregistrées nous laissait penser que les

poissons détectaient effectivement la pollution de l'eau par cet hydrocarbure. Or mathématiquement, le niveau d'alarme n'était pas atteint, les variations des caractéristiques électriques (en particulier celles de la fréquence) se présentant trop progressivement. Cela pourrait peut-être expliquer que la gamme de concentrations de 45 à 6,5 $mg.l^{-1}$ de gazole soit détectée plus tardivement que celle de 18,4 à 1,9 $mg.l^{-1}$ (indépendamment des problèmes de thermorégulation signalés lors de ces essais). A ce titre, **il pourrait être intéressant de définir un seuil d'alarme absolu (propre à chaque poisson), en plus des limites relatives.**

Au terme de ce chapitre, il est clair que le mode de recueil, d'analyse et de traitement des données adopté dans cette étude exige davantage de recherche et de développement. A ce propos, soulignons deux approches très intéressantes, l'une développée avec le "*Biosensor*®" (Gruber et Frago, 1994), la seconde avec le "*Musselmonitor*®" (de Zwart *et al.*, 1993). Celles-ci proposent un dialogue entre l'utilisateur et la machine, pour un paramétrage adapté à l'application souhaitée.

4.4.3. Variabilité intraspécifique

Au cours de cette étude, nous avons observé qu'il existait **une variabilité des réponses développées par des organismes soumis aux mêmes conditions toxicologiques.** Elle intéresse en premier lieu les pourcentages de poissons qui détectent la dégradation du milieu. Ainsi les poissons d'un même lot, soumis à de mêmes conditions toxicologiques ne présentent pas une sensibilité toxicologique identique. En fait, nous pouvons distinguer ce que nous pourrions appeler les bons et les mauvais candidats à la détection de substances toxiques. Un tel phénomène n'est pas particulier à notre étude. Par exemple Sparks *et al.* (1972), qui travaillent sur le comportement ventilatoire de *L. macrochirus*, enregistrent également une variabilité des réponses physiologiques. Ils distinguent ainsi 3 groupes de poissons : ceux qui sont peu sensibles, d'autres moyennement sensibles et enfin les derniers, très sensibles à une intoxication au zinc. Par ailleurs, il est essentiel de souligner que dans nos tests, **la variabilité intraspécifique est plus remarquable pour les faibles concentrations de substances testées.** Lors d'intoxications graves, l'ensemble des poissons testés développe généralement une réponse positive.

Cette dernière remarque s'applique tout aussi bien aux temps de détection, à propos desquels en effet une variabilité intraspécifique se présente souvent. De la même façon que précédemment, nous observons donc que **plus la concentration du polluant (quel qu'il soit) est élevée, moins la dispersion des temps de réponses entre individus est grande.** C'est en réalité un phénomène tout à fait compréhensible. Effectivement, nous concevons fort bien que

plus on est proche des seuils de détection, plus des écarts de sensibilité toxicologique entre organismes risquent d'intervenir.

Au chapitre de telles observations, l'analyse des résultats issus des 4 intoxications successives par du trichloroéthylène sur les 8 mêmes aptéronotes est riche d'enseignements. Nous distinguons ainsi 3 catégories de poissons : ceux qui ne répondent jamais à la présence de l'hydrocarbure chloré, ceux qui développent une réponse de façon sporadique et enfin le groupe majoritaire de ceux qui répondent régulièrement. Ces expériences nous révèlent aussi que l'étude de la fréquence des EOD fournit une bonne reproductibilité des temps de réponses des poissons qui détectent le trichloroéthylène, lors des 3 premières intoxications. En revanche, après le dernier déversement de 2 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène dans l'eau, les réponses significatives de la fréquence des décharges électriques apparaissaient plus tardivement. Il est probable qu'un tel résultat témoigne d'un **phénomène d'accoutumance des organismes aux conditions toxiques**, sujet d'étude déjà entrepris par quelques auteurs (Cairns et van der Schalie, 1980 ; Miller *et al.*, 1986). En tout état de cause, il semblerait que **le biodétecteur développé dans cette étude offre des performances de détection du trichloroéthylène similaires lors de conditions toxicologiques qui se répéteraient jusqu'à 3 fois** (chaque intoxication étant séparée de 48 heures). C'est un résultat intéressant mais qui ne peut pas être raisonnablement extrapolé à d'autres substances. Approfondir un tel champ d'étude de façon à déterminer si des répétitions de conditions toxiques sur des mêmes organismes concourent à abaisser la sensibilité du biodétecteur serait - semble-t-il - nécessaire. Par ailleurs, l'étude de l'influence d'intoxications répétées sur les performances de détection des aptéronotes confirme un résultat souvent observé concernant les temps de détection, lesquels sont toujours plus longs dans l'étude de la forme du signal qu'avec l'analyse de la fréquence des EOD (à une exception près). Pire encore, il existe une mauvaise reproductibilité des résultats à partir de cette seconde caractéristique électrique, ce qui pourrait remettre en cause la fiabilité de sa mesure.

Nous retiendrons qu'il existe, aux plus faibles concentrations des substances testées, un problème de variabilité intraspécifique de la sensibilité des réponses électriques, lequel - répétons-le - n'est pas propre à notre étude. Pour s'en persuader d'ailleurs, il suffit de considérer les formes d'exploitation des résultats de divers biodétecteurs. Par exemple, le "*Musselmonitor*®" n'exige pas que l'ensemble des moules répondent positivement, pour déclencher l'alerte. En effet, il est toujours possible que certains individus ne détectent pas l'apparition de conditions toxiques. Aussi une situation d'alarme est-elle simplement définie lorsque 50 à 75 % des moules répondent positivement (Kramer *et al.*, 1989 ; Slooff *et al.*, 1983). De la même façon, il est seulement nécessaire que 50 à 60 % des poissons modifient significativement leur comportement respiratoire pour qu'une alarme soit déclenchée avec le

"*Biosensor®*" (Cairns *et al.*, 1974 ; Gruber et Cairns, 1981 ; Gruber et Frago, 1994 ; Morgan, 1976, 1977). Un autre exemple est donné avec les travaux de Poels (1977) ; ce dernier considère que le niveau d'alerte est atteint lorsque 2 poissons sur les 3 utilisés perdent leur faculté de nage à contre courant. Enfin, à partir d'une technique ultrasonique (effet Doppler), le comportement locomoteur de *Poecilia reticulata* permet de révéler une pollution lorsque 3 des 5 poissons dépassent une limite critique prédéfinie (Morgan *et al.*, 1982). Le recours à de telles conventions est à rapprocher de la définition de notre critère d'alarme n°2 ; il est nécessaire parce que tous les organismes ne répondent pas en même temps ou de la même façon, quand bien même ils sont exposés à des conditions toxiques identiques.

Un moyen d'optimiser le biodétecteur à poisson électrique consisterait à amoindrir la variabilité intraspécifique de la sensibilité. En ce sens, il apparaît pertinent de s'interroger sur la nature des causes possibles de la dispersion des temps de réponses, observée essentiellement pour les concentrations proches des seuils de détection. Nous pouvons formuler plusieurs hypothèses. La première, celle qui nous semble la plus évidente, concernerait directement le poisson. Rappelons qu'en-dehors des essais avec le gazole, nous avons utilisé pour nos tests des poissons prélevés directement dans le milieu naturel. Un tel mode d'approvisionnement nous expose à des risques considérables d'**hétérogénéité des souches utilisées.** Or l'hypothèse formulée par Forbes et Depledge (1992) est que des facteurs génétiques pourraient fortement influencer la tolérance des organismes vis-à-vis de conditions toxiques[24]. Si tel est le cas, on pourrait effectivement expliquer - au moins partiellement - la variabilité intraspécifique de la sensibilité électrique constatée au cours de nos expériences. Une telle hypothèse est d'autant plus envisageable qu'il semblerait que les réponses aient été plus homogènes dans les intoxications au gazole effectuées sur des poissons d'élevage.

Mais il est probable que d'autres facteurs interviennent pour expliquer la variabilité intraspécifique des réponses. Sprague (1985) et Parrish (1985), qui ont beaucoup travaillé sur la question, rappellent que la sensibilité des organismes vis-à-vis de conditions toxiques peut être modifiée par de multiples facteurs. Ils citent ainsi divers facteurs abiotiques (comme par exemple le pH, la température, l'oxygènes dissous, ...), lesquels ne peuvent cependant pas être incriminés dans notre cas, ces derniers étant contrôlés et par conséquent identiques pour l'ensemble des poissons. Ces deux auteurs distinguent également comme autre source de variabilité de nombreux facteurs biotiques, tels que le stade de croissance, le sexe, le mode alimentaire, l'état sanitaire et enfin le degré d'acclimatation aux conditions environnementales et

[24] : Ils précisent à ce propos qu'éliminer le génotype comme source de variabilité pourrait être utile dans la mise en place de protocoles standardisés pour l'élevage ou la culture des organismes utilisés dans les tests de toxicologie. Mais une uniformité génétique pourrait conduire à d'autres problèmes. Il est probable par exemple que des organismes issus de clones puissent acquérir une certaine tolérance vis-à-vis des contaminants et plus encore s'ils sont élevés de longue date en laboratoire (Cairns et Niederlehner, 1987 ; Doust *et al.*, 1994 ; Forbes et Depledge, 1992).

aux toxiques. L'ensemble de ces facteurs biotiques, qui sont malheureusement plus difficiles à maîtriser, pourrait effectivement intervenir dans le cadre expérimental de notre étude. Ainsi, utilisant des poissons pêchés directement dans le milieu naturel, nous ne savons pas s'ils ont **déjà été en contact avec certains polluants.** Nous supposons cependant que tel n'est pas le cas, ces poissons vivant dans des biotopes peu accessibles à l'homme. Pour la même raison, nous n'avons pas d'informations concernant l'**âge des poissons** utilisés. Nous supposons qu'il s'agit d'individus juvéniles en raison de leur taille. Mais nous avons pu constater que c'est dans certains cas un paramètre trompeur car des poissons placés dans les mêmes conditions nutritionnelles et de maintenance grandissent de façon très disparate. Cette dernière remarque d'ailleurs donnerait du poids à l'hypothèse d'une différence génétique entre les individus importés. **La nécessité de maîtriser la reproduction de cette espèce s'impose impérieusement** si nous voulons nous affranchir de telles sources d'erreur.

4.4.4. Mécanismes toxicologiques

Bien que notre sujet de recherche ait pour principal objectif la mise au point d'un système de détection biologique, il nous est apparu intéressant de risquer quelques **considérations physiologiques** touchant les phénomènes biologiques enregistrés dans cette étude. **Comment expliquer les variations de l'activité électrique chez des aptéronotes placés dans des conditions toxiques ?** Répondre à cette question, c'est décrire les mécanismes d'intoxication qui entrent en jeu pour les différentes substances testées. A ce propos, nous pourrions nous féliciter qu'en toxicologie aquatique, ce soient essentiellement les poissons qui aient fait l'objet des plus nombreuses investigations. Malgré tout, il reste bien des interrogations et plus encore dans le cas particulier de notre étude, puisque *A. albifrons* n'a jamais été sollicité en toxicologie.

Sprague (1971) a répertorié les domaines d'étude nécessaires à la détermination des modes d'action et des degrés de sévérité de l'aggression toxique sur un organisme. Il s'agit de l'histopathologie, de l'histochimie, de l'hématologie, de la biochimie et de la physiologie. Il est clair que de telles recherches débordaient largement le cadre de notre travail et n'avaient pas lieu d'être entreprises. Cependant, tout **en nous limitant à la formulation de quelques hypothèses - dont la vérification pourrait faire l'objet de recherches futures - nous n'éviterons pas totalement le problème des mécanismes toxicologiques.**

D'un point de vue très général, on sait que la pénétration d'un toxique dans l'organisme d'un poisson peut s'effectuer par 2 voies : 1) l'ingestion orale d'aliments ou d'eau contaminés et 2) la diffusion dans le sang au travers de l'épithélium branchial. L'eau transite entre les étroites

fentes inter-lamellaires des branchies et peut échanger certaines substances avec le sang du poisson. Une partie de cette eau et de ses constituants est filtrée au travers des branchies, car la pression osmotique interne du sang des téléostéens d'eau douce est plus élevée que celle de leur milieu environnant. Du fait de cette entrée d'eau continuelle, les poissons d'eau douce ne boivent pratiquement pas. En conséquence, **la voie majeure de pénétration des toxiques est l'appareil branchial**. Ceci explique d'ailleurs le caractère généralement spectaculaire des intoxications des organismes vivant en eau douce, car le sang, après oxygénation à travers l'épithélium branchial, est distribué directement par l'aorte dorsale dans divers organes, dont le système nerveux central, sans passer par le foie, organe de détoxication.

Nous avons répertorié au sein du tableau XXXXI les différents modes d'action des 6 substances testées dans notre étude chez les poissons. Leur examen montre combien il est remarquable que des substances de natures très différentes conduisent à des effets néfastes globalement similaires chez les poissons. Ceci est particulièrement observable pour **2 sites privilégiés d'intoxication que sont les branchies et le système nerveux central.** Des modes d'action différents y induisent des symptômes non pathognomoniques, c'est à dire non spécifiques d'un polluant donné. Il en va ainsi des dommages branchiaux[25] qui perturbent la fonction respiratoire et provoquent peu à peu une anoxie cellulaire ainsi qu'un changement du métabolisme qui devient progressivement anaérobie (Eisler, 1991 ; EPA, 1989). **La combinaison du phénomène d'hypoxie cytotoxique accompagné d'une acidose affaiblit le système nerveux central (SNC), site d'anoxie le plus sensible.**

Mieux encore, il semblerait, à l'exception du chrome, que l'ensemble des substances testées perturberaient directement des fonctions assurées par le SNC (*cf.* tableau XXXXI). Chez les poissons électriques, une de ces fonctions est justement de commander le centre rythmeur de la décharge électrique (ou pacemaker). **Aussi une variation de l'activité des EOD pourrait-elle être imputable soit à une hypoxie, soit à une perturbation directe du SNC par les substances toxiques.** C'est une première hypothèse.

Une seconde voie pourrait faire appel à **des modifications de nature endocrinienne.** Il est en effet probable qu'un métabolisme anaérobie ait directement des répercussions sur les structures hypothalamiques. Ceci aboutirait à des changements de la sécrétion hormonale, lesquels agiraient soit directement (Westby, 1984), soit indirectement (Meyer, 1983) sur le pacemaker.

---

[25] : Lors de conditions toxiques, les changements histologiques qui s'observent au niveau de l'épithélium branchial (hyperplasie, hypertrophie, ...) correspondent à un mécanisme protecteur. Cela tend à réduire la surface respiratoire et en même temps à augmenter la distance de diffusion entre les polluants et le sang (McKeown et March, 1978 ; Neskovic *et al.*, 1993).

SUBSTANCES	MODES D'ACTION TOXIQUE CHEZ LES ESPECES ICHTYAIRES	REFERENCES
CYANURE	- Cessation de la respiration cellulaire par inhibition de la cytochrome oxydase ; - Anoxie tissulaire et changement du métabolisme qui devient anaérobie ; - Affaiblissement du système nerveux central, dû à l'hypoxie cytotoxique couplée à un phénomène d'acidose.	Broderius *et al.*, 1977 Egekese et Oehme, 1980 Eisler, 1991 EPA, 1989
PHENOL	- Dommages branchiaux (gonflement de l'épithélium des lamelles secondaires, inflammation et nécrose des tissus, ...) ; - Effets sur le système nerveux central par solubilisation des lipides ; - Actions néfastes sur le système circulatoire par dissolution des érythrocytes (hyperémie au niveau des branchies et du cerveau) ; - Changements histopathologiques au niveau du foie, du coeur, de la rate, du rein et de la peau.	Brown *et al.*, 1967b Mitrovic *et al.*, 1968 Skrapek, 1963 Swift, 1978, 1981 Waluga, 1966
ATRAZINE	- Effets néfastes sur les branchies (changements histologiques) ; - Perturbations des fonctions assurées par le système nerveux central ; - Modifications de la perméabilité membranaire.	Holcombe *et al.*, 1982 Neskovic *et al.*, 1993 Prasad et Redy, 1994
TRICHLOROETHYLENE	- Modifications de la perméabilité membranaire ; - Action irritantes au niveau des yeux et des fentes nasales ; - Effets neurotoxiques.	Diamond *et al.*, 1990 Leynaud et Trocherie, 1980
CHROME (VI)	- Hypersécrétion de mucus et/ou dommages au niveau des tissus branchiaux (hypertrophie et hyperplasie) ; - Affaiblissement progressif du métabolisme général de l'organisme dû à une accumulation dans les tissus ; - Effets néfastes sur deux fonction branchiales, l'osmorégulation et la respiration ; - Perturbation de la fonction digestive ; - Bioaccumulation au niveau de la rate, du rein, de l'estomac et de l'intestin postérieur.	Fromm et Schiffman, 1958 Knoll et Fromm, 1960 Strik *et al.*, 1975 van der Putte *et al.*, 1982
HYDROCARBURE (Gazole)	- Action physique du polluant qui colmate les branchies ; - Action irritante sur les branchies, conduisant à des lésions histologiques (soulèvement et hyperplasie de l'épithélium, déformation des lamelles branchiales secondaires, ...) ; - Modification de la perméabilité membranaire due à des incorporations moléculaires ; - Perturbations des paramètres hématologiques ; - Bioaccumulation dans le cerveau (favorisée par la nature lipophile des hydrocarbures en général) ; - Perturbations des fonctions du système nerveux central.	Dalich *et al.*, 1982 Leynaud et Trocherie, 1980 McKeown et March, 1978 Poirier *et al.*, 1986 Ramusino *et al.*, 1984 Zbanyszek et Smith, 1979

Tableau XXXXI : Synopsis des modes d'action toxique chez les poissons décrits dans la littérature pour les 6 substances testées dans notre étude.

D'autre part, nous savons que des organismes soumis à des conditions toxiques développent un état de stress, qui se traduit par une élévation de la sécrétion hormonale. Cette dernière concerne entre autres les catécholamines et les corticostéroides (Folmar, 1993 ; Gluth et Hanke, 1983 ; Kuba, 1969 ; McKeown et March, 1978 ; Nikinmaa, 1992 ; Swift, 1981). Les premières sont essentielles au fonctionnement neurologique des systèmes sensoriels intégratifs et neuromusculaires des poissons (Mehrle et Mayer, 1985). Quant aux corticostéroides, ils sont connus comme pouvant influencer l'activité électrique des poissons (Meyer et Zakon, 1982 ; Meyer, 1983). Aussi des modifications de paramètres hématologiques associées à des phénomènes d'acidose auraient-elles des répercussions sur la perméabilité des membranes des électrocytes et/ou sur le pacemaker, compte tenu de l'existence d'interconnexions neuronales entre cette structure et l'hypothalamus (Toerring et Serrier, 1978). Nous résumerons ces hypothèses en retenant qu'**une modification de l'activité endocrine pourrait avoir des effets soit sur le pacemaker et donc sur la fréquence des EOD, soit sur la perméabilité membranaire des électrocytes et donc sur la forme des signaux électriques.** Soulignons encore qu'Hoshimiya et ses collaborateurs (1980) expliquent que des modifications de la forme du signal peuvent être enregistrées chez *A. albifrons* lors d'une synchronisation incomplète des électrocytes à l'intérieur de l'organe électrique.

Les temps de latence des variations de fréquence des EOD généralement brefs indiqueraient un circuit neural relativement simple, ce qui favoriserait la première hypothèse. A la différence, nous observons qu'**une modification de la forme du signal réclame davantage de temps, ce qui appuierait l'hypothèse de la voie endocrinienne pour cette caractéristique électrique.**

Nous savons par ailleurs qu'il existe chez les poissons électriques une harmonie et une synchronisation des activités développées par les systèmes électroréceptif d'une part, et électrogène d'autre part (Bell et Russel, 1978 ; Knudsen, 1974 ; Meyer et Zakon, 1982 ; Meyer *et al.*, 1987 ; Scheich *et al.*, 1973). Ainsi nous pouvons supposer qu'**une modification des capacités électroréceptives des poissons aient des répercussions sur leur activité électrogène.** C'est une hypothèse tout à fait envisageable, d'autant plus que l'on sait identifier **plusieurs causes probables de variations de l'activité électroréceptive**. L'une d'elles peut être une augmentation de la production de mucus[26] au niveau de l'épiderme, phénomène observé lors de pollutions par les métaux (Strik *et al.*, 1975) ou le phénol (Skrapek, 1963). En second lieu, il peut aussi se produire une action physique de colmatage des téguments externes de la peau chez les poissons, dans le cas par exemple d'une pollution de l'eau par du gazole (Poirier *et al.*, 1986). Enfin, il est possible d'enregistrer des actions corrosives de polluant sur

[26] : D'ailleurs, Arillo et Melodia (1990) montrent que la production de mucus constitue une barrière protectrice dans le cas particulier d'une intoxication des poissons par du chrome.

les tissus épithéliaux, comme l'ont observées Waluga (1966) avec le phénol ou Diamond *et al.* (1990) avec le trichloroéthylène. D'autre part, il est possible que tout simplement des modifications des caractéristiques physico-chimiques de l'eau consécutives au déversement de substances polluantes exercent une influence inhibitrice sur les capacités électroréceptives des poissons. Nous pouvons supposer que l'ensemble de ces phénomènes puisse avoir des répercussions sur l'activité des électrorécepteurs, et indirectement sur les caractéristiques de l'émission électrique d'*A. albifrons*.

Ces différentes hypothèses, présentées et résumées figure 64, pourraient intervenir soit séparément, soit de façon combinée pour expliquer les modifications de l'activité électrogène des aptéronotes en condition toxique.

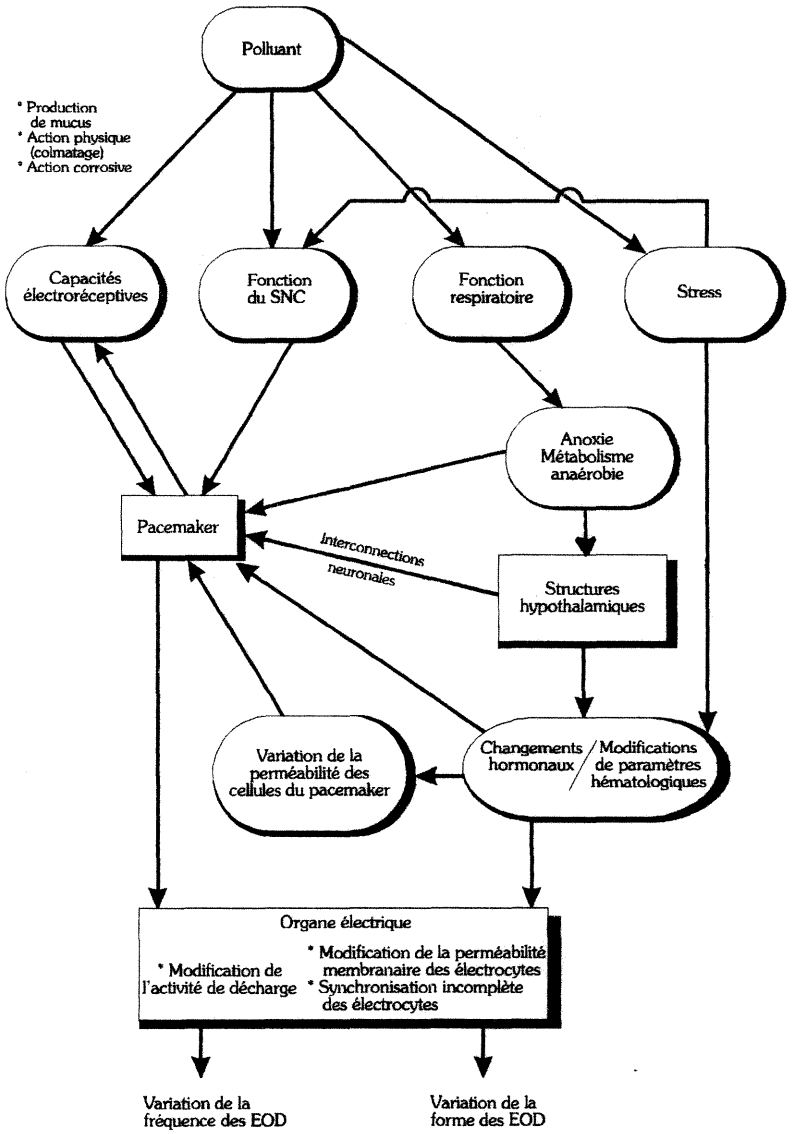


Figure 64 : Schéma récapitulatif des hypothèses formulées sur l'origine des modifications de l'activité électrogène des aptéronotes, pour des conditions toxiques variées.

4.5. Conclusions

Le tableau XXXXII résume **les performances fournies par le biodétecteur développé dans cette étude**, en présence de 6 substances toxiques.

Nature du polluant	Concentration	Temps de détection (mn)	Pourcentage de réponses
Cyanure	35	24	75
$\mu g.l^{-1}$	45	16	87,5
	70	6	100
	125	13	100
	180	5	100
Phénol	1	35	87,5
$mg.l^{-1}$	2,2	8	75
	4,4	5	100
	6,8	4	87,5
Atrazine	100	81	75
$\mu g.l^{-1}$	250	68	62,5
	500	16	87,5
Trichloroéthylène	0,6	104	50
$mg.l^{-1}$	1	20	87,5
	2	9	75
Chrome VI	1,6	104	75
$mg.l^{-1}$	2,7	6	75
	3,4	5	100
Gazole	1,9 à 18,4	17	100
$mg.l^{-1}$	6,5 à 45	24	62,5
	20,3 à 89	9	100

Tableau XXXXII : Synopsis des performances de détection enregistrées chez *Apteronotus albifrons* soumis à différentes conditions toxiques.

Très brièvement, nous retiendrons que **des modifications de l'activité électrique des aptéronotes, d'ordinaire invariable, témoignent de l'apparition de conditions toxiques dans le milieu environnemental du poisson**. Ces modifications intéressent essentiellement la fréquence des EOD, à l'origine de **réponses nombreuses et rapides**. A l'encontre de ces performances, l'étude de la forme du signal ne fournit que peu d'informations sur la dégradation

du milieu dans lequel se trouvent les poissons électriques. Cependant, elle est une indication précieuse lorsque l'on raisonne en terme de pourcentages de réponses significatives. Il est vrai que s'intéresser à plusieurs caractéristiques électriques implique logiquement un plus grand nombre d'organismes qui développent des réponses significatives. Aussi la forme du signal pourrait-elle être envisagée comme un système de confirmation d'alarme. Elle est en tout état de cause un facteur qui participe à la définition de la gravité de l'intoxication.

Par ailleurs, une discussion a été engagée sur les thèmes de la **fiabilité** et de la **crédibilité** des informations collectées. Elle consiste essentiellement en une analyse critique du traitement des données. Ce dernier présente un avantage essentiel, qui est la **possibilité de paramétrages** - à de multiples niveaux - du système d'exploitation mathématique des mesures. Il est important de souligner aussi que le biodétecteur développé dans cette étude fournit des **données facilement interprétables**. En outre, nous proposons plusieurs améliorations de façon à accroître la crédibilité (*i.e.* diminuer le nombre de fausses alarmes) et la fiabilité du biodétecteur (*i.e.* augmenter la sensibilité).

La **variabilité intraspécifique** est un sujet de discussion qui n'a pas non plus été négligé. A cette occasion, plusieurs problèmes ont été abordés, le principal étant celui qui concerne la maîtrise (indispensable) de la reproduction de cette espèce.

Enfin, nous avons souhaité clore cette discussion par des considérations de nature plus fondamentale, telles que les **mécanismes toxicologiques** que sous-entendent les réponses enregistrées tout au long de cette étude. A ce sujet, nous nous sommes risqués à formuler des hypothèses sur les causes possibles des modifications de l'activité électrogène des aptéronotes placés en milieu toxique. Il serait intéressant d'éprouver la crédibilité de ces hypothèses. En effet, à un niveau plus général, la connaissance des mécanismes toxicologiques permet sans aucun doute d'expliquer les différences de sensibilité des divers réactifs biologiques. En tout état de cause, une telle connaissance peut orienter le choix d'un système d'alerte sur un site donné en considération de la nature des risques encourus.

CONCLUSION GENERALE

PERSPECTIVES

Au début de ce travail, nous nous étions fixés comme objectifs :

- de réaliser un BILAN DES CONNAISSANCES ACTUELLES dans le domaine des biodétecteurs et des biocapteurs et d'identifier les limites des systèmes existants,
- de CONCEVOIR UN NOUVEAU PROCEDE DE DETECTION BIOLOGIQUE PRECOCE des pollutions des eaux de surface, au moyen des émissions électriques engendrées directement par des poissons,
- D'EVALUER L'INFLUENCE DE FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES SUR LES REPONSES BIOELECTRIQUES exploitées,
- de DEFINIR UN PROFIL DE SENSIBILITE TOXICOLOGIQUE de l'espèce ichtyaire vis-à-vis de substances polluantes de différentes natures.

La première partie de cette étude nous a permis :

- de montrer la **multiplicité des systèmes de détection biologique précoce**, dont la diversité s'exprime aussi bien du point de vue de l'espèce utilisée que du principe développé,
- de définir clairement **ce qu'on est en droit d'attendre de tels systèmes**,
- de recenser les différents **facteurs biotiques et abiotiques** qui influencent les performances des biodétecteurs et des biocapteurs,
- d'insister sur l'**importance du facteur temps** dans la définition de la sensibilité des réponses,
- de reconsidérer très précisément le problème des fausses alarmes, de façon à distinguer deux notions généralement confondues que sont la **fiabilité** et la **crédibilité** des systèmes de biodétection.

En réaffirmant tout l'intérêt que présente l'exploitation de réponses biologiques pour une détection des changements de la qualité des milieux aquatiques, nous avons conclu que de toutes les approches, celle qui consistait à exploiter les signaux électriques engendrés par *Gnathonemus petersi* était une des plus intéressantes. Notre avis favorable est essentiellement motivé par la constatation qu'on y utilise un réactif biologique directement assimilable à un générateur électrique. A l'encontre des promesses d'un tel procédé, nous identifions cependant plusieurs inconvénients majeurs, les principaux étant de natures électrique (signaux de type pulsatoire irrégulier) et biologique (espèce grégaire).

Sur la base de cette critique, nous avons élaboré un nouveau concept de détection biologique. Sa description fait l'objet de la deuxième partie de ce travail. Elle s'articule autour de plusieurs thèmes :

- le premier consiste en une **présentation détaillée d'*Apteronotus albifrons***, organisme choisi dans notre étude comme réactif biologique. Une présentation taxinomique, biogéographique, morpho-anatomique et biologique de cette espèce est proposée. Suivent alors des considérations plus générales sur les phénomènes d'électrogenèse et d'électroréception chez les poissons dits faiblement électriques, et finalement une **définition précise des caractéristiques électriques** d'*Apteronotus albifrons*. Cette présentation attire particulièrement l'attention sur un point fondamental qui est **l'extrême régularité de l'activité électrique naturelle de ce poisson**.
- le deuxième thème consiste en une **présentation des systèmes thermique et hydraulique** développés dans cette étude. L'ensemble des choix indispensables à la conception de tels systèmes trouve aussi sa justification, dans le respect de **considérations biologiques, déontologiques et techniques**. En particulier, nous nous sommes imposé au cours de ce développement, la conception d'un biodétecteur qui devra être facilement transférable à une unité de terrain et donc opérationnel dans des conditions évidemment plus drastiques *in situ* qu'en laboratoire.
- Enfin le troisième thème intéresse **le mode de recueil, de traitement et d'analyse** des informations électriques fournies par les poissons. La principale originalité de cette étude est qu'elle porte non seulement sur la **fréquence** de décharge, mais aussi sur la **forme** du signal ondulatoire et sur la vitesse de leurs variations temporelles.

Parce qu'il est essentiel de connaître la sensibilité du réactif biologique aux changements environnementaux, la troisième partie de ce travail s'est proposée de définir l'influence de quatre paramètres physico-chimiques sur l'activité électrique d'*A. albifrons*.

- Le premier concerne la température. Nous montrons l'existence d'une **relation parfaitement linéaire entre la fréquence de décharge et la température de l'eau** (dans une gamme de 22 à 32°C). Nous calculons une variation de 45 à 64 Hz / °C selon les individus et un Q10 égal à 1,6. Un **phénomène d'hystérésis** est également signalé pour la fonction qui lie la fréquence et la température de l'eau.

- Le deuxième paramètre étudié est le pH. Nos expériences prouvent que **des conditions acides (jusqu'à 3,6) se répercutent sur la fréquence de décharge des aptéronotes par une diminution**, en moyenne de 8,5 Hz / unité pH. Au contraire, **des conditions alcalines (jusqu'à 10,6) conduisent à une élévation de la fréquence,** en moyenne de 6,1 Hz / unité pH.
- La **conductivité électrique de l'eau**, dans une gamme de 54 à 484 $\mu S.cm^{-1}$, **n'exerce une influence que sur l'amplitude du signal**. Celle-ci diminue avec l'augmentation de la charge ionique de l'eau.
- Enfin le dernier paramètre étudié est la concentration en oxygène dissous. Dans le cas le plus général, nous montrons qu'**un appauvrissement progressif de l'eau en oxygène conduit à une baisse de la fréquence de décharge** chez les aptéronotes.

Dans tous les cas, aucune relation de cause à effet n'est montrée entre l'un ou l'autre des paramètres physico-chimiques et la forme du signal d'*A. albifrons*. Nos résultats démontrent clairement **la nécessité d'une maîtrise parfaite de la température de l'eau**, de façon à s'affranchir totalement de l'influence de ce facteur sur la fréquence de décharge des aptéronotes. D'autre part, nous nous sommes intéressés au fait que des modifications de pH ou d'oxygène dissous dans les eaux de surface pouvaient être non seulement le résultat d'une évolution naturelle des milieux aquatiques, mais aussi le reflet de la dégradation des conditions environnementales. Ces considérations conduisent à la **nécessité d'entreprendre des études sur site**, pour appréhender entre autres, l'influence de ces paramètres sur l'activité électrique des poissons, dans des gammes et des cinétiques de variations qui correspondent à celles relevées au sein des écosystèmes aquatiques.

La quatrième partie de ce travail dresse les profils de sensibilité toxicologique des aptéronotes vis-à-vis de six substances polluantes : le cyanure, le phénol, l'atrazine, le trichloroéthylène, le chrome hexavalent et le gazole. Les résultats et les discussions développés à partir de tests toxicologiques se répartissent globalement au sein de quatre chapitres :

- Le premier définit **la sensibilité et la rapidité des réponses** développées par les aptéronotes dans des conditions toxiques variées. Nous montrons que notre biodétecteur révèle **en moins de 35 minutes les concentrations suivantes : 35 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure, 1 $mg.l^{-1}$ de phénol, 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine, 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène, 2,7 $mg.l^{-1}$ de chrome (VI) et une gamme de 1,9 à 18,4 $mg.l^{-1}$ de gazole**. La confrontation de nos résultats avec ceux que fournissent d'autres biodétecteurs et biocapteurs rencontrés dans la littérature

exprime très clairement toute la valeur des performances enregistrées avec notre système, en termes de seuil de concentration détectée et de temps de réponse. Cette constatation est particulièrement évidente pour les tests réalisés avec le cyanure, le phénol, le trichloroéthylène et le chrome hexavalent.

- Le deuxième chapitre concerne **la fiabilité et la crédibilité de l'information** collectée, deux thèmes abordés notamment par le biais d'une analyse critique de notre traitement mathématique. Celui-ci comprend pour l'essentiel le calcul de **limites d'alarme dynamiques** et pour principale originalité, **une évaluation du poids de l'alarme**. Plusieurs voies de recherche sont proposées en vue d'une amélioration du mode de traitement des données, comme par exemple l'attribution de seuils d'alarme absolue.
- La **variabilité intraspécifique** des réponses données par *A. albifrons* constitue le troisième thème. Nous montrons d'une façon générale que cette variabilité est d'autant plus remarquable que nous sommes plus proches des seuils de concentrations détectables. Entre autres résultats déterminants, notre étude réitère avec force la **nécessité de maîtriser la reproduction** de cette espèce.
- Enfin la quatrième partie aborde un domaine de nature plus fondamentale, avec des **considérations hypothétiques sur les modes d'action toxique** qui s'exerceraient sur l'organisme-test et affecteraient sa faculté électrogène. Nous insistons aussi sur la nécessité d'éprouver la pertinence des hypothèses proposées. Plus généralement, nous exprimons et justifions l'idée que la **compréhension des mécanismes toxicologiques**, qui sont à la source des informations exploitées par les biodétecteurs et les biocapteurs, mériterait des recherches plus approfondies.

La présentation synoptique de ces résultats nous suggère plusieurs remarques, notamment en ce qui concerne les perspectives de recherches :

1. Il apparaît fondamental d'**approfondir nos connaissances sur la biologie des aptéronotes**. Dans cette optique, maîtriser la reproduction de cette espèce est une nécessité évidente, ce qui impliquerait des études sur la différenciation sexuelle des individus, sujet encore mal maîtrisé à l'heure actuelle.

   D'autre part, nous nous sommes trouvés confrontés, tout au long de ce travail, à diverses interrogations, qui pourraient trouver un début de réponse à la faveur d'un approfondissement expérimental. Par exemple :

   - La sensibilité des poissons vis-à-vis de conditions toxiques variées est-elle dépendante du sexe de l'animal ?

- Existe-t-il une influence du régime alimentaire sur la sensibilité des poissons aux toxiques ?
- La variabilité intraspécifique des réponses enregistrées est-elle seulement imputable au fait que l'on ait recours à des poissons prélevés directement dans le milieu naturel ?

2. **Un transfert sur site de la technologie développée en laboratoire** est aussi une priorité, c'est même en réalité la finalité de ce domaine de recherche. L'urgence de la réalisation d'essais *in situ* s'est particulièrement révélée lorsque nous avons étudié l'influence de la température, du pH, de la conductivité et de la concentration en oxygène dissous sur l'activité électrogène des aptéronotes. Une lacune essentielle est apparue dans ce travail : nous ne savons pas si des gammes et des cinétiques de variation des paramètres physico-chimiques des eaux de surface pourraient exercer une influence suffisante pour répondre aux critères d'alarmes que nous avons définis. Nous ignorons aussi dans quelle mesure elles pourraient agir sur les aptitudes de ces organismes à détecter des conditions toxiques ? Par ailleurs, le fait que des modifications de la conductivité aient des répercussions sur l'amplitude du signal nous amène à réfléchir sur le développement d'un système de gain automatique - géré par ordinateur - du signal capturé. Ce sujet est actuellement à l'étude.

   Enfin nous ne saurions clôturer ce paragraphe sans réinsister sur le problème que pose la dépendance étroite de la fréquence de décharge des poissons à l'égard des changements thermiques de l'eau. Cela exige - comme nous n'avons pas manqué de le signaler - une thermorégulation performante et aussi la réalisation d'un système de corrections automatiques des variations thermiques résiduelles. A ce sujet, des essais préliminaires ont été entrepris sur un prototype placé au bord de la Moselle, à la station d'alerte de Messein et fonctionnant en circuit ouvert. Parallèlement des tests en laboratoire se poursuivent pour la mise au point d'un système de mesure de la température largement en-dessous d'un seuil de sensibilité du dixième de degré Celsius. L'idée est de réaliser une mesure extrêmement précise de la température de l'eau, parallèlement à la capture du signal électrique, dans chaque bac de contention. L'information électrique devra alors être corrigée, soit en utilisant l'équation qui permet le calcul du Q10, soit en appliquant un coefficient propre à chaque individu et calculé au préalable (ce qui ne devrait pas poser *a priori* de problème, la relation entre les deux grandeurs, fréquence et température, étant parfaitement linéaire).

3. **Une réflexion sur l'analyse mathématique des données** mérite aussi d'être engagée. En premier lieu, cela intéresse la fréquence de décharge, dont l'exploitation devrait prendre en compte les progrès normalement réalisés sur la maîtrise du facteur "température". D'autre part, nous avions souligné à plusieurs reprises dans de ce travail, l'existence de pics de

fréquence qui pourraient être aussi exploités. Dans une étude préliminaire, nous avions remarqué effectivement que la probabilité d'apparition de ces pics était apparemment modifiée lorsque le poisson était incommodé par la présence d'un toxique. L'exploitation de ces pics de fréquence, extrêmement brefs, exigerait alors une révision de la vitesse de capture de l'information électrique des poissons.

En second lieu, il serait nécessaire de progresser dans l'exploitation de la forme du signal. Actuellement, l'analyse de cette caractéristique électrique n'est pas satisfaisante. C'est la raison pour laquelle nous envisageons non plus d'étudier les rapports des amplitudes des harmoniques 2, 3, 4 et 5 à l'amplitude de la fondamentale, mais plutôt de calculer la surface des deux alternances, positive et négative, expression de la puissance instantanée du signal. Cette voie d'exploitation devrait normalement prendre en compte l'ensemble des répercussions des facteurs externes sur la forme de l'EOD. Cela exigerait à nouveau une révision du protocole de capture du signal.

Ces différentes voies de recherche sont depuis peu engagées au Laboratoire de Biologie Appliquée et méritent d'être poursuivies.

4. Enfin, **élargir le profil de sensibilité toxicologique des aptéronotes** est bien sûr un thème de recherche attendu, puisqu'à l'heure actuelle, il est limité à 6 substances polluantes. Une connaissance et une compréhension des mécanismes toxicologiques et des phénomènes d'accoutumance des organismes aux conditions toxiques sont également des sujets de préoccupation qui ne doivent pas être ignorés.

*

* *

Le biodétecteur développé dans cette étude a reçu tout récemment le nom de GYMNOTOX, en référence à la fois à la fonction à laquelle il est dévolu et à l'ordre taxinomique des Gymnotiformes auquel appartient *Apteronotus albifrons*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFNOR (1976). Détermination de l'indice phénol. *Norme expérimentale T 90-109*, 5 p.

AFNOR (1978). Détermination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis de *Brachydanio rerio* (essai statique). *Norme expérimentale T 90-303*, 4 p.

AFNOR (1979). Dosage des hydrocarbures totaux. Méthode par spectrophotométrie infrarouge. *Norme expérimentale T 90-114*, 5 p.

AFNOR (1980). Détermination de l'inhibition de croissance de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. *Norme expérimentale T 90-304*, 6 p.

AFNOR (1983). Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Strauss (Crustacé, Cladocère). *Norme expérimentale T 90-301*, 12 p.

AFNOR (1991). Détermination de l'inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*. *Norme expérimentale T 90-320*, 7 p.

AFNOR (1991). Dosage de l'atrazine et de la simazine. Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide. *Norme expérimentale T 90-121*, 15 p.

AFNOR (1992). Détermination de l'indice biologique global généralisé (IBGN). *Norme expérimentale T 90-350*, 9 p.

ALABASTER J.S. & F.S.H. ABRAM (1964). Development and use of a direct method evaluating toxicity to fish. *Proc. Second. International Water Pollution Research Conference, Tokyo, Pergamon Press* : 41-60.

ALABASTER J.S., D.G. SHURBEN & M.J. MALLETT (1983). The acute lethal toxicity of mixtures of cyanide and ammonia to smolts of salmon, *Salmo salar* L. at low concentration of dissolved oxygen. *J. Fish Biol.*, **22** : 215-222.

ANDERSON J.W., J.M. NEFF, B.A. COX, T.E. TATEM & G.M. HIGHTOWER (1974). Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans ands fish. *Marine Biology*, **27** : 75-88.

ARILLO A. & F. MELODIA (1990). Protective effect of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere*, **20** (3/4) : 397-402.

AXT G. (1973). Kontinuierliche Toxizitätsmessung mit Bakterien (Toximeter). *Gewässerschutz, Wasser, Abwasser*, **10** : 297-312.

BALDWIN I.G. & K.J.M. KRAMER (1994). Biological Early Warning Systems (BEWS). In *"Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries", KRAMER K.J.M., Eds., CRC Press, Boca Raton FL.* : 1-28.

BALK F., P.C. OKKERMAN, C.A.M. HELMOND, F. NOPPERT & I. VAN DER PUTTE (1994). Biological early waring systems for surface water and industrial effluents. *Wat. Sci. Tech.*, **29** (3) : 211-213.

BASTIAN J. (1981). Electrolocation. I. How the electroreceptors of *Apteronotus albifrons* code for moving objects and other electrical stimuli. *J. Comp. Physiol.*, **144** : 465-479.

BATAC-CATALAN Z. & D.S. WHITE (1983). Effect of chromium on larval chironomidae as determined by the optical-fiber light-interruption biommonitoring system. In *"Aquatic Toxicology and Hazard Assessment", BISHOP W.E., R.D. CARDWELL and B.B. HEIDOLPH, Eds., Sixth Symposium, ASTM STP 802, American Society for Testing and Materials, Philadelphia* : 469-481.

BELL C.C. & C.J. RUSSEL (1978). Effects of electric organ discharge on ampullary receptors in a Mormyrid. *Brain Research*, **145** : 85-96.

BELL C.C., J. BRADBURY & C.J. RUSSEL (1976). The electric organ of a Mormyrid as a current and voltage source. *J. Comp. Physiol.*, **110** : 65-88.

BENECKE G., W. FALKE & C. SCHMIDT (1982). Use of algal fluorescence for an automated biological monitoring system. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **28** : 385-395.

BENNET M.V.L. (1971). Electric Organs. In *"Fish Physiology. Vol. 5 : Sensory System and Electric Organs", HOAR W.S. and D.J. RANDALL, Eds., Academic Press, New York* : 347-491.

BERCKMANS D., J.M. AERTS, H. BLOEMEN, F. VAN HOOF & H. SLUYTS (1994). *Daphnia*-monitor for continuous detection of water quality based on image analysis. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 113-121.

BESCH W.K. & H. JUHNKE (1971). Un nouvel appareil d'étude toxicologique utilisant des carpillons. *Annales de Limnologie*, 7 (1) : 1-6.

BESCH W.K., A. KEMBALL, K. MEYER-WAARDEN & B. SCHARF (1977). A biological monitoring system employing rheotaxis of fish. In *"Biological Monitoring of Water and Effluent Quality", CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON and G.F. WESTLAKE, Eds., ASTM STP 607, American Society for Testing and Materials* : 56-74.

BLACK-CLEWORTH P. (1970). The role of electrical discharges in the non-reproductive social behaviour of *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Pisces). In *"Animal Behaviour Monographs", CULLEN J.M. and C.G. BEER, Eds.*, **3** (1) : 1-77.

BLAISE C., R. VAN COILLIE, N. BERMINGHAM & G. COULOMBE (1987). Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papiers. *Rev. Intern. des Sciences de l'eau*, **3** (1) : 9-17.

BLESSING B., H. FRITZ-LANGEN & F. KREBS (1992). Einsatz von Bioreaktoren zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung. In *"Biologische Testverfahren", Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. Schr.-Reihe Verein WaBoLu 89, Gustav-Fischer Verlag, Sttutgart* : 247-254.

BLÜBAUM-GRONAU E., M. HOFFMANN, O.H. SPIESER & F. KREBS (1994). Der Koblenzer Verhaltensfischtest, ein auf dem Meßsystem BehavioQuant beruhender Biomonitor zur Gewässerüberwachung. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene*, **93** : 87-117.

BORCHERDING J. & M. VOLPERS (1994). The "*Dreissena*-Monitor" - First results on the application of this biological early warning system in the continuous monitoring of water quality. *Wat. Sci. Tech.*, **29** (3) : 199-201.

BOTTERWEG J., C. VAN DE GUCHTE & L.W.C.A. VAN BREEMEN (1989). Bio-alarm systems : a supplement to traditional monitoring of water quality. *H₂O*, **22** : 778-794.

BOUDINOT M. (1970). The effect of decreasing and increasing temperature on the frequency of the electric organ discharge in *Eigenmannia* sp.. *Comp. Biochem. Physiol.*, **37** : 601-603.

BRATTON B.O. & B. KRAMER (1988). Intraspecific variability of the pulse-type discharges of the African electric fishes, *Pollimyrus isidori* and *Petrocephalus bovei* (Mormyridae, Teleostei) and their dependance on water conductivity. *Exp. Biol.*, **47** : 227-238.

BRODERIUS S.J., SMITH L.L. & D.T. LIND (1977). Relative toxicity of free cyanide and dissolved sulfide forms to the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *J. Fish. Res. Board Can.*, **34** : 2323-2332.

BROWN V.M., D.H.M. JORDAN & B.A. TILLER (1967a). The effect of temperature on the acute toxicity of phenol to rainbow trout in hard water. *Wat. Res.*, **1** : 587-594.

BROWN V.M., D.G. SHURBEN & J.K. FAWELL (1967b). The acute toxicity of phenol to rainbow trout in saline water. *Wat. Res.*, **1** : 683-685.

BUCCAFUSCO R.J., S.J. ELLS & G.A. LEBLANC (1981). Acute toxicity of priority pollutants to bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **26** : 446-452.

BUHL K.J. & S.J. HAMILTON (1991). Relative sensivity of early life stages of arctic grayling, coho salmon, and rainbow trout to nine inorganics. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **22** : 184-197.

BULICH A.A. (1979). Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In *"Aquatic Toxicology", MARKING L.L. and R.A. KIMERLE, Eds., ASTM STP 667, American Society for Testing and Materials* : 98-106.

BULICH A.A. & D.L. ISENBERG (1981). Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity. *ISA Trans.*, **20** (1) : 29-33.

BULLOCK T.H. (1969). Species differences in effect of electroreceptor input on electric organ pacemakers and other aspects of behavior in electric fish. *Brain. Behav. Evol.*, **2** : 85-118.

BULLOCK T.H. (1970). The reliability of neurons. *J. Gen. Physiol.*, **55** : 565-584.

BULLOCK T.H. & S. CHICHIBU (1965). Further analysis of sensory coding in electroreceptors of electric fish. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **54** : 422-429.

BYRNE J.E. (1971). A further contribution to using ultrasonic sensors for fish activity studies. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **100** : 792-794.

CAIRNS J.Jr. & B.R. NIEDERLEHNER (1987). Problems associated with selecting the most sensitive species for toxicity testing. *Hydrobiologia*, **153** : 87-94.

CAIRNS J.Jr. (1974). Indicator species *vs.* the concept of community structure as an index of pollution. *Wat. Res. Bull.*, **10** (2) : 338-347.

CAIRNS J.Jr. (1986). The myth of the most sensitive species. *BioScience*, **36** (10) :670-672.

CAIRNS J.Jr. & A. SCHEIER (1963). Environmental effects upon cyanide toxicity to fish. *Notulae Naturae, Philad. Acad. Nat. Sci.*, **361** : 1-11.

CAIRNS J.Jr. & D. GRUBER (1979). Coupling mini- and microcomputers to biological early warning systems. *Bioscience*, **29** (11) : 665-669.

CAIRNS J.Jr. & D. GRUBER (1980). A comparison of methods and instrumentation of biological early warning systems. *Wat. Res. Bull.*, **16** (2) : 261-266.

CAIRNS J.Jr. & K.L. DICKSON (1971). A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharges on aquatic bottom-dwelling organisms. *J. Water Poll. Control. Fed.*, **43** (5) : 755-772.

CAIRNS J.Jr. & W.H. VAN DER SCHALIE (1980). Biological monitoring. Part I : Early warning system. *Wat. Res.*, **14** : 1179-1196.

CAIRNS J.Jr., A.G. HEATH & B.C. PARKER (1975). The effects of temperature upon the toxicity of chemicals to aquatic organisms. *Hydrobiologia*, **47** (1) : 135 -171.

CAIRNS J.Jr., E.L. MORGAN & R.E. SPARKS (1974). The response of bluegills (*Lepomis macrochirus* Rafinesque) in a pollution monitoring system to a diurnal temperature change. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **103** (1) : 138-140.

CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON & G.F. WESTLAKE (1975). Continuous biological monitoring to establish parameters for water pollution control. *Prog. Wat. Technol.*, **7** (5/6) : 829-841.

CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON, R.E. SPARKS & W.T. WALLER (1970). A preliminary report on rapid biological information systems for water pollution control. *J. Water Poll. Control Fed.*, **42** (5) : 685-703.

CAIRNS J.Jr., R.E. SPARKS & W.T. WALLER (1972). The design of a continuous flow biological early warning system for industrial use. *27 th Purdue Ind. Waste conf., May 2-4 at Purdue Univ.* : 242-255.

CAMUSSO M., R. BALESTRINI, F. MURIANO & M. MARIANI (1994). Use of freshwater mussel *Dreissena polymorpha* to assess trace metal pollution in the lower river Po (Italy). *Chemosphere*, **29** (4) : 729-745.

CARLSON R.W. (1984). The influence of pH, dissolved oxygen, suspended solids or dissolved solids upon ventilatory and cough frequencies in the bluegill *Lepomis macrochirus* and brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Environmental Pollution (series A)*, **34** (2) : 149-169.

CARLSON R.W. & R.A. DRUMMOND (1978). Fish cough response : a method for evaluating quality of treated complex effluents. *Wat. Res.*, **12** : 1-6.

CHANG J.C., P.B. TAYLOR & F.R. LEACH (1981). Use of the Microtox assay system for environmental samples. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **26** : 150-156.

CHERRY D.S. & J.Jr. CAIRNS (1982). Biological monitoring. Part V. Preference and avoidance studies. *Wat. Res.*, **16** : 263-301.

CHEVILLION C. (1994). Auto-Microtox, surveillance continue de toxicité des eaux par bactéries bioluminescentes : principes et résultats. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 51-56.

COATES C.W., M. ALTAMIRANO & H. GRUNDFEST (1954). Activity in electrogenic organs of knifefishes. *Science*, **120** : 845-846.

COUCEIRO A., A.A.P. LEAO & G. OLIVIERA CASTRO (1955). Some data on the structure of the electric organ of the itui (*Sternarchus albifrons*). *Anais Acad. Bras. Ciencas*, **27** : 323-328.

CRIPE C.R. (1979). An automated device (AGARS) for studying avoidance of pollutant gradients by aquatic organisms. *J. Fish. Res. Board Can.*, **36** : 11-16.

CURTIS C., A. LIMA, S.J. LOZANO & G.D. VEITH (1982). Evaluation of a bacterial bioluminescence bioassay as a method for predicting acute toxicity of organic chemicals to fish. In *"Aquatic Toxicology and Hazard Assessment", PEARSON J.G., R.B. FOSTER and W.E. BISHOP, Eds., Fifth conference, ASTM STP 766, American Society for Testing and Materials*, **766** : 170-178.

DADI S. (1991). Qualité des eaux de la Moselle à la prise d'eau du district de l'agglomération nancéienne. Analyse des données pour la période 1973 - 1988. *Thèse I.N.P.L., Nancy*, 206 pages.

DALICH G.M., R.E. LARSON & W.H. GINGERICH (1982). Acute and chronic toxicity studies with monochlorobenzene in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.*, **2** : 127-142.

DE ZWART D. & W. SLOOFF (1983). The Microtox as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants. *Aquatic Toxicology*, **4** : 129-138.

DE ZWART D., K.J.M. KRAMER & H.A. JENNER (1993). Practical experiences with the biological early warning system "Mosselmonitor". In *"Toxicity Assessement and on-line Monitoring", Sixth Int. Symposium, Berlin, 10-14 mai 1993*, 15 pages.

DEGREMONT (1989). Mémento technique de l'eau. *Tome 1 & 2. Lavoisier*, 1459 p.

DIAMOND J., M. COLLINS & D.S. GRUBER (1988). An overview of automated biomonitoring. Past developments and future needs. In *"Automated Biomonitoring: Living Sensors as Environmental Monitors", GRUBER D.S. and J.M. DIAMOND, Eds., Ellis Horwood, Chichester* : 23-39.

DIAMOND J.M., M.J. PARSON & D. GRUBER (1990). Rapid detection of sublethal toxicity using fish ventilatory behavior. *Environ. Toxicol. Chem.*, **9** : 3-11.

DOBBS A.J. & M.G. BRIERS (1988). Water quality monitoring using chemical and biological sensors. *Anal. Proc.*, **25** : 278-279.

DORWARD E.J. & B.G. BARLSAS (1984). Acute toxicity screening of water pollutants using a bacterial electrode. *Environ. Sci. Technol.*, **18** (12) : 967-972.

DOUDOROFF P. (1956). Some experiments on the toxicity of complex cyanides to fish. *Sewage Ind. Wastes*, **28** : 1020-1040.

DOUDOROFF P., G. LEDUC & C.R. SCHNEIDER (1966). Acute toxicity to fish of solutions containing complex metal cyanides, in relation to concentrations of molecular hydrocyanic acid. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **95** : 6-22.

DOUST J.L., M. SCHMIDT & L.L. DOUST (1994). Biological assessment of aquatic pollution: a review, with emphasis on plants as biomonitors. *Biol. Rev.*, **69** (2) 147-186.

DRUMMOND R.A., W. SPOOR & G.F. OLSON (1973). Some short-term indicators of sublethal effects of copper on brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish. Res. Board Can.*, **30** (5) : 698-701.

DWYER F.J., S.A. BURCH, C.G. INGERSOLL & J.B. HUNN (1992). Toxicity of trace element and salinity mixtures to striped bass (*Morone saxatilis*) and *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **11** : 513-520.

EGEKEZE J.O. & F.W. OEHME (1980). Cyanides and their toxicity: a literature review. *Vet. Q.*, **2** (2) : 104-114.

EISLER R. (1991). Cyanide hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Biological Report : US, Fish and Wildlife Service*, **85** (1-23) : 1-8, 19-29, 46-55.

EL YAMANI H., C. TRAN-MINH, M. ABDUL & M. DUPONT (1987). Réalisation d'un ensemble automatique pour la mesure de toxicité des eaux de rivière. *J. Français d'hydrologie*, **18** (1): 67-75.

ELLIS M.M. (1913). The Gymnotid eels of tropical america. *Mem. Carnegie Museum*, **6** (3) : 109-170.

ENGER P.S. & T. SZABO (1968). Effect of temperature on the discharge rates of the electric organ of some Gymnotids. *Comp. Bioch. Physiol.*, **27** : 625-627.

EPA (1989). Cyanide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **107** : 53-64.

ERSKINE F.T., D.W. HOWE & B.C. WEED (1966). The discharge period of the weakly electric fish *Sternarchus albifrons*. *Amer. Zool.*, **6** (4) : 521.

EVANS G.P. & J.F. WALWORK (1988). The WRc fish monitor and other biomonitoring methods. In *"Automated Biomonitoring: Living Sensors as Environmental Monitors", GRUBER D.S. and J.M. DIAMOND, Eds., Ellis Horwood, Chichester* : 75-90.

EVANS G.P., M.G. BRIERS & D.M. RAWSON (1986). Can biosensors help to protect drinking water. *Biosensors*, **2** : 287-300.

FENG A.S. (1976). The effect of temperature on a social behaviour of weakly electric fish, *Eigenmannia virescens*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **55** (A) : 99-102.

FESSARD A. (1974). Physiology of electroreceptors. Introduction. In *"Electroreceptors and other specialized receptors in lower vertebrates, Handbook of Sensory Physiology", FESSARD A., Eds., Springer Verlag*, **3** (3) : 60-94.

FLORION A. (1984). Essai d'utilisation de *Gymnarchus niloticus* Cuvier, 1829 pour la régulation d'un biochronomètre à l'Aquarium tropical de Nancy. *Rev. fr. Aquariol.*, **11** (1) : 11-22.

FLORION A., M. THOMAS, D. CHRETIEN & D. TERVER (1994). Procédé et installation pour la surveillance des milieux aqueux par des animaux aquatiques électrogènes. Brevet français n°93 14209.

FOLMAR L.C. (1993). Effects of chemical contaminants on blood chemistry of Teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12** (2) : 337-375.

FORBES V.E. & M.H. DEPLEDGE (1992). Predicting population response to pollutants: the significance of sex. *Functional Ecology*, **6** : 376-381.

FRITZ-LANGEN H., B. BLESSING & F. KREBS (1992). Einsatz von Bakterientoximetern mit separater Zellanzucht zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung. In *"Biologische Testverfahren", Beiträge zu den Biotest-*

Statusseminaren 1989 und 1992. Schr.-Reihe Verein WaBoLu 89, Gustav-Fischer Verlag, Sttutgart : 255-268.

FROMM P.O. & R.H. SCHIFFMAN (1958). Toxic action of hexavalent chromium on largemouth bass. *J. Wildl. Manage.*, **22** (1) : 40-44.

GARDNER H.S., W.H. VAN DER SCHALIE, M.J. WOLFE & R.A. FINCH (1990). New methods for on-site biological monitoring of effluent water quality. *Environ. Sci. Res.*, **38** : 61-69.

GARRIC J., J.F. FERARD & E. VINDIMIAN (1992). Essais biologiques pour l'évaluation de la toxicité chronique des rejets. *Etude Inter-Agences de l'Eau*, 1-97.

GAYET M., F.J. MEUNIER & F. KIRSCHBAUM (1994). *Ellisella kirschbaumi* Gayet & Meunier, 1991, Gymnotiforme fossile de Bolivie et ses relations phylogénétiques au sein des formes actuelles. *Cybium,* **18** (3) : 273-306.

GELLER W. (1984). A toxicity warning monitor using the weakly electric fish, *Gnathonemus petersi. Wat. Res.*, **18** (10) : 1285-1290.

GELLER W. & H. MÄCKLE (1977). Uberwachung von Roh- und Trinkwasser. Teil 2 : Kontinuierlicher Biotest zur Toxizitätsüberwachung von Trinkwasser. *DVGW-Schritenreihe Wasser*, **14** : 173-181.

GIATTINA J.D. & R.R. GARTON (1983). A review of the preference-avoidance responses of fishes to aquatic contaminants. *Residue Reviews*, **87** : 43-90.

GLUTH G. & W. HANKE (1983). The effect of temperature on physiological changes in carp, *Cyprinus carpio* L., induced by phenol. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 7 : 373-389.

GRAFF C. & M. ANTHOUARD (1994). Réactions comportementales des poissons à la qualité de l'eau : contribution possible des sciences cognitives au développement des techniques de surveillance. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 107-109.

GRANATH L.P., F.T. ERSKINE, B.S. MACCABEE & H.G. SACHS (1968). Electric field measurements on a weakly electric fish. *Biophysik*, **4** : 370-372.

GRUBER D. & C.H. FRAGO (1994). Methods to improve sensitivity of an automated biomonitoring system. In *"Environmental Toxicology and Risk Assessment", HUGUES J.S., G.R. BIDDINGER and E. MONES, Eds., Third volume, ASTM STP 1218, American Society for Testing and Materials, Philadelphia* : 13 p.

GRUBER D. & J.Jr. CAIRNS (1981). Data acquisition and evaluation in biological monitoring systems. *Hydrobiologia*, **83** : 387-393.

GRUBER D., C.H. FRAGO & W.J. RASNAKE. Automated biomonitors - first line of defense. *J. Aquatic. Syst., sous presse.*

GRUBER D., J.Jr. CAIRNS, K.L. DICKSON, A.C. HENDRICKS & W.R. MILLER III (1980). Recent concepts and development of an automated biological monitoring system. *J. Wat. Poll. Contr. Fed.*, **52** (3) : 465-471.

GRUBER D., J.Jr. CAIRNS, K.L. DICKSON, R. HUMMEL III, A. MACIOROWSKI & W.H. VAN DER SCHALIE (1977). An inexpensive, noise-immune amplifier designed for computer monitoring movements of fish and other biological events. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **106** (5) : 497-499.

GRUBER D., J.M. DIAMOND & M.J. PARSON (1991). Automated biomonitoring. *Environ. Auditor*, **2** (4) : 229-238.

GRUNDFEST H. (1957). The mechanisms of discharge of the electric organs in relation to general and comparative electrophysiology. *Progr. Biophys.*, 7 : 1-85.

HAFEEZ M.A. & B.J. BARBER (1976). A method for monitoring spontaneous locomotor activity and resting behavior in fishes. *Physiol. Behav.*, **16** : 217-221.

HAGEDORN M. (1986). The ecology, courtship and mating of Gymnotiform electric fish. In *"Electroreception", BULLOCK T.H. and W. HEILIGENBERG, Eds., J. WILEY and Sons, (New-York)*, **I-XIII (1-722)** : 497-525.

HALL J.W., J.C. ARNOLD, W.T. WALLER & J.Jr. CAIRNS (1975). A procedure for the detection of pollution by fish movements. *Biometrics*, **31** : 11-18.

HASSELROT T.B. (1975). Bioassay methods of the national Swedish environment protection board. *J. Wat. Poll. Control Fed.*, **47** : 851-857.

HEATH A.G. (1972). A critical comparison of methods for measuring fish respiratory movements. *Wat. Res.*, **6** : 1-7.

HEILIGENBERG W. (1973). Electrolocation of objects in the electric fish *Eigenmannia* (Rhamphichthydiae, Gymnotoidei). *J. Comp. Physiol.*, **87** : 137-164.

HEINIS F. & W.R. SWAIN (1986). Impedance conversion as a method of research for assessing behavioural responses of aquatic invertebrates. *Hydrobiological bulletin*, **19** (2) : 183-192.

HEINIS F., K.R. TIMMERMANS & W.R. SWAIN (1990). Short-term sublethal effects of cadmium on the filter feeding chironomid larva *Glyptotendipes pallens* (Meigen) (Diptera). *Aquat. Toxicol.*, **16** : 73-86.

HENDERSON C. & Q.H. PICKERING (1963). Use of fish in the detection of contaminants in water supplies. *J. Am. Water Works Ass.*, **55** (6) : 715-720.

HERBERT D.W.M. & D.S. SHURBEN (1963). A preliminary study of the effect of physical activity on the resistance of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to two poisons. *Am. Appl. Biol.*, **52** : 321-326.

HEUSNER A.A. & J.T. ENRIGHT (1966). Long-term activity recording in small animals. *Science*, **154** : 522-533.

HOLCOMBE G.W., G.L. PHIPPS & D.K. TANNER (1982). The acute toxicity of keltane, dursban, disulfoton, pydrin, and permethrin to fathead minnows *Pimephales promelas* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Environ. Pollution*, **29** (A) : 167 -178.

HOLLAND G.J. & A. GREEN (1975). Development of a gross pollution detector: laboratory studies. *Wat. Treat. Exam.*, **24** : 81-99.

HOPKINS C.D. (1974a). Electric communication in the reproductive behavior of *Sternopygus macrurus* (Gymnotoidei). *Z. Tierpsychol.*, **35** : 518-535.

HOPKINS C.D. (1974b). Electric communication in fish. *American Scientist*, **62** : 426-437.

HOPKINS C.D. (1977). Electric communication. In *"How Animals Communicate ?", SEBEOK T.A., Eds, Indiana University Press, Bloomington* : 263-289.

HOPKINS C.D. (1988). Neuroethology of electric communication. *Ann. Rev. Neurosci.*, **11** : 497-535.

HOSHIMIYA N., K. SHOGEN, T. MATSUO & S. CHICHIBU (1980). The *Apteronotus* EOD field waveform and EOD field stimulation. *J. Comp. Physiol.*, **135** : 283-290.

HUGHES G.M. & J.L. ROBERTS (1970). A study of the effect of temperature changes on the respiratory pumps of the rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, **52** : 177-192.

HUGUES G.M. (1975). Coughing in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the influence of pollutants. *Rev. Suisse Zool.*, **82** (1) : 47-64.

IDONIBOYE-OBU B. (1977). Recording bioelectric action potentials of marine decapod crustacea by remote electrodes: a bioassay procedure for monitoring hydrocarbon pollution. *Environ. Pollut.*, **12** : 159-166.

ISHIO S. (1960). The reactions of fishes to toxic substances. I. New designed gradient tank for studying avoidance reactions of fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **26** : 349-353.

ISHIO S. (1965). Behavior of fish exposed to toxic substances. *Advances in Water Pollution, Oxford, Pergamon Press* : 19-35.

JACOB P. (1989). Signalisation sexuelle chez *Apteronotus albifrons*, poisson à faible décharge électrique : effets de facteurs environnementaux et des hormones stéroïdes exogènes sur la décharge de l'organe électrique. *DEA Biologie du Comportement, CNRS (Gif sur Yvette)* : 1-31.

JACQUES F., J.P. FLAMBEAU & J.M. ORY (1994). Biotoxitel : biocapteur algal pour la surveillance de la qualité des eaux. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en contimu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 45-50.

JENNER H.A., F. NOPPERT & T. SIKKING (1989). A new system for the detection of valve-movement response of bivalves. *Kema Scientific and Technical Reports*, 7 (2) : 91-98.

JENNER H.A., G.H.F.M. VAN AERSSEN & J. TERWOERT (1992). Valve movement bahaviour of the mussel *Dreissena polymorpha* and the clam *Unio pictorum* for use in an early warning system. In *"Limnologie Aktuell, the Zebra Mussel Dreissena polymorpha", NEUMANN D. and H.A. JENNER, Eds., Gustav Fisher Verlag, Stuttgart*, **4** : 115-126.

JENSEN K., A. RANDLOV & H.U. RIISGARD (1981). Heavy metals pollution from a point source demonstrated by means of mussels, *Mytilus edulis*. *Chemosphere*, **10** : (7) : 761-765.

JOHNSON D.W. (1968). Pesticides and fishes. A review of selected literature. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **97** : 398-424.

JONES B.F., C.E. WARREN, C.E. BOND & P. DOUDOROFF (1956). Avoidance reactions of Salmonid fishes to pulp mill effluents. *Sewage and Industrial Wastes*, **28** (11) : 1403-1413.

JOUBERT G. (1980). A bioassay application for quantitative toxicity measurements, using the green alga, *Selenastrum capricornutum*. *Wat. Res.*, **14** : 1759-1763.

JUHNKE I. & W.K. BESCH (1971). Eine neue Testmethode zur Früherkennung akut toxischer Inhaltsstoffe im Wasser. *Gewässer und Abwässer*, **50 / 51** : 107-114.

JUNG K.D. (1973). Extrem fischtoxische Substanzen und ihre Bedeutung für ein Fischtest-Warnsystem. *GWF-Wasser / Abwasser*, **114** : 232-235.

KAISER K.L.E. & J.M. RIBO (1988). *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. II. Toxicity data compilation. *Tox. Assess.*, **3** : 195-237.

KAY A.N. & J.W. LEWIS (1993). Fish monitors and the role of electric fish as a potential indicators of water quality. *J. Appl. Ichthyol.*, **9** : 110-114.

KEMMER, W., B. BAUMANN & G. ALTMANN (1972). Impulsratenanalyse der Entladungen des schwach elektrischen Fisches *Gnathonemus petersi* zur Feststellung seiner Lang- und Kurzzeitperiodik unter dem Einfluß äußerer Zeitgeber. *Verhandlungen dt. Zool. Ges.*, **64** : 287-291.

KINGSBURY R.W.S.M. & C.P. REES (1978). Rapid biological methods for continuous water quality monitoring. *Effl. and Water Treat. J.*, **18** (7) : 319-325/328-331.

KLEEREKOPER H. (1977). Some monitoring and analytical techniques for the study of locomotor responses of fish to environmental variables. In *"Biological Monitoring of Water and Effluent Quality", CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON and G.F. WESTLAKE, Eds., ASTM STP 607, American Society for Testing and Materials* : 110-120.

KLEEREKOPER H., J.B. WAXMAN & J. MATIS (1973). Interaction of temperature and copper ions as orienting stimuli in the locomotor behavior of the goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Board Can.*, **30** : 725-728.

KNIE J. (1978). Der Dynamische Daphnientest - ein automatischer Biomonitor zur Überwaschung von Gewässern and Abwässern. *Wasser Boden*, **12** : 301-312.

KNIE J. (1988). Der Dynamische Daphnientest, praktische Erfahrungen bei der Gewässerüberwaschung. *Gewaesserschutz Wasser Abwasser*, **102** : 341-356.

KNOLL J. & P.O. FROMM (1960). Accumulation and elimination of hexavalent chromium in rainbow trout. *Physiol. Zool.*, **33** (1) : 1-8.

KNUDSEN E.I. (1974). Behavioral thresholds to electric signals in high frequency electric fish. *J. Comp. Physiol.*, **91** : 333-353.

KNUDSEN E.I. (1975). Spatial aspects of the electric fields generated by weakly electric fish. *J. Comp. Physiol.*, **99** : 103-118.

KOEMAN J.H., C.L.M. POELS & W. SLOOFF (1978). Continuous biomonitoring systems for detection of toxic levels of water pollutants. In *"Aquatic pollutants: Transformation and Biologic Effects", HUNTZINGER O., L.H. VAN LELYVELD and B.C.J. ZOETEMAN, Eds., Proc. 2e Int. Symp., Noordwijkerhout, Netherlands, 26-28 semptembre 1977, Oxford, Pergamon Press* : 339-347.

KOVACS T.G. & G. LEDUC (1982a). Sublethal toxicity of cyanide to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at different temperatures. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39** : 1389-1395.

KOVACS T.G. & G. LEDUC (1982b). Acute toxicity of cyanide to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) acclimated at different temperatures. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39** : 1426-1429.

KRAMER B. (1990). Sexual signals in electric fishes. *Trends Ecol. Evol.*, **5** (8) : 247-250.

KRAMER B. & B. KUHN (1993). Electric signaling and impedance matching in a variable environment. *Naturwissenschaften*, **80** : 43-46.

KRAMER B. & B. OTTO (1988). Female discharges are more electrifying: spontaneous preference in the electric fish, *Eigenmannia* (Gymnotiformes, Teleostei). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **25** : 55-60.

KRAMER B., J. TAUTZ & H. MARKL (1981). The EOD response in weakly electric fish. *J. Comp. Physiol.*, **143** : 435-441.

KRAMER K.J.M. (1994). Mussels as bio-indicators. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 27.

KRAMER K.J.M. & J. BOTTERWEG (1991). Aquatic biological early warning systems: an overview. In *"Bioindicators and Environmental Management", JEFFREY D.W. and B. MADDEN, Eds., 6th International Bioindicators Symposium, Trinity College, Dublin, 23-28th September 1990, Academic Press, UK* : 95-126.

KRAMER K.J.M., H.A. JENNER & D. DE ZWART (1989). The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring. *Hydrobiologia*, **188/189** : 433-443.

KRESS C. & W. NACHTIGALL (1989). Grundlagen zur Schadstoffüberwachung von Fliessgewässern über die Erfassung von Verhaltens-parametern stetig schwimmender Fische. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, **22** (3) : 99-107.

KUBA K. (1969). The action of phenol on neuromuscular transmission in the red muscle of fish. *Jap. J. Physiol.*, **19** : 762-774.

KUNZE P. (1989). Verhaltensänderung durch Atrazin bei einem elektrischen Fisch. *Z. Wasser-Abwasser Forsh.*, **22** (3) : 108-111.

LACEPEDE E. (1800). Histoire naturelle des poissons. *Tome II* : 209-214.

LARIMER J.L. & J.A. McDONALD (1968). Sensory feedback from electroreceptors to electromotor pacemaker center in gymnotids. *Amer. J. Physiol.*, **214** (6) : 1253-1261.

LE BAIL P.Y., P. PLANQUETTE & J. GERY (1984). Clé de détermination des poissons continentaux et côtiers de Guyane. I : Clé simplifiée des familles. *CRAAG (INRA), Bull. de liaison* : 1-85.

LE PENNEC M. & J.Y. OLLIVIER (1994). La mesure en continu de la toxicité des eaux. *L'Eau, l'Industrie, Les Nuisances*, **171** : 43-46.

LEBLANC G.A. (1980). Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24** : 684-691.

LEGER G. & J.P. CAMUS (1992). Un nouveau détecteur biologique de pollution accidentelle utilisant l'effet Doppler : le Truitosem. Dans *"La ville et l'eau", Colloque National Hydrotop, Marseille, 8-10 avril 1992.*

LESEL R. (1975). Relations entre essais biologiques en laboratoire et expériences *in situ*. In *"Principles and Methods for Determining Ecological Criteria on Hydrobiocenoses", Actes du Colloque Scientifique Européen, Pergamon Press* : 287-311.

LESEL R. & B. HUEZ (1977). Estimation de la toxicité d'un effluent industriel par un test d'endurance à la nage chez la truite Arc-en-Ciel (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Bull. Cent. Etud. Rech. Sci. Biarritz*, **11** (3) : 215-230.

LESEL R. & J.L. SABOUREAU (1976). Toxicité de substances à des doses sub-létales chez le poisson. I. Mise au point d'un testeur à courant d'eau circulaire. *Bull. C.B.E.D.E., Tr.*, **389** : 140-144.

LESEL R., G. LANDRAGIN & H. KOLZ (1977). La biodétection, une technologie nouvelle dans le contrôle de la pollution des eaux. *Eau Industr.*, **17** : 45-50.

LEVI Y., C. HENRIET, J.P. COUTANT, M. LUCAS & G. LEGER (1989). Monitoring acute toxicity in rivers with the help of the microtox test. *Water Supply*, 7 : 25-31.

LEWIS J.W. & A.N. KAY (1991). The effect of temperature on electric organ activity in two species of *Gnathonemus* (family Mormyridae). *Environ. Tech.*, **12** : 815-819.

LEWIS J.W., A.N. KAY & N.S. HANNA (1992a). Responses of the electric fish *Gnathonemus tamandua* (Family Mormyridae) to changes in pH. *Environ. Tech.*, **13** (8) : 701-705.

LEWIS J.W., A.N. KAY & N.S. HANNA (1992b). Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical changes in water quality. I. Cyanide. *Environ. Tech.*, **13** : 1169-1174.

LEWIS J.W., A.N. KAY & N.S. HANNA (1993). Responses of electric fish (Family Mormyridae) to chemical changes in water quality. II. Pesticides. *Environ. Tech.*, **14** (12) : 1171-1178.

LEWIS J.W., A.N. KAY & N.S. HANNA (1994). Responses of electric fish (Family Mormyridae) to chemical changes in water quality. III. Heavy metals. *Environ. Tech.*, **15** (10) : 969-978.

LEWIS J.W., P.R. CAMPBELL & I.P. TOMS (1990). Microcomputer-based monitoring of the effect of phenol on electric organ activity in the mormyrid fish *Gnathonemus petersi. Environ. Tech.*, **11** : 571-584.

LEYNAUD G. & F. TROCHERIE (1980). Effets toxiques des pollutions sur la faune piscicole. In *"La pollution des eaux continentales, incidence sur les biocénoses aquatiques", PESSON P., Eds., Gauthiers-Villars* : 147-168.

LINDAHL P.E. & E. SCHWANBOM (1971). A method for the detection and quantitative estimation of sublethal poisoning in living fish. *Oikos*, **22** (2) : 210-214.

LINDAHL P.E., S. OLOFSSON & E. SCHWANBOM (1977). Rotatory-flow technique for testing fitness of fish. In *"Biological Monitoring of Water and Effluent Quality", CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON and G.F. WESTLAKE, Eds., ASTM STP 607, American Society for Testing and Materials* : 75-84.

LISSMANN H.W. (1958). On the function and evolution of electric organs in fish. *J. Exp. Biol.*, **35** : 156-191.

LISSMANN H.W. (1961). Ecological studies on Gymnotids. In *"Bioelectrogenesis, a Comparative Survey of its Mechanisms with Particular Emphasis on Electric Fishes", CHAGAS C and A. PAES DE CARVALHO, Eds., Elsevier Publishing Company, Amsterdam* : 215-226.

LUDYANSKIY M.L. & A.P. PASICHNY (1992). A system for water toxicity estimation. *Wat. Res.*, **26** (5) : 689-694.

MACIOROWSKI A.F., J.Jr. CAIRNS & E.F. BENFIELD (1977). Laboratory simulation of an in-plant biomonitoring system using crayfish activity rhythms to detect cadmium induced toxic stress. *25th Annual Meeting North American Benthological Society, Roanoke, VA, 6-8 april, (abstract)*.

MAHR W. (1988). Temperatureinflüsse auf das Verhalten von electrischen Fischen. *Aquarien und Terrarien Zeibschrift*, **41** (8) : 263-264.

MAKI A.W. (1979). Respiratory activity of fish as a predictor of chronic fish toxicity values for surfactants. In *"Aquatic Toxicology", MARKING L.L. and R.A. KIMERLE, Eds., ASTM ATP 667, American Society for Testing and Materials* : 77-95.

MANDRIOTA F.T., R.L. THOMPSON & M.V.L. BENNET (1965). Classical conditionning of electric organ discharge rate in Mormyrids. *Science*, **150** : 1740-1742.

MANLEY A.R. & J. DAVENPORT (1979). Behavioural responses of some marine bivalves to heigthened copper concentrations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **22** : 739-744.

MARCHINI S., L. PASSERINI, D. CESAREO & M.L. TOSATO (1988). Herbicidal triazines: acute toxicity on *Daphnia*, fish, and plants and analysis of its relationships with structural factors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **16** : 148-157.

MARQUENIE J.M. (1981). The freshwater mollusc *Dreissena polymorpha* as a potential tool for assessing bio-availability of heavy metals in aquatic systems. In *"Heavy Metals in the Environment", Intern. Symp., Amsterdam, septembre 1981* : 409-412.

MARTIN J.V. (1988). Biomonitoring of polluted waters: three systems. In *"Automated Biomonitoring: Living Sensors as Environmental Monitors", GRUBER D.S. and J.M. DIAMOND, Eds., Ellis Horwood, Chichester* : 172-181.

McKEOWN B.A. & G.L. MARCH (1978). The acute effect of bunker C oil and an oil dispersant on: 1 serum glucose, serum sodium and gill morphology in both freshwater and seawater acclimated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Wat. Res.*, **12** (3) : 157-163.

McLEOD J.C. (1967). A new apparatus for measuring maximum swimming speeds of small fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **24** (6) : 1241-1252.

MEFFERT P. (1968). Ultrasonic recorder for locomotor activity studies. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **97** : 12-17.

MEHRLE P.M. & F.L. MAYER (1985). Biochemistry / Physiology. In *"Fundamentals of Aquatic Toxicology. Methods and Applications", RAND G.M. and S.R. PETROCELLI, Eds., Hemisphere Publishing Corporation, Washington* : 264-282.

MEYER J.H. (1983). Steroid influences upon the discharge frequencies of a weakly electric fish. *J. Comp. Physiol.*, **153** (A) : 29-37.

MEYER J.H. & H.H. ZAKON (1982). Androgens alter the tuning of electroreceptors. *Science*, **217** : 635-637.

MEYER J.H., M. LEONG & C.H. KELLER (1987). Hormone-induced and maturational changes in electric organ discharges and electroreceptor tuning in the weakly electric fish, *Apteronotus*. *J. Comp. Physiol.*, **160** (A) : 385-394.

MILLER T., S. MELANCON & T. LAPOINT (1986). Use of effluent toxicity tests in predicting the effect of metals on receiving stream invertebrate communities. In *"Environmental Hazard Assessment of Effluents", BERMAN H., Eds., Pergamon Press, New-York* : 265-281.

MITROVIC V.V., V.M. BROWN, D.G. SHURBEN & M.H. BERRYMAN (1968). Some pathological effects of sub-acute and acute poisoning of rainbow trout by phenol in hard water. *Wat. Res.*, **2** : 249-254.

MOLLER P. (1980). Electroperception. *Oceanus*, **23** : 44-54.

MORGAN E.L. & K.W. EAGLESON (1983). Remote biosensing employing fish as real time monitors of water quality events. In *"Hydrological Applications of Remote Sensing and Remote Data Transmission", Proc. Internat. Symposium, IAHS, 145* : 235-243.

MORGAN E.L., J.R. WRIGHT & R.C. YOUNG (1988). Developing a portable automated biomonitoring system for aquatic hazard evaluation. *In "Functional testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals", CAIRNS, J.Jr. and J.R. PRATT, Eds., ASTM STP 988, American Society for testing and materials, Philadelphia* : 120-127.

MORGAN E.L., K.W. EAGLESON, R. HERMANN & N.D. McCOLLOUGH (1981). New developments in automated biosensing from remote water quality stations and satellite data retrieval for resources management. In *"Water for Survival", BEARD L.R., (Guest-Editor), J. Hydrol.*, **51** : 339-345.

MORGAN E.L., R.C. YOUNG & C.M. CRANE (1984). Automated multispecies biomonitoring employing fish and aquatic invertebrates of various levels. In *"Freshwater Biological Monitoring", PASCOE D. and R.W. EDWARD, Eds., Proc. Conf. Cardiff, Pergamon Press, New-York* : 75-80.

MORGAN E.L., R.C. YOUNG, M.D. SMITH & K.W. EAGLESON (1987). Proposed application of automated biomonitoring for rapid detection of toxic substances in water supplies for permanent space stations. *J. Environ. Sc.*, **30** (2) : 47-79.

MORGAN W.S.G. (1976). Fishing for toxicity: biological automonitor for continuous water quality control. *Effluent and Water Treatment Journal*, **16** : 471-475.

MORGAN W.S.G. (1977). Biomonitoring with fish: an aid to industrial effluent and surface water quality control. *Prog. Wat. Tech.*, **9** : 703-711.

MORGAN W.S.G. (1978). The use of fish as a biological sensor for toxic compounds in potable water. *Prog. Wat. Tech.*, **10** (1/2) : 395-398.

MORGAN W.S.G. (1979). Fish locomotor behavior patterns as a monitoring tool. *J. Wat. Pollution Control Fed.*, **51** (3) : 580-589.

MORGAN W.S.G. & P.C. KÜHN (1974). A method to monitor the effects of toxicants upon breathing rate of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*, Lacépède). *Wat. Res.*, **8** : 67-77.

MORGAN W.S.G. & P.C. KÜHN (1988). Effluent discharge control at south African industrial utilizing continuous automatic biological surveillance techniques. In *"Automated Biomonitoring: Living Sensors as Environmental Monitors", GRUBER D.S. and J.M. DIAMOND, Eds., Ellis Horwood, Chichester* : 91-103.

MORGAN W.S.G., P.C. KÜHN, B. ALLAIS & G. WALLIS (1982). An appraisal of the performance of a continuous automatic fish biomonitoring system at an industrial site. *Wat. Sci. Tech.*, **14** (4/5) : 151-161.

NAESSENS M. & C. TRAN-MINH (1994). Biocapteur à algues et détection des solvants. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 141-143.

NESKOVIC N.K., I. ELEZOVIC, V. KARAN, V. POLEKSIC & M. BUDIMIR (1993). Acute and subacute toxicity of atrazine to carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **25** (2) : 173-182.

NIKINMAA M. (1992). How does environmental pollution affect red cell function in fish ? *Aquat. Toxicol.*, **22** (4) : 227-238.

O'HARA J. (1971). A continuously monitored respiration chamber for fish. *Wat. Res.*, **5** : 143-145.

ORTEGA H. & R.P. VARI (1986). Annoted checklist of the freshwater fishes of Peru. *Smithsonian Contribution Zool.*, **437** : 1-25.

PANDARD C.P. & P. VASSEUR (1992). Biocapteurs pour le contrôle de la toxicité des eaux : application des bioélectrodes algales. *Rev. Sc. Eau*, **5** : 445-461.

PANDARD P. & D.M. RAWSON (1993). An amperometric algal biosensor for herbicide detection employing a carbon cathode oxygen electrode. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, **8** (3) : 323-333.

PANDARD P., P. VASSEUR & D.M. RAWSON (1993). Comparison of two types of sensors using eukaryotic algae to monitor pollution of aquatic systems. *Wat. Res.*, **27** (3) : 427-431.

PAPPAS G.D., S.G. WAXMAN & M.V.L. BENNETT (1975). Morphology of spinal electromotor neurons and presynaptic coupling in the gymnotid *Sternarchus albifrons*. *J. Neurocyt.*, **4** : 469-478.

PARRISH (1985). Acute toxicity test. In *"Fundamentals of Aquatic Toxicology. Methods and Applications", RAND G.M. and S.R. PETROCELLI, Eds., Hemisphere Publishing Corporation, Washington.*

PARSON M.J., J.M. DIAMOND & D. GRUBER (1991). Research needs for automated biomonitoring systems. *Proceedings AWWA, Water Quality Conference, Orlando FL, 10-14 novembre 1991* : 667-682.

PATRICK R. (1949). A proposed biological measure of stream conditions, based on survey ot the Conestoga basin, Lancaster county, Pennsylvania. *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.*, **101** : 377-341.

PAYNE A.G. & R.H. HALL (1979). A method for measuring algal toxicity and its application to the safety assessment of new chemicals. In *"Aquatic Toxicology", MARKING L.L. and R.A. KIMERLE, Eds., ASTM STP 667, American Society for Testing and Materials* : 171-180.

PETERS R.C., F. BRETSCHNEIDER, W.J.G. LOOS & I.S.A. NEUMAN (1991). Electro-reception and aquatic biomonitoring. In *"Bioindicators and Environmental Management", JEFFREY D.W. and B. MADDEN, Eds., Academic Press, London* : 427-433.

PETRY H. (1982). Der Motilitätstest, ein Frühwarnsystem zur biologischen Gewässerkontrolle. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B*, **176** : 391-412.

PHILIPS D.J.H. (1976). The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Marine Biology*, **38** : 59-69.

PIMENTEL-SOUZA F. (1988). Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, **21** : 119-121.

PIMENTEL-SOUZA F. & N. FERNANDES-SOUZA (1985). Temperature influence and social interaction on the frequency of electric organ discharges in *Rhamphichthys rostratus*. *Acta Amazônica*, **15** (1-2) : 35-46.

POELS C.L.M. (1975). Continuous automatic monitoring of surface water with fish. *Water Treatment and examination*, **24** (1) : 46-56.

POELS C.L.M. (1976). Flow-through system for the continuous monitoring of raw water using trout. *International Water Supply Association Eleventh Congress, Amsterdam, 13-17 september 1976* : 010-015.

POELS C.L.M. (1977). An automatic system for rapid detection of acute high concentrations of toxic substances in surface water using trout. In *"Biological Monitoring of Water and Effluent Quality", CAIRNS J.Jr., K.L. DICKSON and G.F. WESTLAKE, Eds., ASTM STP 607, American Society for Testing and Materials* : 85-95.

POIRIER A., F. BAUDIN-LAURENCIN, G. BODENNEC & C. QUENTEL (1986). Intoxication expérimentale de la truite Arc-en-Ciel, *Salmo gairdneri* Richardson, par du gas-oil moteur : modifications hématologiques, histologie. *Aquacult.*, **55** (2) : 115-137.

POLMAN H.J.G. & D. DE ZWART (1994). The toxicity of organic concentrates to *Photobacterium phosphoreum* of river meuse water in the stretch between Remilly (France) and Keizersveer (The Netherlands). *Wat. Sci. Tech.*, **29** (3) : 253-256.

PRASAD T.A.V. & D.C. REDDY (1994). Atrazine toxicity on hydromineral balance of fish, *Tilapia mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **28** (3) : 313-316.

PRICE D.R.H. (1979). Fish as indicators of water quality. In *"Biological Indicators of Water Quality", JAMES S.A. and L. EVISON, Eds., Wiley John, New York* : 8/1-8/23.

PUZICHA H. (1994). Evaluation and avoidance of false alarm by controlling Rhine water with continuously working biotests. *Wat. Sci. Tech.*, **29** (3) : 207-209.

QURESHI A.A., K.W. FLOOD, S.R. THOMPSON, S.M. JANHURST, C.S. INNISS & D.A. ROKOSH (1982). Comparison of a luminescent bacterial test with other bioassays for determining toxicity of pure compounds and complex effluents. In *"Aquatic Toxicology and Hazard Assessment", PEARSON J.G., R.B. FOSTER and W.E. BISHOP, Eds., ASTM STP 766, American Society for Testing and Materials*, **766** : 179-195.

QURESHI A.A., R.N. COLEMAN & J.H. PARAN (1984). Evaluation and refinement of the Microtox test for use in toxicity screening. In *"Toxicity Screening Procedures using Bacterial Systems", LIU D. and B.J. DUTKA, Eds., Marcel Dekker, New york* : 1-22.

RAMSAY G., A.P.F. TURNER, A. FRANKLIN & I.J. HIGGINS (1986). Rapid bioelectrochemical methods for the detection of living microorganisms. In *"Modelling and Control of Biotechnological Processes", JOHNSON A., Eds., Pergamon Oxford, Proceedings of the 1st IFAC Symposium, Noordwijkerhout, Netherlands, 11-13 december 1985* : 95-101.

RAMUSINO M.C., P. DELLAVEDOVA & D. ZANZOTTERA (1984). Effects of crude dubai oil on *Salmo gairdneri* Rich. and *Carassius auratus* L.. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **32** (3) : 368-376.

RAUSCH E. (1980). Einrichtung zur Überwaschung des Wasserqualität mithilfe elektrischer Fische. Patent Application, publication nr. and date : DE 29.06.884,28.08.1980.

RAWSON D.M. & J. ROGERSON (1994). The development of biosensors for monitoring aquatic environments. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 29-33.

RAWSON D.M., A.J. WILLMER & M.F. CARDOSI (1987). The development of whole cell biosensors for on-line screening of herbicide pollution of surface waters. *Tox. Assess.*, **2** : 325-340.

RIBO J.M. & K.L.E. KAISER (1983). Effects of selected chemicals to photoluminescent bacteria and their correlations with acute and sublethal effects on other organisms. *Chemosphere*, **12** (11/12) : 1421-1442.

RIEGER I. & U. ZIMMERMANN (1981). Können schwach elektrischen Fische zur Kontrolle des Wasserqualität verwendet werden ? *Gas, Wasser, Abwasser*, **61** : 1-5.

RIGAUD G., C. HENRIET & J. DOWE (1992). Une avancée décisive dans la détection automatique des pollutions : l'Auto-Microtox. *Point Sciences Techn.*, **3** : 6-9.

ROBERTS S., P. VASSEUR & D. DIVE (1990). Combined effects between atrazine, copper and pH, on target and non target species. *Wat. Res.*, **24** (4) : 485-491.

RODIER J. (1984). L'analyse de l'eau. *Ed. Dunod*, 1353 p.

SABOURIN T.D. & R.E. TULLIS (1981). Effect of three aromatic hydrocarbons on respiration and heart rates of the mussel, *Mytilus californianus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **26** : 729-736.

SALANKI J. & I. VARANKA (1976). Effect of copper and lead compounds on the activity of the fresh-water mussel. *Annal. Biol. Tihany*, **43** : 21-27.

SALANKI J. & I. VARANKA (1978). Effect of some insecticides on the periodic activity of the fresh-water mussel (*Anodonta cygnea* L.). *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **29** (2) : 173-180.

SAMAK Q.M. & R. NOISEUX (1981). Evaluation of the Microtox as a tool for monitoring aquatic toxicity of industrial origin. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, **990** : 288-308.

SCHARF B.W. (1979). A fish test alarm device for the continual recording of acute toxic substances in water. *Arch. Hydrobiol.*, **85** (2) : 250-256.

SCHEICH H. & T.H. BULLOCK (1974). The detection of electric fields from electric organs. *Hb. Sensory Physiology*, **III** (3) : 201-256.

SCHEICH H., T.H. BULLOCK & R.H. HAMSTRA (1973). Coding properties of two classes of afferent nerve fibers: high-frequency electroreceptors in the electric fish *Eigenmannia*. *J. Neurophysiol.*, **36** : 39-60.

SCHMITZ P., F. KREBS & U. IRMER (1994). Development, testing and implementation of automated biotests for the monitoring of the river Rhine, demonstrated by bacteria and algae tests. *Wat. Sci. Tech.*, **29** (3) : 215-221.

SCHORR P. & D. GRUBER (1990). Selecting a biological early warning system. *AWWA Water Quality Technol. Conf. Proc.* : 1491-1514.

SCHWASSMANN H.O. (1971). Circadian activity patterns in Gymnotid electric fish. *In "Biochronometry", MENAKER M., Eds., Washington, D.C., National Academy of Sciences* : 186-199.

SCHWASSMANN H.O. (1978). Activity rhythms in Gymnotoid electric fishes. In *"Rhythmic Activity of Fishes", THORPE, J.E., Eds., London, Academic Press* : 235-241.

SHERER E., S.H. NOWAK, S.E. HARRISON & D.L. KRIPIAKEVICH (1979). Essai sur les réactions locomotrices faisant appel à des faisceaux d'ultrasons. In *"Toxicity Tests for Freshwater Organisms", SHERER E., Eds., Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, Winnipeg, Manitoba, Canada* : 188-197.

SHIEH W.K. & C.J. YEE (1985). Microbial toxicity monitor for *in situ* continuous applications. *Biotech. Bioeng.*, **27** : 1500-1506.

SHIRER H.W., J.Jr. CAIRNS & W.T. WALLER (1968). A simple apparatus for measuring activity patterns of fishes. *Wat. Res. Bull.*; **4** (3) : 27-43.

SIMONET D.E., W.I. KNAUSENBERGER, L.H. TOWNSEND & E.C. TURNER (1978). A biomonitoring procedure utilizing negative phototaxis of first instar *Aedes aegypti* larvae. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 7 : 339 -347.

SKRAPEK K. (1963). Toxicity of phenol and their detection in fish. *Public Health Engineering Abstracts*, **44** : 272.

SLADECEK V. (1969). The measures of saprobity. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **17** : 546-559.

SLOOFF W. (1979). Detection limits of a biological monitoring system based on fish respiration. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **23** : 517-523.

SLOOFF W. (1983). Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value. *Thèse de Rykuniversiteit te Utrecht, Netherlands*, 191 pages.

SLOOFF W., D. DE ZWART & J.M. MARQUENIE (1983). Detection limits of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **30** : 400-405.

SMITH E.H. & H.C. BAILEY (1988). Development of a system for continuous biomonitoring for a domestic water source for early warning of contaminants. In *"Automated Biomonitoring: Living Sensors as Environmental Monitors", GRUBER D.S. and J.M. DIAMOND, Eds., Ellis Horwood, Chichester* : 182-205.

SMITH M.J. & A.G. HEATH (1979). Acute toxicity of copper, chromate, zinc, and cyanide to freshwater fish: effect of different temperatures. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **22** : 113-119.

SOLBE J.F. de L.G., V.A. COOPER, C.A. WILLIS & M.J. MALLETT (1985). Effect of pollutants in fresh waters on European non-salmonid fish. I. Non-metals. *J. Fish Biol.*, **24** (A) :197-207.

SOLYOM P. (1977). Industrial experiences with toxiguard, a toxicity monitoring system. *Prog. Wat. Tech.*, **9** (5/6) : 193 -198.

SOLYOM P., B. BOMAN & H. BJÖRNDAL (1976). Continuous monitoring of acute-toxic substances in waste water. *Prog. Wat. Technol.*, **8** (2/3) : 417-422.

SPARKS R.E., J.Jr. CAIRNS, R.A. McNABB & G.I.I. SUTER (1972). Monitoring zinc concentrations in water using the respiratory response of Bluegills (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Hydrobiologia*, **40** (3) : 361-369.

SPOOR W.A., T.W. NEIHEISEL & R.A. DRUMMOND (1971). An electrode chamber for recording respiratory and other movements of free-swimming animals. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **100** (1) : 22-28.

SPRAGUE J.B. (1964). Avoidance of copper-zinc solutions by young salmon in the laboratory. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **36** : 990-1004.

SPRAGUE J.B. (1968). Avoidance reactions of salmonid fish to representative pollutants. *Wat. Res.*, **2** : 23-24.

SPRAGUE J.B. (1969). Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Wat. Res.*, **3** : 793-821.

SPRAGUE J.B. (1970). Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Wat. Res.*, **4** : 3-32.

SPRAGUE J.B. (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Wat. Res.*, **5** : 245-266.

SPRAGUE J.B. (1985). Factors that modify toxicity. In *"Fundamentals of Aquatic Toxicology. Methods and Applications", RAND G.M. and S.R. PETROCELLI, Eds., Hemisphere Publishing Corporation, Washington.*

SPRAGUE J.B. & D.E. DRURY (1969). Avoidance reactions of salmonid fish to representative pollutants. In *"Advances in Water Pollution Research", JENKINS S.H., Eds., Pergamon Press, New York* : 169-179.

SQUIRE A. & P. MOLLER (1982). Effects of water conductivity on electro-communication in the weak-electric fish *Brienomyrus niger* (Mormyriformes). *Anim. Behav.*, **30** : 375-382.

STOTT B. & B.R. BUCKLEY (1979). Avoidance experiments with homing shoals of minnows, *Phoxinus phoxinus* in a laboratory stream channel. *J. Fish. Biol.*, **14** : 135-146.

STRATTON G.W. (1984). Effects of the herbicide atrazine and its degradation products, alone and in combination, on phototrophic microorganisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **13** : 35-42.

STRIK J.J.T.W.A., H.H. DE IONGH, J.W.A. VAN RIJN VAN ALKEMADE & T.P. WUITE (1975). Toxicity of chromium (VI) in fish, with special reference to organoweights, liver and plasma enzyme activities, blood parameters and histological alterations. In *"Sublethal Effects of Toxic Chemicals on Aquatic Animals", KOEMAN J.H. and J.J.T.W.A. STRIK, Eds., Elsevier, Amsterdam* : 31-41.

SWAIN W.R., R.M. WILSON, R.P. NERI & G.S. PORTER (1977). A new technique for remote monitoring of activity of fresh water invertebrates with special reference to oxygen consumption by niaids of *Anax* sp. and *Somatochlora* sp. (Odonata). *Can. Ent.*, **109** : 1-8.

SWIFT D.J. (1978). Some effects of exposing rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to phenol solutions. *J. Fish. Biol.*, **13** : 7-17.

SWIFT D.J. (1981). Changes in selected blood component concentrations of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, exposed to hypoxia or sublethal concentrations of phenol or ammonia. *J. Fish. Biol.*, **19** : 45-61.

SZABO T. (1965). Sense organs of the lateral line system in some electric fish of the Gymnotidae, Mormyridae and Gymnarchidae. *J. Morph.*, **117** : 229-250.

SZABO T. (1973). Le sens électrique. *Arch. Ital. Biol.*, **III** : 387-395.

SZABO T. (1974). Anatomy of the specialized lateral line organs of electroreception. *Hb. Sensory Physiology*, **III** (3) : 13-58.

SZABO T. & E.E. SUCKLING (1964). L'arrêt occasionnel de la décharge électrique du *Gymnarchus* est-il une réaction naturelle ? *Naturwissenschaften*, **51** : 92.

TOERRING M.J. & J. SERRIER (1978). Influence of water temperature on the electric organ discharge (EOD) of the weakly electric fish *Marcusenius cyprynoides* (Mormyridae). *J. Exp. Biol.*, **74** : 133-150.

TRAN MINH C. (1991). Les biocapteurs : principes, construction et applications. *Edition Masson, Paris*, 158 pages.

TRAN-MINH C. (1985). Immobilized enzyme probes for determining inhibitors. *Ion-Selective Electrode Rev.*, 7 : 41-75.

TURNER A.P.F., G. RAMSEY & I.J. HIGGINS (1983). Applications of electron transfer between biological systems and electrodes. *Bioch. Soc. Trans.*, **11** : 445-448.

VAN DER PUTTE I., W. VAN DER GALIEN & J.J.T.W.A. STRIK (1982). Effects of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure at two different pH levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **6** : 246-257.

VAN DER SCHALIE W.H. (1986). Can biological monitoring early warning systems be useful in detecting toxic materials in water ? In *"Aquatic Toxicology and Environmental Fate", POSTON, T.M. and R. PURDY, Eds., Ninth volume, ASTM STP 921, American Society for Testing and Materials, Philadelphia* : 107-121.

VAN DER SCHALIE W.H., K.L. DICKSON, G.F. WESTLAKE & J.Jr. CAIRNS, (1979). Fish bioassay monitoring of waste effluents. *Environ. Manag.*, **3** (3) : 217-235.

VAN HOOF F. (1980). Evaluation for an automatic system for detection of toxic substances in surface water using trout. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **25** : 221-225.

VAN HOOF F., H. SLUYTS, A. CORNET & D. BERCKMANS (1994). Experiences with biological early warning systems on Flemish surface waters. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* : 83-87.

VAN HOOF F.M., E.G. DE JONGHE, M.G. BRIERS, P.D. HANSEN, H.J. PLUTA, D.M. RAWSON & A.J. WILMER (1992). The evaluation of bacterial biosensors for screening of water pollutants. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, 7 (1) : 19-33.

VANROLLEGHEM P.A., Z. KONG, G. ROMBOUTS & W. VERSTRAETE (1994). An on-line respirographic biosensor for the characterization of load and toxicity of wastewaters. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **59** (4) : 321-333.

VASSEUR P., J.F. FERARD, C. RAST & P. WEINGERTNER (1986). Le test Microtox et le contrôle de la qualité des eaux. *J. Fr. Hydrol.*, **17** (2) : 153-162.

VERNEAUX J. & G. TUFFERY (1967). Une méthode zoologique pratique de détermination de la qualité biologique des eaux courantes. *Annal. Sc. Univ. Besançon Zool.*, **3** (3) : 79-89.

VON DER EMDE G. (1993). The sensing of electrical capacitances by weakly electric Mormyrid fish: effects of water conductivity. *J. Exp. Biol.*, **181** : 157-173.

WALLER W.T. & J.Jr. CAIRNS (1972). The use of fish movement patterns to monitor zinc in water. *Wat. Res.*, **6** : 257-269.

WALLWORK J.F. & G. ELLISON (1983). Automated sensor systems for water resource pollution warning and treatment process control. *Aqua*, **6** : 313-320.

WALUGA D. (1966). Phenol effects on the anatomico-histopathological changes in bream (*Abramis brama* L.). *Acta Hydrobiol.*, **8** (1) : 55-78.

WATANABE A. and K. TAKEDA (1963). The change of discharge frequency by A.C. stimulus in a weak electric fish. *J. Exp. Biol.*, **40** : 57-66.

WEISS C.M. & J.L. BOTTS (1957). Factors affecting the response of fish to toxic materials. *Sewage Ind. Wastes*, **29** : 810-818.

WESTBY G.W.M. (1984). Electroreception and communication in electric fish. *Sci. Prog. Oxf.*, **69** : 291-313.

WESTLAKE G.F., J.B. SPRAGUE, R.J. HINES & I.T. BROWN (1983a). Sublethal effects of treated liquid effluent from a petroleum refinery. III. Avoidance and other locomotor responses of rainbow trout. *Aquatic Toxicol.*, **4** : 235-245.

WESTLAKE G.F., J.B. SPRAGUE & I.T. BROWN (1983b). Sublethal effects of treated liquid effluent from a petroleum refinery. IV. Respiratory movements and coughing of rainbow trout. *Aquatic Toxicol.*, **4** : 317-325.

WESTLAKE G.F., W.H. VAN DER SCHALIE, J.Jr. CAIRNS & K.L. DICKSON (1976). The use of fish to continuously monitor an industrial effluent. Dans *"Environmental Sensing and Assessment", Proceedings of the International Conference, Institute of Electrical and Electronic Engineers, Inc.*, **1** (n° 18-4) : 1-3.

WILLINGHAM C.A. & K.J. ANDERSON (1966). Use of microorganisms for detecting toxic materials in water. Part I. *Wat. Sew. Wks.*, **113** : 464-467.

WILLINGHAM C.A. & K.J. ANDERSON (1967). Use of microorganisms for detecting toxic materials in water. Part II. *Wat. Sew. Wks.*, **114** : 25-28.

WOERTHER P. & M. BLANCHARD (1994). Le valvomètre. Dans *"Recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque Européen, Nancy, 13-14 octobre 1994* :149-151.

WUHRMANN K. (1952). Sur quelques principes de la toxicologie du poisson. *Bull. C.B.E.D.E., Tr.*, **15** : 49-60.

WUHRMANN K. & H. WOKER (1953). Beiträge zur Toxikologie der fische. VIII. Über die Giftwirkungen von Ammoniak- und Zyanidlösungen mit verschiedener Sauerstoffspannung und Temperatur auf Fische. *Schweiz. Z. Hydrol.*, **15** : 235-260.

WUHRMANN K. & H. WOKER (1955). Influence of temperature and oxygen tension on the toxicity of poisons to fish. *Int. Ver. Theor. Angew. Limn.*, **12** : 795-801.

ZBANYSZECK R. & L.S. SMITH (1984). The effect of water-soluble aromatic hydrocarbons on some haematological parameters of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during acute exposure. *J. Fish. Biol.*, **24** (5) : 545-552.

ZUPANC G.K.H. (1986). The effect of temperature on frequency and waveform of the electric organ discharge in the weakly electric knifefish, *Eigenmannia lineata*. *News lett. Int. Ass. Fish Ethol.*, **9** (4) : 30-35.

ZUPANC G.K.H. (1988). Das experiment : Temperatureinflüsse auf das Verhalten von schwach-elektrischen Fischen. *Biologie in unserer Zeit*, **18** (1) : 25-30.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes :

Thomas M. & D. Terver (1994). Le recours biologique pour la surveillance de la qualité des eaux. *Ichtyophysiologica Acta*, **17** : 167-188.

Florion A., M. Thomas, D. Chrétien & D. Terver (1994). Procédé et installation pour la surveillance des milieux aqueux par des animaux aquatiques électrogènes. Brevet français n°93 14209.

Thomas M., D. Chrétien, A. Florion & D. Terver (1996). Real-time detection of potassium cyanide pollution in surface waters using electric organ discharges wave emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Environmental Technology*, publication en cours.

Thomas M., A. Florion, D. Chrétien & D. Terver (1994). Comparaison des performances de deux biocapteurs appliqués à la surveillance de la qualité des eaux. *Dans "Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque européen, 13-14 octobre 1994, Nancy* : 10 pages.

Thomas M., A. Florion, D. Chrétien & D. Terver (1994). Biodétection des pollutions accidentelles des eaux de surface par des poissons électriques tropicaux. *Dans "Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux", Colloque européen, 13-14 octobre 1994, Nancy* : 3 pages.

Thomas M., A. Florion, D. Chrétien & D. Terver (1995). *Apteronotus albifrons*, un poisson électrique détecteur de pollution. Colloque *"De la pluie au milieu naturel"*, 29-30 mars 1995, Nancy.

A B S T R A C T

This thesis describes a novel biological early warning system which exploits the real time electric signals generated by the tropical freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Gymnotiforms), to detect surface water pollution.

The research work was organised around four main axes.

- We devoted the first part to assessing the current state of knowledge about biomonitors and biosensors. This highlighted the existence of a multiplicity of systems, the diversity of which stems both from the types of species used and the principles developed.
- The second part presents the description of the new method for biological survey. The underlying principle is based on time characterisation in terms frequency and wave form of the *A. albifrons* electric organ discharge. These two electric parameters, which are normally stable with respect to time, are affected in a toxic environment.
- The third part investigates the influence, on the bioelectric signal characteristics, of several physico-chemical parameters such as temperature, pH value, conductivity and dissolved oxygen. Results show that the frequency of the *A. albifrons* electric discharge depends strongly on the temperature of water. The same parameter also depends, though to a lesser extent, on both the pH and the concentration of dissolveld oxygen. On the contrary, there was no evidence of the influence of the physico-chemical parameters on the wave form of the signal.
- The final part establishes the *A. albifrons* toxicological sensitivity profiles for six pollutants. This new method allows detection in less than 35 minutes, of the following pollutant concentrations: 35 $\mu g.l^{-1}$ of cyanide, 1 $mg.l^{-1}$ of phenol, 500 $\mu g.l^{-1}$ of atrazine, 1 $mg.l^{-1}$ of trichloroethylene, 2.7 $mg.l^{-1}$ of chrome (VI) and between 1.9 and 18.4 $mg.l^{-1}$ of diesel.

All along this study, the problems of data reliability and viability as well as of the variability of the responses exploited were considered at length.

K e y w o r d s : Biomonitoring, surface water, pollution, quality, toxicity, biosensor, electric fish, Gymnotiform, Apteronotidae.

R E S U M E

BIBLIOTHEQUE SCIENCES UNIVERSITÉ NANCY 1

Cette thèse décrit un nouveau système de détection biologique des pollutions des eaux de surface, qui exploite en temps réel des signaux électriques engendrés par un poisson tropical d'eau douce, *Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes).

Le travail de recherche s'est articulé autour de quatre grands axes.

- Dans la première partie, nous réalisons un bilan des connaissances actuelles dans le domaine des biodétecteurs et des biocapteurs. Il montre la multiplicité des systèmes, dont la diversité s'exprime aussi bien du point de vue de l'espèce utilisée que du principe développé.
- La seconde partie décrit le nouveau procédé de détection biologique. Son principe est fondé sur une caractérisation temporelle du signal électrique engendré par *A. albifrons*, en termes de fréquence et de forme. Ces deux caractéristiques électriques, naturellement stables dans le temps, sont affectées par un environnement toxique.
- La troisième partie traite de l'influence de plusieurs paramètres physico-chimiques (température, pH, conductivité et oxygène dissous) sur les caractéristiques des signaux bioélectriques. Elle révèle que la fréquence de décharge des poissons est une grandeur fortement dépendante de la température de l'eau. Dans une moindre mesure, cette caractéristique électrique est aussi fonction du pH et de la concentration en oxygène dissous. En revanche, aucune influence des paramètres physico-chimiques sur la forme du signal n'a été mise en évidence.
- Enfin la dernière partie dresse le profil de sensibilité toxicologique d'*A. albifrons* vis-à-vis de six substances polluantes. La mise en œuvre de ce nouveau procédé permet la détection en moins de 35 minutes des concentrations suivantes : 35 $\mu g.l^{-1}$ de cyanure, 1 $mg.l^{-1}$ de phénol, 500 $\mu g.l^{-1}$ d'atrazine, 1 $mg.l^{-1}$ de trichloroéthylène, 2,7 $mg.l^{-1}$ de chrome (VI) et une gamme de 1,9 à 18,4 $mg.l^{-1}$ de gazole.

Au travers de cette étude, des problèmes concernant la fiabilité et la crédibilité des informations collectées ainsi que la variabilité des réponses exploitées sont aussi considérés. Enfin, des hypothèses sont proposées pour expliquer les modes d'action toxiques sur la capacité électrogène d'*A. albifrons*.

M o t s - c l é s : Biosurveillance, eau de surface, pollution, qualité, toxicité, biodétecteur, poisson électrique, Gymnotiformes, Apteronotidae.