



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Et Ecologie Végétale

قسم : : بيولوجيا و علم البيئة النباتية.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Fondamentale et Appliquée

Intitulé :

**Evaluation de la toxicité aiguë et du comportement
d'évitement chez le taxon *Aporrectodea trapezoides* (Duges,
1828) vis-à-vis de l'acétamipride (insecticide).**

Présenté et soutenu par : *HOUADEG Islem Eddine*

Le : 14/09/2021

Jury d'évaluation :

Président du jury : SAHLI L.

Prof.

FSNV-UFMC1

Rapporteur :

EL HADEF EL OKKI M.

MCB

INATAA-UFMC1

Examineurs :

AMRI S.

MCB

FSNV-UFMC1

*Année universitaire
2020 – 2021*

Remerciements

Avant tous je glorifie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience qui m'ont permis d'accomplir ce travail, dans le cadre de Master 2 en Ecologie fondamentale et appliqué.

Tout d'abord je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements les plus intense à mon encadrant M. Mohamed EL-HADEF EL-OKKI , pour tout le temps qu'il m'a consacré tout au long de ce travail et pour toutes les précieuses informations qu'il a pu m'apporter ainsi que pour ses conseils pertinents , pour sa compréhension et sa disponibilité d'une part et de m'avoir fait découvrir le travail du laboratoire mais aussi pour son immense contribution dans la rédaction de ce manuscrit d'autre part .

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements au Prof. SAHLI L., pour avoir à accepter de présider ce jury, qui a été bien plus qu'une enseignante pour moi tout au long de mon parcours en spécialité, un modèle de rigueur, de sagesse, de sérieux et une inépuisable source de connaissance.

Mes plus vifs remerciements vont à Mme AMRI S., pour avoir à accepter d'examiner et d'évaluer ce travail, Qu'elle retrouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Toute ma gratitude va à l'ensemble du personnel du Département d'Ecologie, de l'Université des frères Mentouri (Enseignants, Techniciens, ...) ainsi qu'à ceux du laboratoire de recherche de biologie pour leur précieuse aide.

Afin de n'oublier personne je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire :

En premier lieu à « ALLAH » qui m'a guidé sur le droit chemin

*Mes parents pour leur soutien, patience et soucis puisse dieu vous accorder santé,
bonheur et longue vie,*

*Mon très chère père « Abd El hamid » celui qui sacrifie son tout pour satisfaire
mes besoins, et qui est toujours prêt à m'aider et m'encourager, je lui confirme
mon attachement et mon profond respect, amour et gratitude,*

*Ma très chère mère « Sabah » elle qui était avec moi sur toutes mes étapes en
priant pour mon bonheur et mon succès qui m'encouragé durant toutes mes
études et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu qu'elle trouve ici mon
amour et mon affection,*

*A ma chère sœur « Kouloud » et leur époux « Salah » et sons neveu « Mohamed
Amir »,*

A ma chère sœur « Ikram »,

A mon chère frère « Haithem »,

pour leurs encouragements permanant et leur soutien moral,

*A ma très chère amie « Maroua » qui était la raison qui m'a fait avancer elle ma
encourager, me soutenir, m'aider et m'entendre et rester à mes côtés, que ma
gratitude et mes remerciements vous parviennent.*

*A tous mes enseignants et collègues de promotion d'écologie fondamentale et
appliquer 2020/2021.*

Houadeg Islem Eddine

Résumé

Ce travail a été effectué dans le but d'évaluer la toxicité expérimentale de l'Acétamipride à partir de sa préparation commerciale « Aceplan » sur le taxon lombricien *Aporrectodea trapezoides*. Pour cela nous nous sommes proposé d'effectuer deux tests, test de toxicité aiguë sur papier filtre dans le but de déterminer la CL50 de cet élément ainsi qu'un test d'évitement afin d'identifier le seuil auquel le comportement d'évitement apparaît pour le taxon étudié, tout cela dans des conditions de laboratoire contrôlées.

Les tests ont été réalisés sur des individus adultes d'*A. trapezoides* issus d'un élevage dont les premiers vers ont été récoltés en 2018 dans la même région que le sol utilisé dans ces tests (i.e. région de Chettaba). Il s'agit d'un sol naturel éloignée de toute source de perturbation anthropique.

Les résultats obtenus lors de nos tests et en référence à la CL50 l'Acétamipride se révéla comme très toxique et provoqué une réponse rapide chez les vers testés du taxon *A. trapezoides*, d'autres part pour le test d'évitement il apparaît que le comportement de vers de terre se manifeste à une dose de 0,25 mg d'acétamipride par kg de sol et que pour les doses inférieures à celle-ci les vers de terre arrivent à résister de la présence de cet insecticide dans le sol.

Mots clé : *A. trapezoides*, Acétamipride, Test de toxicité aiguë, Test d'évitement

Abstract

This work was carried out with the aim of evaluating the experimental toxicity of Acetamiprid from its commercial preparation "Aceplan" on the earthworm taxon *Aporrectodea trapezoides*. For this we proposed to perform two tests, acute toxicity test on filter paper in order to determine the LC50 of this element as well as an avoidance test in order to identify the threshold at which the avoidance behavior appears for the taxon to be studied, all this under controlled laboratory conditions.

The tests were performed on adult individuals of *A. trapezoides* from a farm whose first worms were collected in 2018 in the same region as the soil used in these tests (i.e. Chettaba region). This is a natural soil far from any source of anthropogenic disturbance.

The results obtained during our tests and with reference to the LC50 Acetamiprid proved to be very toxic and provoked a rapid response in the worms tested for the taxon *A. trapezoides*, on the other hand for the avoidance test it appears that the Earthworm behavior is manifested at a dose of 0.25 mg of acetamiprid per kg of soil and that for doses lower than this the earthworms manage to resist the presence of this insecticide in the soil.

Keywords : *A. trapezoides*, Acetamiprid, Acute toxicity test, Avoidance test.

المخلص

تم انجاز هذا العمل بهدف تقييم السمية التجريبية للأسيتامبيريد من إعداد التجاري "اسيبلان" على تصنيف دودة الأرض، أبوريكتوديا ترايبزويد، ولهذا اقترحنا إجراء اختبارين، اختبار السمية الحادة على ورق الترشيح من أجل تحديد الجرعة القاتلة ل 50 % من هذا العنصر بالإضافة إلى اختبار التجنب من أجل تحديد العتبة التي يظهر عندها سلوك التجنب للصنف المراد دراسته، كل هذا في ظل ظروف خاضعة للرقابة.

تم إجراء الاختبارات على الأفراد البالغين من أبوريكتوديا ترايبزويد، من مزرعة تم جمع ديدانها الأولى في عام 2018 في نفس المنطقة التي احضرت منها التربة المستخدمة في هذه الاختبارات (منطقة شطابة) هذه تربة طبيعية بعيدة عن أي مصدر للاضطرابات البشرية.

النتائج التي تم الحصول عليها خلال اختبار اتنا وبالرجوع إلى الجرعة القاتلة ل 50% من للأسيتامبيريد تبين أنها شديدة السمية وأثارت استجابة سريعة في الديدان التي تم اختبارها من تصنيف أبوريكتوديا ترايبزويد.

من ناحية أخرى بالنسبة لاختبار التجنب يبدو أن سلوك دودة الأرض هو يتجلى بجرعة 0.25 مغ من الأسيتامبيريد لكل كيلوغرام من التربة، وأنه بالنسبة، للجرعات الأقل من ذلك، تستطيع ديدان الأرض مقاومة وجود هذا المبيد الحشري في التربة.

الكلمات المفتاحية: أسيتامبيريد، أبوريكتوديا ترايبزويد، اختبار السمية الحادة، اختبار التجنب

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation OR.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

UV : Ultra-violet

MO : Matière organique

J.C : Jésus-Christ

OCDE : Organisation for Economic Cooperation and Development.

Log K_{oe} : Coefficient de partage octanol-eau

NPK : N : azote ; P : phosphore ; K : potasse

NF : norme française.

GEPPA : Groupe d'Etude des Problèmes de Pédologie Appliquée.

SSDS : Soil Survey Division Staff

Liste des figures

Figure 1 : Composition d'un pesticide (Diehl, 1975).....	3
Figure 2 : Comportement des pesticides dans l'environnement (Atmo, 2017).....	7
Figure 3 : morphologie d'un ver de terre (d'après Sims et Gerard, 1999).	9
Figure 4 : Disposition des soies chez les vers de terre (Bachelier, 1978).	10
Figure 5 : Anatomie interne du lombric ouvert par la face dorsale. (Villeneuve et Désire, 1965).....	11
Figure 6 : Les organes reproducteurs chez le lombric (Gauer, 2007).	12
Figure 7 : La reproduction chez le ver de terre (Gauer, 2007).	12
Figure 8 : Répartition écologique des vers de terre (Source : OPVT- OSUR/Univ. Rennes, in Bencheikh El Hocine, 2016).....	13
Figure 9 : Cycle de ver de terre (Hipp, 2005).....	16
Figure 10 : L'insecticide utilisé « Aceplan » (Acétamipride 20 % SP).....	23
Figure 11 : Schéma de la molécule d'acétamipride (Jeschke <i>et al.</i> , 2011).....	24
Figure 12 : Le ver de terre <i>Aporrectodea trapezoides</i> (Dugès 1826).	25
Figure 13 : Préparation des vers de terre.	26
Figure 14 : Etapes de préparation du sol utilisé.....	27
Figure 15 : Plan expérimentale du test de toxicité aiguë sur papier filtre.	30
Figure 16 : Plan expérimentale du test d'évitement dans les cylindres.....	32
Figure 17 : Taux de mortalité enregistrée durant le test de toxicité.	35
Figure 18 : Courbe log(concentration)-réponse avec les taux de mortalités enregistrés après 48 heures.....	35
Figure 19 : Différents symptômes observés chez les vers testés.....	36

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes de pesticides (PAN 2010).	4
Tableau 2 : Classification des insecticides selon leur nature chimique (IRAC 2016).	4
Tableau 3 : Principales caractéristiques des trois catégories écologiques de vers de terre décrites par Bouché (1972 ; 1977 ; <i>in</i> Bazri, 2015).	14
Tableau 4 : Caractéristiques de l’Aceptan.	24
Tableau 5 : Résultats de la caractérisation physicochimique du sol utilisé dans le test d’évitement.	28
Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du terreau Fertiplus de Ferm O Feed.	29
Tableau 7 : Taux de mortalité enregistrée chez vers testés.	34
Tableau 8 : Valeurs des concentrations léthales après 24H et 48H.	35
Tableau 9 : Résultats du dénombrement et de l’évitement des vers dans les cylindres.	37
Tableau 10 : les valeurs de la concentration efficace du test d’évitement après 48 heures. ...	38

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Pesticides dans le sol	2
1.1. Généralités.....	2
1.2. Principales caractéristiques	2
1.3. Propriétés physicochimiques des pesticides.....	3
1.4. Classification.....	3
1.4.1. Nature des nuisibles	4
1.4.2. La nature chimique.....	4
1.5. Utilisation des pesticides.....	5
1.6. Comportements des pesticides dans le sol	6
1.7. Impacts des pesticides sur l'environnement.....	7
2. Les Lombriciens (Ingénieurs des écosystèmes)	9
2.1. Biologie des vers de terre	9
2.1.1. Morphologie.....	9
2.1.2. Anatomie des vers de terre.....	10
2.1.3. Reproduction.....	11
2.2. Catégories écologiques.....	13
2.2.1. Les épigés.....	13
2.2.2. Les anéciques	14
2.2.3. Les endogés.....	14
2.3. Cycle et durée de vie	15
2.4. Rôle des vers de terre dans le sol	16
2.5. Bioindication de la qualité des sols.....	17
3. Interaction ver de terre-pesticide	18
3.1. Exposition	19
3.2. Effets des pesticides chez les vers de terre.....	19
3.2.1. Effets sub-létaux	20
3.2.2. Effets sur la croissance.....	20
3.2.3. Effets sur la reproduction.....	20
3.2.4. Effet sur les bactéries intestinales	21
3.3. Métabolisme des pesticides.....	21
3.4. Bioconcentration et bioaccumulation.....	21

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Matériel utilisé.....	23
1.1. L'insecticide.....	23
1.2. Le matériel biologique.....	25
1.3. Le sol.....	27
1.5. Les supports.....	29
2. Test de toxicité aiguë par contact.....	30
2.1. Déroulement du test.....	30
2.2. Mesures et observations.....	31
3. Test d'évitement.....	31
3.1. Déroulement du test.....	32
3.2. Mesures et observations.....	33

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Test de toxicité aiguë.....	34
1.1. Validation du test.....	34
1.2. Mortalité.....	34
1.3. Détermination de la CL_{50}	34
1.4. Observations du comportement des vers.....	36
2. Test d'évitement.....	37
2.1. Validation du test.....	37
2.2. Dénombrement.....	37
2.3. Détermination de la CE_{50}	38
2.4. Observations du comportement des vers.....	38
3. Discussion.....	38
3.1. Test de toxicité aiguë.....	38
3.2. Test d'évitement.....	40

Conclusion.....	42
------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	44
---	-----------

Annexes

Introduction

Introduction

Les pesticides sont devenus une partie indissociable de la production et de la technologie agricoles modernes. Ils ne devraient être toxiques que pour les organismes cibles, biodégradables et respectueux de l'environnement (Rosell et al., 2008). Cependant, ils ont souvent pour effet d'affecter l'écosystème du sol, causant de lourds dommages à la pédofaune (Hole et al., 2005 ; Mangala et al., 2009). Parmi les différentes classes de pesticides, les insecticides sont la classe de pesticides la plus toxique. En plus, les néonicotinoïdes, la classe chimique la plus importante des insecticides sur le marché mondial, comprennent actuellement une petite dizaine de molécules, souvent des dérivés soufrés ou chlorés, tels que l'acétamipride, le clothianidine, l'imidaclopride, le thiaclopride, etc. (Tooker et al., 2017). Ces substances actives agissant sur le système nerveux central des organismes cibles mais présentent aussi un risque majeur pour les organismes non cibles (Mahmood, 2016).

Les organismes non ciblés, tels que les vers de terre, sont exposés à des applications des insecticides fréquentes et différentes. Les services incroyables fournis par ces organismes à l'écosystème sont en quelque sorte menacés, et par conséquent, les effets des insecticides sur ces organismes devraient être étudiés. Ils ont été utilisés comme bioindicateurs de la qualité des sols et des impacts environnementaux des systèmes de culture (Paoletti, 1999 ; Cortet et al., 2002).

Un objectif important de l'écotoxicologie des vers de terre est de pouvoir prédire les effets des produits chimiques nocifs sur le terrain sur la base d'expériences en laboratoire. De Silva (2009) suggère que l'espèce *E. fetida*, recommandée par l'organisation internationale de standardisation (ISO), est moins pertinent sur le plan écologique. L'évaluation des risques sera plus réaliste lorsqu'elle est menée sur des espèces écologiquement pertinentes, tel que le taxon *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828). En effet, ce taxon est le plus dominant dans le monde (espèce cosmopolite) et vit en permanence dans le sol (endogé) sous différents climats (Blakemore, 2010). En plus, il est fortement recommandé dans les études appliquées et les tests écotoxicologiques pour les composés organiques (Wang et al., 2012).

Dans ce travail, nous nous sommes proposés de mettre en évidence la toxicité de l'acétamipride. Le ver de terre, *Aporrectodea trapezoides*, est utilisé comme organisme modèle pour évaluer l'effet toxique de cet insecticide et déterminer le comportement d'évitement de ces espèces vis-à-vis de la présence de l'acétamipride dans le sol.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1. Pesticides dans le sol

1.1. Généralités

Le terme pesticide dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement (Berrah, 2011).

L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) définit ainsi les pesticides : toute substance ou association de substances qui est destinée à prévenir, détruire, attirer, repousser ou lutter contre tout élément nuisible, plante ou insecte, pendant la production, l'entreposage, le transport, la distribution et la transformation des denrées alimentaires, des produits agricoles, etc. (Batsh, 2011).

Selon (Merhi, 2008), les pesticides à usage agricole peuvent être caractérisés de différentes manières : produits agro-pharmaceutiques pour les scientifiques agronomes, les produits phytopharmaceutiques pour la réglementation européenne et les produits phytosanitaires pour les firmes qui les fabriquent et les vendent.

1.2. Principales caractéristiques

La plupart des pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse, sont des produits biologiquement actifs et donc intentionnellement toxiques pour certains organismes (Regnault-Roger *et al.*, 2005). La formulation des pesticides vise à assurer une efficacité optimale à la substance active et à en faciliter l'application pour l'agriculteur (Fournier *et al.*, 2002).

D'après (Diehl, 1975), un pesticide est constitué de nombreuses molécules comprenant (fig. 01) :

- **Une ou plusieurs matières actives** : ce sont des éléments principaux permettant l'efficacité du pesticide qui confèrent au produit l'effet désiré ;
- **Un diluant** : qui est une matière solide ou un liquide incorporé à une préparation et destiné principalement à diminuer la concentration de la matière active. Dans le cas d'une préparation liquide, il s'agit d'un solvant, d'argile ou de talc pour les préparations solides ;
- **Un ou plusieurs additifs (adjuvants)** : ce sont des substances qui améliorent l'efficacité de la matière active ainsi que les propriétés physiques et physicochimiques de la préparation et la sécurité du produit. Ces adjuvants

comprennent des stabilisants, des adhésifs, des colorants, des matières répulsives, des tensio-actifs, des émulsionnants et parfois des antidotes.

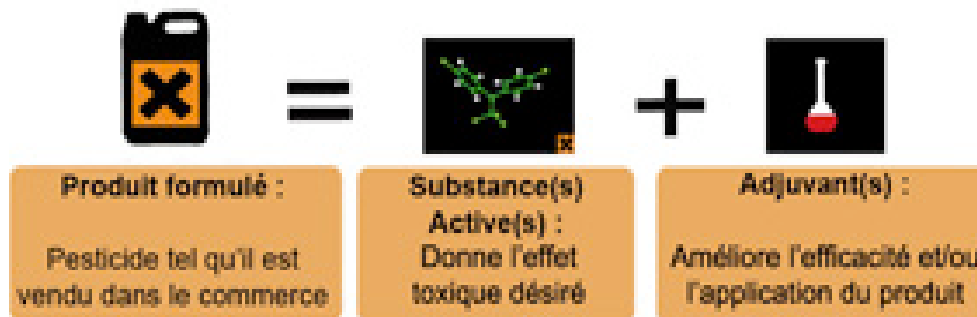


Figure 1 : Composition d'un pesticide (Diehl, 1975).

1.3. Propriétés physicochimiques des pesticides

Les pesticides regroupent une grande diversité de structures chimiques et chaque molécule constitue une entité qui se caractérise par un ensemble de propriétés bien spécifiques :

- Taille moléculaire ;
- Encombrement stérique ;
- Basicité ou acidité ;
- Constante de dissociation ;
- Coefficient de partage octanol-eau ;
- Solubilité dans l'eau ;
- Tension de vapeur.

Le caractère hydrophobe d'un pesticide augmente lorsque sa solubilité dans l'eau diminue, et il en résulte une rétention plus intense par la matière organique du sol. La force d'attraction entre la molécule adsorbée et une surface argileuse est directement proportionnelle à son pôle dipolaire et inversement proportionnelle à sa constante diélectrique (Boucher et Margoum, 2003).

1.4. Classification

En raison de la grande diversité, il est vraiment difficile de fournir un schéma général pour la classification de divers pesticides. D'une manière générale, ils sont classés selon deux critères :

1.4.1. Nature des nuisibles

Selon la nature de l'ennemi ciblé, les pesticides sont classés en insecticides, fongicides, herbicides, rodenticides, nématicides, molluscicides et régulateurs de croissance des plantes. Chaque groupe est spécifiquement conçu pour cibler des organismes, mais ils ont des effets toxiques indésirables sur d'autres organismes non ciblés (Wang *et al.*, 2012).

Tableau 1 : Principales classes de pesticides (PAN 2010).

Types de pesticides	Utilisation et action	Exemples
Insecticides	Une substance utilisée pour contrôler ou éliminer ou empêcher l'attaque des insectes qui détruit/tue/atténue les plantes/animaux.	DDT, méthyl parathion, phorate, chloropyrifos, imidaclopride, cyperméthrine, diméthoate
Herbicides	Substances utilisées pour lutter contre les mauvaises herbes nuisibles et autres végétaux qui poussent avec les espèces désirées, provoquant une mauvaise croissance des plantes.	Acétochlor, Butachlore, Terbis, Glyphosate, 2,4-D et 2,4,5-T.
Fongicides	Substances utilisées pour détruire ou inhiber la croissance des champignons/maladies qui infectent les plantes/animaux.	Carbendazime, Ampropylfos, Carboxine
Rodenticides	Les produits chimiques utilisés pour les rongeurs tuer des souris -à- dire, le rat <i>etc</i> .	Warfarine, Oxyde d'arsenic
Nématicides	Substances utilisées pour repousser ou inhiber les nématodes endommageant diverses cultures.	Aldicarbe, Carbofuran
Molluscicides	Substances utilisées pour inhiber la croissance et tuer les escargots et les limaces et les petits sans-culottes noirs.	Gardene, Fentin, Sulfate de cuivre.
Régulateurs de croissance des plantes	Une substance qui provoque le retard ou accélère le taux de croissance ou le taux de maturation.	Acibenzolar, Probénazole

1.4.2. La nature chimique

Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes, les triazines et les urées substituées (Merhi, 2008).

Tableau 2 : Classification des insecticides selon leur nature chimique (IRAC 2016).

Groupes principaux	Action	Structure basique	Exemples
Organophosphorés	Inhiber l'AChE dans le système nerveux des organismes cibles		Chloropyrifos, Dichlorovos, Triazophos, Profenofos, Parathion, Phorate,
Organochlorés	Se lie au site GABA Inhibe le flux de chlorure dans le système nerveux des organismes cibles		Chlordane, Endosulfan
Carbamates	Inhiber l'AChE dans le système nerveux des organismes cibles		Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Isoprocarbe
Pyréthroïdes	Agit sur le système nerveux qui provoque des changements dans la perméabilité de la membrane nerveuse aux ions sodium et potassium		Acrinathrine, allethrine, bioalléthrine, cycloprothrine, bêta-cyfluthrine, cyhalothrine, cyperméthrine, pyréthrine
Néonicotinoïdes	Agit comme un agoniste de l'acétylcholine et est donc efficace sur de nombreux insectes		Acétamipride , Clothianidine, Dinotefurane, Imidaclopride, Nitenpyram, Thiaclopride,

1.5. Utilisation des pesticides

Afin d'appréhender de manière pertinente l'étude des pesticides dans l'environnement, il est important d'en connaître les différentes pratiques d'utilisation, afin de cibler les molécules à rechercher mais aussi « les sites » à échantillonner (Cruz, 2015). Le principal usage des pesticides est la protection des cultures, on parle alors de pesticide à usage agricole. Toutefois, ils sont aussi utilisés pour des usages non agricoles, afin de lutter contre des espèces végétales jugées envahissantes pour des raisons de sécurité (infrastructures de transport) ou d'aménagements paysagers (parcs et jardins) (Dugeny, 2010).

D'après Cruz, (2015), l'utilisation des pesticides en milieu agricole dépend des pratiques agricoles qui requièrent l'utilisation de produits spécifiques à des moments précis et

est directement en lien avec les conditions météorologiques. L'année 2012 a par exemple été marquée par une vague de froid en février, un printemps pluvieux et une fin d'été chaude, ce qui a eu pour conséquence d'augmenter la pression des maladies fongiques, et donc le recours aux fongicides (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2013).

Selon Agarwal, (2002), les pesticides sont généralement appliqués sous forme de liquides, de poudres ou de granulés sur les sols, les plantes, les étendues d'eau et les lieux d'établissement humain au moyen de pulvérisateurs à main, de tracteurs avec remorque de pulvérisation ou même par avion. Leurs utilisations est une pratique nécessaire pour l'agriculteur afin de lui assurer un bon rendement agricole (qualitatif et quantitatif), permettant de garantir un revenu acceptable et de compenser les pertes de sol consécutives à leur dégradation (FAO, 1998).

Donc, les pesticides sont utilisés partout dans le monde, dans une mesure qui dépend de divers facteurs, notamment la nature des cultures dominantes, le degré de développement atteint, les conditions climatiques et la fréquence des ravageurs.

1.6. Comportements des pesticides dans le sol

On estime que lors d'un traitement, 80 à 90 % des quantités de pesticides utilisées n'atteignent pas le ravageur visé. Il se produit une dérive des produits vers les différents milieux : le sol qui constitue le support direct d'une culture, l'eau et l'air directement impactés par contact avec ces molécules, puis de manière indirecte les milieux environnants, atteints par ces produits phytosanitaires grâce aux facteurs climatiques tels que la pluie, la percolation ou après évaporation dans l'air (Rial-Otero et al., 2003).

La plus grande partie du produit se dépose sur les plantes et les animaux ou est finalement dégradée par des processus microbiens ou autres. Mais une petite partie du produit se disperse dans l'environnement, vaporisée pour être plus tard déposée par la pluie, une autre demeure dans les sols et une autre encore atteint les eaux de surface et souterraines par ruissellement et lessivage (Pretty, 2005). Si un liquide est appliqué à l'aide d'un vaporisateur, une partie est absorbée par l'air, circule à travers la basse troposphère et se redépose lorsqu'il pleut (Agarwal, 2002).

D'une façon générale, le devenir des pesticides dans le sol met en jeu trois grands processus : la rétention, la dégradation et les transferts (figure) (Calvet et Charnay, 2002).

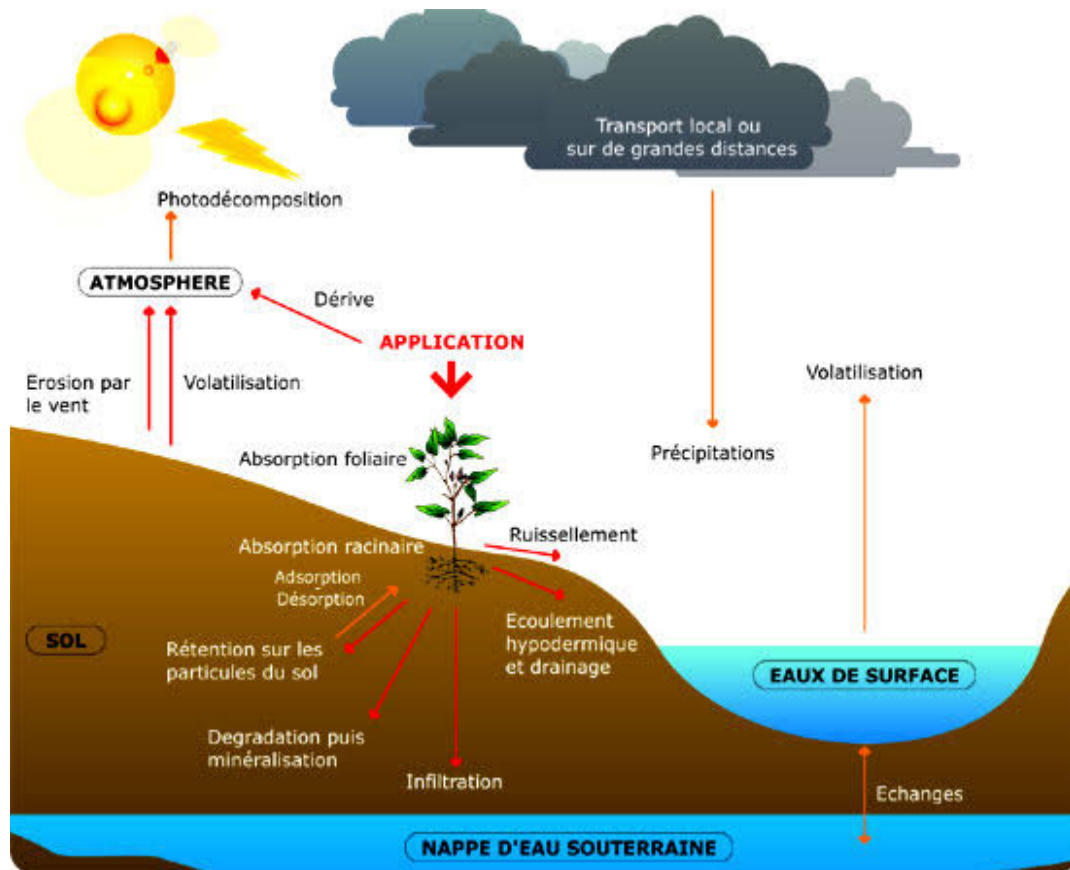


Figure 2 : Comportement des pesticides dans l'environnement (Atmo, 2017)

1.7. Impacts des pesticides sur l'environnement

D'une manière générale, les pesticides engendrent un effet néfaste sur l'environnement, donc un certain nombre de risques à l'égard de la composition chimique de l'air, de l'eau et du sol qui se traduisent par des pollutions dont les conséquences toxicologiques (pour l'homme) et éco-toxicologiques (pour les organismes vivants autres que l'homme) peuvent être préjudiciables à la qualité de l'environnement (Mamy et al., 2008).

Lorsqu'ils se retrouvent dans les milieux naturels (rivières, etc.), les pesticides peuvent avoir différents impacts sur la biodiversité (Tellier et al., 2006). Ils agissent alors à différents niveaux d'organisation biologique : individus et populations, assemblages d'espèces et communautés, écosystème dans son ensemble (Aubertot *et al.*, 2005). Les phénomènes de bioamplification de certains polluants, en particulier de divers pesticides, dans les chaînes trophiques terrestres et aquatiques expliquent la vulnérabilité extrême des espèces situées au sommet de la pyramide écologique (Ramade, 2005).

Selon Guimont, (2005), l'impact d'un pesticide sur l'environnement dépend des propriétés de la molécule ou de la matière active, *i.e.* sa toxicité, sa mobilité et sa vitesse de

dégradation. En plus, l'impact est aussi influencé par la quantité de la matière active employée, de son mode d'application, et des conditions météorologiques lors de l'application (pluie, vent, humidité, etc.).

Selon Abdi et Horia (2004), les relations entre les pesticides et l'environnement sont à double sens :

- *Impact positif* : Les pesticides jouent un rôle primordial pour l'amélioration des rendements des cultures agricoles et pour la conservation des récoltes, que ce soit en traitements préventifs et/ou curatifs. Sans les produits phytosanitaires, les récoltes diminueraient de moitié (denrées alimentaires). De plus, l'emploi des pesticides permet de diminuer les coûts de production grâce à l'utilisation optimale des ressources.
- *Impact négatif* : Les pesticides peuvent se volatiliser (ils sont alors retrouvés dans l'air), être lessivés (présence dans les eaux de pluie), et ruisseler (d'où leur présence dans les eaux de surface ou les eaux souterraines), être absorbés par les plantes, les animaux ou les micro-organismes du sol (contamination des chaînes alimentaires) ou rester dans le sol. Alors, la toxicité des pesticides est directement liée à leur persistance ainsi qu'à leur bioaccumulation dans tous les compartiments de l'environnement.

2. Les Lombriciens (Ingénieurs des écosystèmes)

2.1. Biologie des vers de terre

2.1.1. Morphologie

D'après Lavelle et Spain (2001), Les lombriciens sont des animaux qui appartiennent à la macrofaune du sol. Le corps des vers de terre est cylindrique et formé d'une succession de segments extensibles et semblables compris entre un lobe céphalique (prostomium) et un lobe terminal appelé pygidium (figure 03). Les segments sont munis de pores dorsaux par lesquels, les vers de terre peuvent éjecter un fluide coelomique en réponse à une perturbation mécanique ou chimique (Bachelier, 1978). Comme tous les Oligochètes terrestres les vers de terre n'ont ni yeux, ni tête distincte. Cependant ils possèdent une forte densité de cellules sensorielles (Bazri, 2015).

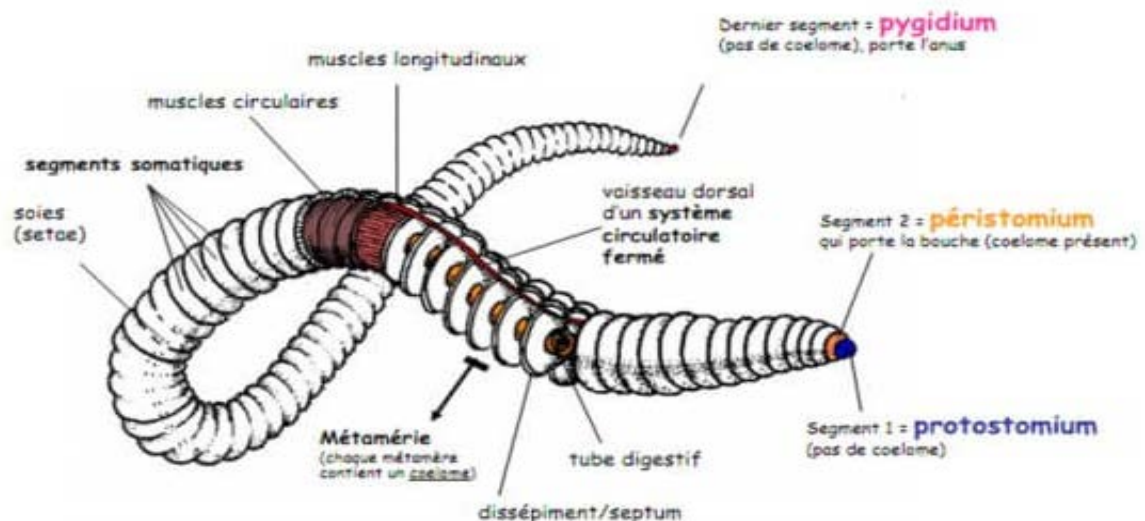


Figure 3 : morphologie d'un ver de terre (d'après Sims et Gerard, 1999).

Les vers de terre ont des longueurs variables, même pour les mêmes espèces dans des différentes conditions de facteur physique comme l'humidité du sol. La longueur minimale est en générale de 2 cm est peut-être moins (Saad hellal, 2015).

La couleur du corps varie le plus souvent du rose au marron et peut être parfois irisée avec des reflets violets. Quelques espèces sont très colorées, orange ou turquoise (James, 1991).

Les vers de terre possèdent des soies rigides, peu nombreuses et de forme peu variée, implantées directement dans les téguments, soit en 8 rangées groupées deux à deux

(disposition lombricienne), soit formant au milieu des segments une ceinture presque complète (disposition périchétienne des Megascolecidae) (figure 04). (Bachelier, 1978).

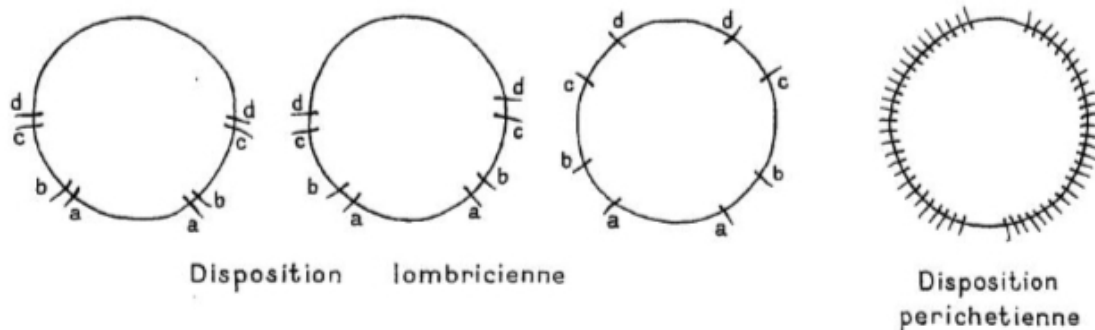


Figure 4 : Disposition des soies chez les vers de terre (Bachelier, 1978).

2.1.2. Anatomie des vers de terre

Les vers de terre sont des cœlomates triploblastiques protostomiens. Il y a existence de cavités coelomiques métamérisées. Ces cavités sont homonomes, c'est-à-dire régulières avec répétition des néphridies et des ganglions. Le corps métamérisé est constitué d'anneaux successifs nommés segments. Ceux-ci sont entourés d'une musculature longitudinale et d'une musculature cylindrique. Le système nerveux est formé par une chaîne nerveuse ventrale (hyponeurien). Les vers de terre présentent un système circulatoire fermé. Il comprend un gros vaisseau dorsal contractile où le sang est propulsé vers l'avant. Cinq à sept paires de cœurs latéraux reprennent le sang et l'envoient vers l'arrière dans un vaisseau ventral. Le tube digestif est assez élaboré (Figure 05) et comprend une bouche, un pharynx qui peut servir de ventouse pour tirer les aliments dans les galeries et de broyeur pour les triturer. Les aliments passent ensuite dans le jabot, reçoivent un apport de carbonate de calcium par les glandes de Morren (ou glandes calcifères), passent dans le gésier qui continue le broyage et atteignent enfin l'intestin. Du fait d'une respiration cutanée, les vers de terre ne possèdent pas de poumons, le corps doit rester humide pour permettre la respiration. Ils sont hermaphrodites, on trouve chez un même individu des caractères mâles et des caractères femelles. En revanche, la reproduction se fait toujours entre deux individus, rare est le cas où il existe une fertilisation directe de l'œuf ou Amphimixie (James, 1991).

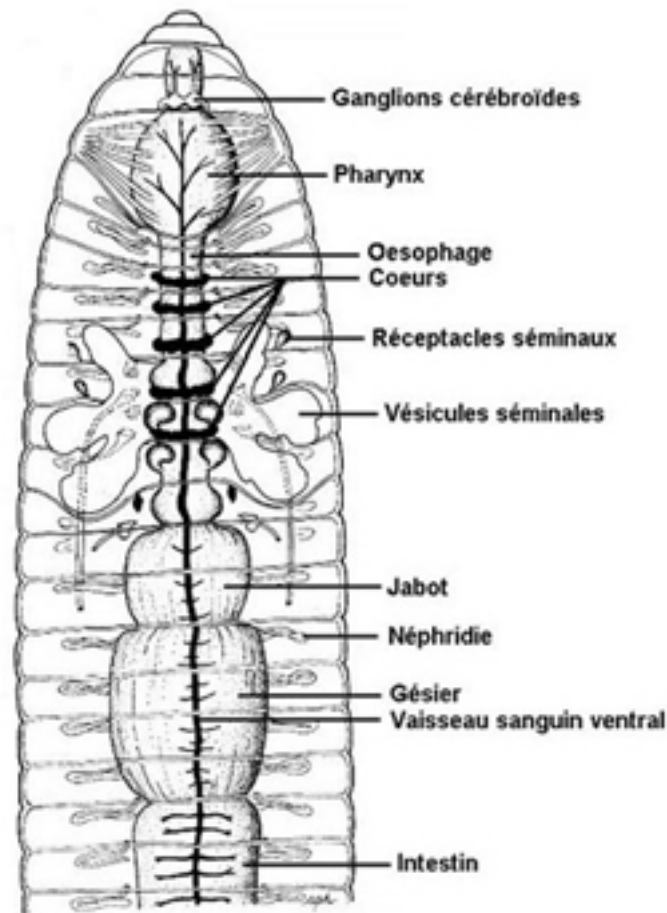


Figure 5 : Anatomie interne du lombric ouvert par la face dorsale. (Villeneuve et Désire, 1965)

2.1.3. Reproduction

Les vers de terre se reproduisent en mieux au printemps et en automne, si les conditions de température et d'humidité dans le sol sont favorables, l'autofécondation a été rarement observée (Herger, 2003 ; Vigot et Cluzeau 2014).

L'accouplement des vers se fait de nuit à la surface des sols (Bachelier, 1978 et Herger, 2003). La maturité sexuelle des individus se caractérise par l'épaississement de la peau dans la partie antérieure (clitellum) ; la présence d'un mucus collant et spécial ; des poils clip protègent les côtés du ventre rapprochés et des gamètes qui se produisent dans les ouvertures reproductrices mâles (Herger, 2003). Les organes reproducteurs mâles sont sur les segments 9,10,11,12 et 15 qui portent l'orifice (fig. 06). Les organes reproducteurs femelles sont sur les segments 13 et 14 qui portent l'orifice. Les spermatozoïdes migrent le long de l'animal pour arriver dans les réceptacles séminaux (spermathèque). Quand ils sont accouplés (fig. 07), les 2 vers sont au stade sexuel mâle. Dans certains cas, il y a accolement du gonopore mâle sur les réceptacles séminaux. Pour la phase de maturation des organes

génétaux femelles, il y a fabrication de la gangue muqueuse au niveau du clitellum puis l'animal recule pour atteindre le segment 9 (Spermathèque) où il y aura fécondation externe, les spermatozoïdes d'un lombric sont déposés sur les organes génitaux femelles de l'autre lombric puis il y a formation d'un cocon (fig. 07) (Gauer, 2007).

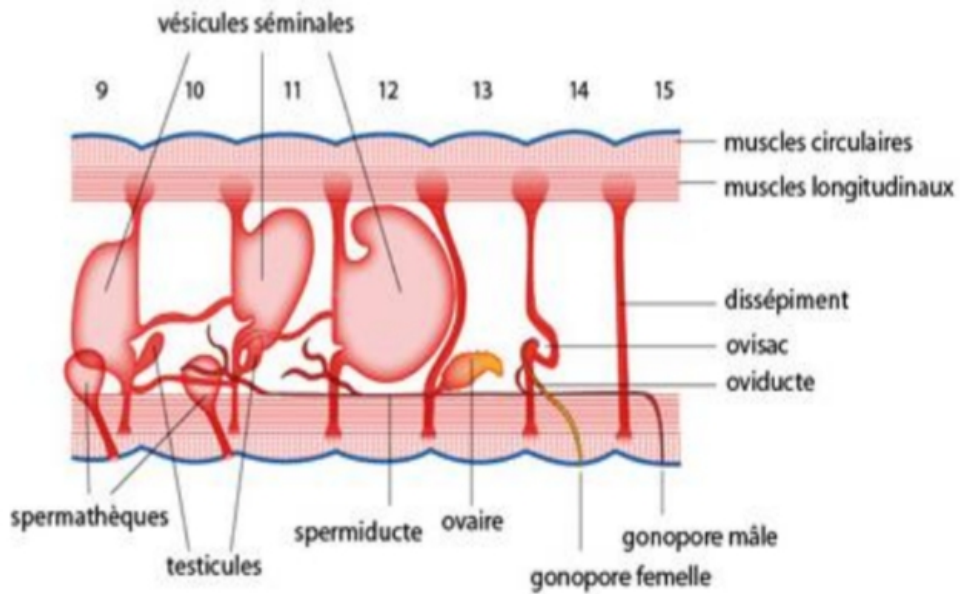


Figure 6 : Les organes reproducteurs chez le lombric (Gauer, 2007).

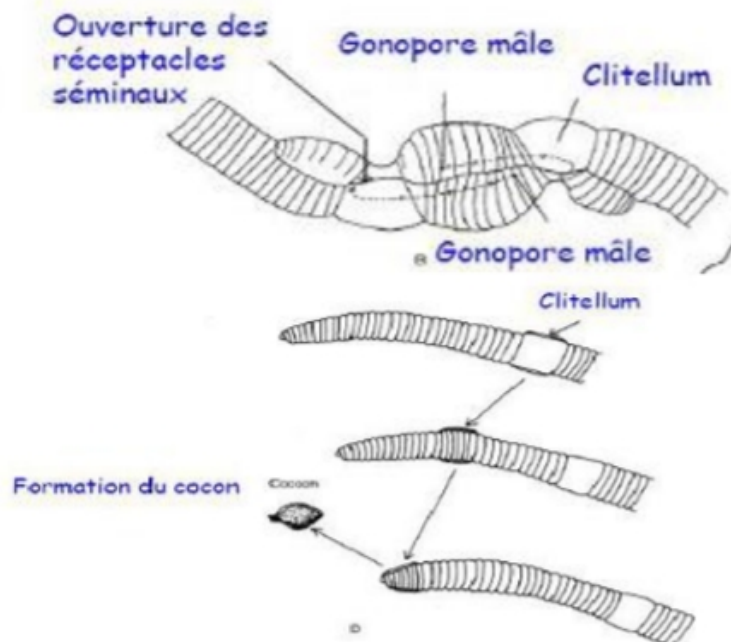


Figure 7 : La reproduction chez le ver de terre (Gauer, 2007).

2.2. Catégories écologiques

Une approche fonctionnelle visant à regrouper des espèces a été entreprise par plusieurs auteurs aboutissant à une classification écologique des espèces en fonction de différents paramètres. Parmi ces travaux, ceux de Bouché (1972 et 1977) et de Lavelle (1981) appliqués aux Lumbricidae regroupent les espèces en s'appuyant sur des critères morphologiques, physiologiques et écologiques (répartition selon la profondeur du sol, l'alimentation, la pression des prédateurs, la mobilité superficielle, la taille, la longévité et la résistance à la sécheresse) et aboutissent à la définition de trois catégories écologiques : épigée, endogée, anécique (tableau 02).

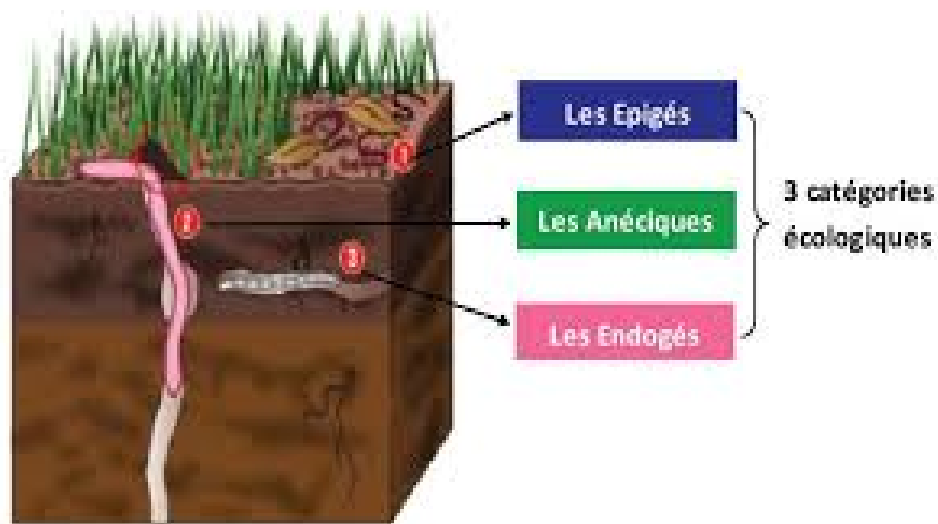


Figure 8 : Répartition écologique des vers de terre (Source : OPVT- OSUR/Univ. Rennes, *in* Bencheikh El Hocine, 2016)

2.2.1. Les épigés

Sont de petite taille (10 à 30 mm) et vivent généralement au niveau de la litière et dans les matières organiques en décomposition. On les trouvera également dans les excréments des grands herbivores ou dans les bois humides en cours de décomposition. Ces espèces sont localisées en surface et sont donc particulièrement sensibles à la prédation, aux variations climatiques et aux facteurs anthropiques tels que le labour des horizons de surface et l'usage de produits phytosanitaires. Leur corps est pigmenté, le dessus est plus foncé que le dessous qui apparaît plutôt beige. Cette pigmentation les protégerait des rayons UV. Les vers de terre épigés jouent un rôle important dans le recyclage de la matière organique (Bouché, 1977 ; Lee, 1985).



2.2.2. Les anéciques

Sont des espèces de couleur brune, de taille moyenne à géante (10 à 110 cm), ce sont ceux qu'on appelle les "lombrics". Ils creusent des galeries verticales profondes à sub-verticales plus ou moins ramifiées s'ouvrant en surface. Ils ont un mode de vie mixte, et se nourrissent de débris organiques prélevés en surface et qu'ils laissent pourrir dans le sol avant de les ingérer avec du sol (Bouché, 1977).

2.2.3. Les endogés

Individus de taille petite à moyenne (de 1 à 20 cm de long, présentant un diamètre moyen de l'ordre de 2 à 4,5 mm), de pigmentation claire, voire apigmentés, et vivant continuellement dans le sol. Ces individus entretiennent un réseau de galeries sub-horizontales à horizontales, très ramifié et de type temporaire, cet aspect temporaire étant lié aux déjections déposées dans leur galerie. Ils puisent leur alimentation soit des racines mortes, soit des matières organiques plus ou moins évoluées et intégrées à la matière minérale (Bouché, 1977).

Tableau 3 : Principales caractéristiques des trois catégories écologiques de vers de terre décrites par Bouché (1972 ; 1977 ; *in* Bazri, 2015).

	Espèce épigée	Espèce anécique	Espèce endogée
Représentants			
Alimentation	Litière décomposée à la surface du sol ; peu ou pas d'ingestion de sol	MO décomposée à la surface du sol, dont une part est emmenée dans les galeries ; un peu d'ingestion de sol	Sol minéral avec préférence pour matériau riche en M.O.
Pigmentation	Sombre, souvent ventrale et dorsale	Moyennement sombre, souvent uniquement dorsale	Peu ou pas pigmenté
Taille adultes	Petite à moyenne (10-30 mm)	Grande (10-110 cm)	Moyenne (1-20 cm) ou Grands
Galeries	Pas ; quelques galeries dans 1 ^{ers} cm de sol par espèces intermédiaires	Grandes galeries verticales et permanentes dans horizon minéral	Extensives, sub-horizontales, souvent dans les 15 premiers cm
Mobilité	Mouvements rapides en	Retrait rapide dans	Généralement lents

	réponse à perturbation	galerie mais plus lents que les épigés	
Longévité	Relativement courte	Relativement longue	Intermédiaire
Temps de Génération	Court	Long	Court
Survie à Sécheresse	Sous forme de cocons	Quiescence	Diapause
Prédation	Très importante, surtout par oiseaux, mammifères et arthropodes prédateurs	Importante, surtout quand ils sont en surface, un peu protégés dans leur galerie	Faible ; un peu par les oiseaux qui creusant le sol et arthropodes prédateurs

2.3. Cycle et durée de vie

Les vers de terre sont hermaphrodites ; ils possèdent des organes et produisent des gamètes mâles et femelles. Le mode de reproduction diffère selon les espèces. Certaines sont obligatoirement biparentales, à l'instar de *Lumbricus terrestris* et nécessitent donc un accouplement entre deux individus, alors que d'autres se reproduisent sans accouplement, par auto-fertilisation ou par parthénogénèse (Sims et Gérard, 1999).

Un échange de spermatozoïdes a lieu lors d'un accouplement, qui se produit généralement à la surface du sol, lorsque les conditions sont favorables (Pelosi, 2008). Le clitellum produit le cocon qui glisse le long de la partie antérieure du vers de terre et émis dans le sol sous forme d'une capsule fermée à deux extrémités (Bazri, 2015).

Le ver de terre juvénile va progressivement acquérir des caractères sexuels secondaires externes liés à l'accouplement comme le puberculum tuberculeux ou les pores sexuels, il sera alors au stade sub-adulte. Un clitellum, organe lié au processus de ponte, va ensuite se former et permettre au ver de terre de devenir sexuellement mature pour pouvoir se reproduire à son tour ; il devient alors adulte (Bazri, 2015).

La durée du cycle de vie d'un vers de terre dépend fortement de l'espèce, des conditions climatiques et le type de matière organique (Joshi et Dbral, 2008).

Certaines espèces vivent plus de 6 ans au laboratoire, le cas de *Allolobophora longa* qui peut vivre plus de 10 ans (Bachelier, 1978).

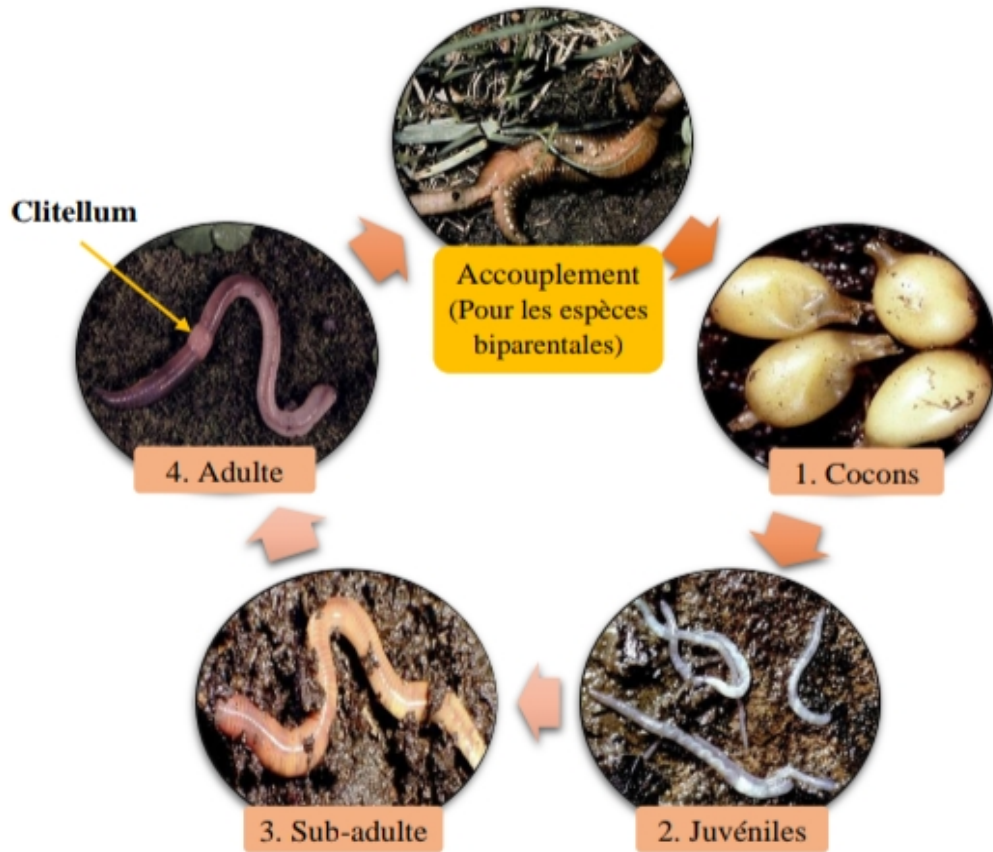


Figure 9 : Cycle de ver de terre (Hipp, 2005).

2.4. Rôle des vers de terre dans le sol

D'après Aristote (350 av J.C), les vers de terre sont « ... les intestins du sol », alors que pour Darwin (1881), les vers de terre ont joué un rôle dans l'histoire du monde, plus important que ce que la plupart des gens peuvent le supposer... et l'humus qui couvre, comme un manteau, la surface de la terre a traversé plusieurs fois leur corps ».

Comme rapporté par Randriamalala (2013), les vers de terre ont un rôle important au sein des agrosystèmes car ils exercent trois actions sur le sol :

- **Action mécanique** : Les vers de terre participent au maintien de la structure grumeleuse du sol. Par leurs rejets et leurs galeries, ils augmentent à la longue le volume du sol et accroissent sa porosité. Ces galeries assurent une meilleure circulation de l'air et de l'eau. Ils s'opposent donc au compactage du sol en remuant la terre, favorisent la pénétration des racines, limitent le ruissèlement et l'érosion du sol. Cette action concerne surtout les vers endogés et anéciques.

- **Action chimique** : Les vers de terre améliorent les propriétés chimiques du sol par leur activité de brassage. Ils remontent en surface les couches en profondeur des sols et une partie des éléments lessivés, et le brassage s'accompagne d'un transport de matières organique dans tout le profil du sol, d'où une meilleure dissémination. De plus leurs rejets sont riches en calcium et limitent la décalcification du sol.
- **Action biologique** : En assurant une bonne circulation de l'eau et de l'air dans le sol, les lombrics offrent des conditions favorables à la vie microbienne. Ils réduisent la taille des éléments ingérés et accroissent l'aire de surface des particules du sol ce qui intensifie l'action enzymatique des microorganismes. En outre, ils se nourrissent de bactéries, algues et champignons ce qui rajeunit et stimule la flore microbienne.

En effet, dans la plupart des écosystèmes, ils sont des facteurs clé dans la fragmentation de la matière organique (Lavelle & Spain, 2001). On estime ainsi qu'ils sont capables de consommer la quasi-totalité de la litière annuelle (Brown et al., 2004).

Enfin, les vers de terre ont également d'autres rôles, moins étudiés mais tout aussi importants, dont on commence seulement à prendre conscience. Ils participent à la libération de substances (vitamines, protéines) qui stimulent la croissance des plantes (Edwards et Bohlen, 1996).

2.5. Bioindication de la qualité des sols

Les lombriciens sont présents dans la plupart des écosystèmes terrestres, excepté dans les déserts chauds ou glacés. L'abondance et la biomasse de vers rencontrés dépendent des systèmes considérés et de la pression anthropique exercée. Compte tenu de leur rôle au sein des écosystèmes, de leur sensibilité aux contraintes environnementales et de leur grande abondance dans la majorité des sols tempérés, les lombriciens sont proposés comme bioindicateurs de la biodiversité et de la qualité du sol (Mayeux et Savanne, 1996 ; Fragoso et al, 1997 ; Decaëns et al., 1999) ainsi que de l'impact environnemental des systèmes de culture (Paoletti, 1999).

Les vers de terre sont souvent suggérés comme des bio-indicateurs de la qualité du sol. Ils constituent une partie importante du système de sol par une biomasse de 40 à 90% et sont sensibles aux perturbations des écosystèmes. Ces derniers peuvent alors indiquer la qualité du sol par l'abondance et la composition spécifique, sur un site particulier, le comportement de chaque vers de terre en contact avec un substrat du sol (préférence / évitement / activité), l'accumulation des produits chimiques du sol dans leur corps, et les bio-marqueurs

biochimiques / cytologiques du stress chez le ver de terre (Frund et al., 2010 ; Tondoh et al., 2006).

De plus, les lombriciens possédant un grand nombre d'activités directement en relation avec l'état écologique d'un sol (Römbke et al., 2005), sont souvent considérés comme de bons bioindicateurs de la pollution des sols. Par ailleurs, ils remplissent de nombreuses conditions nécessaires à une étude approfondie d'un sol en tant qu'espèces sentinelles (Rivière, 1993)

D'après (Römbke et al., 2005), les lombriciens sont présent différent avantage dans l'évaluation de l'état de vie d'un sol pour différentes raisons :

- ils participent au fonctionnement de l'écosystème sol (décomposition et structure),
- grâce à leur comportement et leur morphologie, ils sont en contact à la fois avec la phase solide du sol et avec la phase aqueuse (directement en lien avec le cheminement des pesticides),
- la plupart des espèces de lombriciens sont très sensibles à de faibles niveaux de pollution,
- leurs réactions aux stress sont mesurables et reproductibles en champ mais surtout en laboratoire,
- à l'heure actuelle beaucoup de choses concernant leur biologie, leur écologie sont connues.

Tous ces critères font des vers de terre de bon bioindicateurs de la contamination des écosystèmes terrestres (Morgan et Morgan, 1988 ; Dallinger, 1994). De plus, les vers de terre sont reconnus comme étant des outils de biosurveillance efficaces (Ribera et St-Denis, 1999), en particulier pour mesurer les effets des métaux (Morgan et Morgan, 1988 ; Edwards et Bohlen, 1992 ; Dallinger, 1994), des pesticides, des HAPs (Edwards et Bohlen, 1992 ; Booth et al., 2000) et des explosifs (Robidoux et al., 2005).

3. Interaction ver de terre-pesticide

Les vers de terre qui font partie de la faune du sol sont extrêmement exposés aux pesticides qui présentent des effets négatifs sur leur survie et leur reproduction. Ils peuvent affecter leur taux de mortalité, soit directement par un stress aigu ou indirectement en affectant leur reproduction, leurs fonctions neurologiques ou en provoquant des changements dans leurs comportements. Les effets toxiques des pesticides sur les vers de terre sont différents pour l'exposition cutanée ou l'ingestion. Ces effets néfastes dépendent des espèces, du type de contaminants et de leurs concentrations, ainsi que des caractéristiques du sol,

(Roriguez Campos et al., 2014). Ainsi, ils dépendent du type d'application (épandage de granulés, pulvérisation, etc.), de la période d'application, de la matière active qu'ils renferment, de la fréquence et de l'intensité d'application (Edwards et Bohlen, 1996).

3.1. Exposition

Dans l'environnement réel, l'exposition des vers de terre aux pesticides dépend de plusieurs facteurs : de l'espèce, de sa catégorie écologique, de l'habitat, de l'alimentation ainsi qu'aux métabolites. Cette exposition entraîne chez les vers de terre une incapacité d'exercer leurs fonctions vitales dans le sol (Rathore et Nollet, 2012).

En matière de catégorie écologique, les espèces épigées et anéciques sont principalement plus sensibles que les espèces endogées quant à l'application en surface de pesticides (Singh et al., 2016). Selon Miglani et Bisht (2019), l'exposition des groupes écologiques de vers de terre aux pesticides est différente :

- **Les épigés** (*Lumbricus rubellus*, *L. castaneus*, *Dendrobaena octedra*, etc.), se trouvant généralement dans la couche supérieure du sol (de 10 à 15 cm) et se nourrissant de la matière organique en décomposition présente dans la litière, sont fortement exposés aux pesticides en ingérant des détritiques.
- **Les endogés** (*Aporrectodea caliginosa*, *A. trapezoides*, *Allolobophora chlorotica*, etc.), d'une plus grande taille allant de 1 à 20 cm, sont exposés aux pesticides mélangés à la matière organique dans le sol.
- **Les anéciques** (*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa*), plus gros et pigmentés, sont exposés aux pesticides en ingérant de la matière organique à la surface du sol. Ils jouent un rôle dans la propagation des pesticides dans le sol à travers leurs galeries subverticales.

Pour *Eisenia fetida* et *E. andrei* (vers de compost), ce sont les espèces de vers de terre les couramment utilisées dans les tests écotoxicologiques car elles peuvent être facilement reproduites sur une variété de déchets organiques avec des temps de génération courts (OCDE, 2004). Des tests de sensibilité de plusieurs espèces de vers de terre ont révélé que la sensibilité de ces deux taxons ressemble à celle des vrais organismes du sol (voir moins sensibles), mais elles sont moins exposées aux substances toxiques (Kula, 1995).

3.2. Effets des pesticides chez les vers de terre

L'exposition des vers de terre

Cependant, l'exposition aux concentrations moins élevées entraîne des dommages physiologiques, comportementales, sublétaux, etc. (Schreck *et al.*, 2008).

3.2.1. Effets sub-létaux

Les effets sub-létaux observés chez les vers de terre sont des ruptures de la cuticule, des écoulements du liquide coelomique, des gonflements, une pâleur du corps et un ramollissement des tissus corporels (Solaimalai *et al.*, 2004), l'autolyse cellulaire (Luo *et al.*, 1999), et l'enroulement de la queue (Espinoza-Navarro et Bustos-Obregon, 2004).

3.2.2. Effets sur la croissance

La croissance peut être considérée comme un paramètre sensible pour évaluer la toxicité chez les vers de terre (Van Gestel *et al.*, 1992). Selon Zhou *et al.* (2006), la perte de poids des vers de terre est un indice plus sensible par rapport à la mortalité pour indiquer les effets toxiques des pesticides, liés au degré d'intoxication et au temps d'exposition. Dans les conditions de laboratoire, cette diminution est plus observable après 14 jours d'exposition.

La diminution du poids corporel est enregistrée chez les vers adultes et juvéniles. Cependant, la croissance des vers de terre semblait être plus sévèrement affectée au stade juvénile qu'au stade adulte (Zhou *et al.*, 2006).

L'enroulement, un autre symptôme observé chez 100% des vers exposés aux pesticides, est lié à la perte de poids et est considéré comme la conséquence d'une altération de la fonction musculaire provoquée par les pesticides organophosphorés qui peut expliquer les difficultés de locomotion des vers intoxiqués et leur relative incapacité à se nourrir (Bustos-Obregon et Goicochea, 2002).

3.2.3. Effets sur la reproduction

Divers paramètres de reproduction tels que la viabilité, la maturation, la production de spermatozoïdes, la production de cocons et l'éclosion ont été étudiés en référence à la génotoxicité lorsqu'ils sont exposés à différents types d'insecticides et à d'autres classes chimiques (Venter et Reinecke, 1985 ; De Silva, 2009 ; Bustos-Obregón et Goicochea, 2002). Cette influence est liée d'une manière générale à la relation dose-dépendante, avec un impact plus important à une concentration plus élevée du produit chimique (Gupta and Saxena, 2003). Le nombre de juvéniles par cocon peut être aussi considéré comme un paramètre sensible pour évaluer la toxicité de l'acétochlore sur les vers de terre, comme l'ont rapporté Xiao *et al.* (2006). L'enroulement, observé chez les vers exposés aux pesticides, interfère également avec la reproduction car les vers trouvent moins facilement leur partenaire et la copulation est anormale en termes de posture d'accouplement.

3.2.4. Effet sur les bactéries intestinales

L'intestin des vers de terre est un bioréacteur à tube droit maintenu à une température stable par le mécanisme de régulation (Karthikeyan *et al.*, 2004). Il constitue l'habitat idéal pour de nombreux microbes importants pour l'agriculture (Wolter & Scheu, 1999) et tire principalement son énergie et ses nutriments du microbiote intestinal spécifique plutôt que du microbiote présent dans le sol ingéré (Sampredo *et al.*, 2006). Shi *et al.* (2007) ont examiné que les vers de terre exposés à la deltaméthrine pendant 14 jours présentaient un effet toxique sur la croissance et l'activité de la cellulose. Une diminution de la production de turrecules a été observée chez *L. terrestris* lorsqu'il était exposé au méthomyl, au carbaryl et à l'imidaclopride respectivement pendant 7 jours (Capoweiz *et al.*, 2010).

3.3. Métabolisme des pesticides

Aucune preuve directe de voies réductrices chez le ver de terre n'est disponible pour les pesticides, mais la capacité métabolique correspondante peut être confirmée par la réduction du groupe nitro pour les produits chimiques. Les réactions métaboliques signalées pour les vers de terre sont principalement l'hydrolyse, l'oxydation et la déchloration, qui sont communes à d'autres espèces animales (Renoux *et al.*, 2000). L'oxydation et l'hydrolyse enzymatiques sont les réactions primaires typiques chez les vers de terre, et les métabolites résultants sont conjugués à des molécules endogènes (Stenersen, 1992). Les enzymes pertinentes généralement impliquées dans le métabolisme des vers de terre sont des oxydases à fonction mixte (cytochrome P450, carboxylestérase et glutathion-*S*-transférases). D'autres enzymes (estérases, catalases et superoxyde dismutases) ont été étudiées en tant que biomarqueurs utiles de l'exposition aux pesticides (Rodríguez-Castellanos et Sanchez-Hernandez, 2007).

La transformation métabolique d'un pesticide est l'un des principaux facteurs de contrôle de sa bioaccumulation et de sa toxicité (Stenersen, 1992).

Par ailleurs, le comportement d'un pesticide, y compris son métabolisme, doit être examiné à l'aide de formes radiomarquées. Selon Shan *et al.* (2014), il est plus pratique d'utiliser ces radiomarqueurs avec une radio-analyse non seulement des vers de terre mais de tous les compartiments, y compris le milieu d'exposition.

3.4. Bioconcentration et bioaccumulation

La bioconcentration désigne l'augmentation de la concentration d'un pesticide dans le corps des vers de terre, résultant de son absorption par la surface du corps, tandis que la bioaccumulation comprend à la fois la bioconcentration et l'absorption alimentaire de

pesticides provenant du sol et des aliments. Le protocole d'étude de la bioaccumulation chez le ver de terre est normalisé dans OCDE 317, et les quelques facteurs définis ci-dessous sont utilisés pour décrire ces processus (OCDE, 2010).

L'hydrophobie ($\log K_{oe}$), la dissociation partielle et la transformation métabolique d'un pesticide sont les principaux facteurs qui contrôlent leur bioconcentration chez les vers de terre. Le transfert de pesticides dans le ver de terre peut être décrit thermodynamiquement comme un processus de partage, et sa distribution dans leur corps s'est avérée principalement proportionnelle au $\log K_{oe}$. De plus, la libération dans l'eau interstitielle d'un produit chimique hydrophobe absorbé par le sol par le carbone organique dissous peut augmenter la fraction biodisponible dans les sols naturels (Katagi et Ose, 2015).

Les différences d'absorption, d'élimination et de métabolisme des pesticides chez les vers de terre ainsi que celles de la dégradation microbienne dans le sol sont des facteurs susceptibles de contrôler leur bioconcentration et bioaccumulation chez ces espèces (Katagi et Ose, 2015).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Afin de mieux identifier et quantifier l'influence de l'insecticide choisi sur le taxon lombricien *Aporrectea trapezoides*, il est nécessaire de réaliser des expérimentations dans des conditions de laboratoire. L'usage de ces systèmes dits « contrôlés » permet de s'affranchir des variations des conditions biotiques et abiotiques du milieu naturel et de comparer les effets du composé testé sur les individus misent en expérience.

1. Matériel utilisé

1.1. L'insecticide

L'insecticide utilisé dans notre travail est l'acétamipride sous le nom commercial « Aceplan ». Ce dernier contient 20 % d'acétamipride, soit 200 g/kg de matière active (m.a.) sous forme de poudre soluble. En Algérie, il est commercialisé sous la référence CHPPUA 15 55 223 (fig. 10).



Figure 10 : L'insecticide utilisé « Aceplan » (Acétamipride 20 % SP).

L'acétamipride (fig. 10) fait partie des néonicotinoïdes qui sont considérés comme la classe chimique la plus importante d'insecticides introduits sur le marché mondial depuis les pyréthrinoides de synthèse (Jeschke *et al.*, 2011). C'est la deuxième matière active de la première génération des néonicotinoïdes après l'imidaclopride. Il fut synthétisé en 1989 et mis sur le marché en 1995 pour un usage en application foliaire (Elbert *et al.*, 2008).

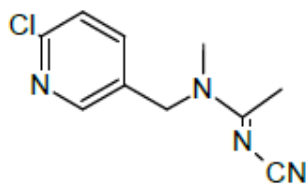


Figure 11 : Schéma de la molécule d'acétamipride (Jeschke *et al.*, 2011).

Il s'agit d'un insecticide systémique polyvalent avec activité translaminaire. Il est très soluble dans l'eau et est volatil. D'après ses propriétés chimiques, il ne devrait pas s'infiltrer dans les eaux souterraines. Il n'est pas persistant dans les systèmes pédologiques, mais peut être très persistant dans les systèmes aquatiques dans certaines conditions.

Concernant son application, il est appliqué dans l'arboriculture fruitière et les cultures maraichères (légumes : feuilles et fruits ; Fruits, y compris agrumes, pommes, poires, raisins ; coton ; plantes et fleurs ornementales). Il est utilisé dès l'apparition des premières infections (Chiyozo, 2008).

Pour son action, il agit par contact ou par ingestion. Par conséquent, il affecte le système nerveux central des organismes cibles (tels que : pucerons, thrips, araignées, mineuses de feuilles, fourmis, etc.) et entraîne un blocage irréversible des récepteurs nicotiniques post-synaptiques acétylcholine, conduisant à la paralysie et la mort des organismes nuisibles (Matsuda *et al.*, 2009).

Selon l'agence américaine de protection de l'environnement (USEPA, 2011), l'acétamipride présente une toxicité modérée pour les mammifères et il a un potentiel élevé de bioaccumulation. Il est hautement toxique pour les oiseaux et les vers de terre et modérément toxique pour la plupart des organismes aquatiques.

Tableau 4 : Caractéristiques de l'Aceplan.

Acétamipride (m.a.)	≥ 20.0 %
Le pH	6,0 – 8,0
La solubilité	Eau
La mouillabilité	≤ 60
L'apparence	Poudre bleu
La toxicité humaine	Faible
La récolte	Pas de danger
La durée de conservation	2 ans

1.2. Le matériel biologique

Dans le cadre des expérimentations, les vers de terre utilisés pour les deux tests appartiennent au taxon *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1826) (fig. 12). Ce taxon fait partie de la famille des Lumbricidae (Rafinesque-Schmaltz, 1815) :

Règne : Animalia

Embranchement : Annelidae

Classe : Oligochaeta

Sous-Classe : Diplostesticulata

Super-Ordre : Megadrili

Ordre : Opisthopora

Sous-Ordre : Lumbricina

Famille : Lumbricidae

Genre : *Aporrectodea*

Espèce : *A. trapezoides* (Dugès, 1826)



Figure 12 : Le ver de terre *Aporrectodea trapezoides* (Dugès 1826).

Ce taxon appartient à la catégorie des endogés et présente un contact permanent avec le sol, vis et se nourrit dans le sol. Il est rencontré dans les 15 premiers centimètres du sol (Bouché, 1984). De plus, ce taxon est fortement recommandé dans les études appliquées et les bioessais des substances toxiques organiques (Choo et Baker, 1998 ; Wang *et al.*, 2012) et inorganiques (Nahmani, 2003 ; Van Gestel *et al.*, 2009).

Selon Bouché (1977), *A. trapezoides* est caractérisé par une longévité de 3-5 ans, il s'agit d'une espèce de taille moyenne à grande, 45 à 160 mm de longueur et 0,5 à 3,5 g de biomasse pour les vers adultes (El-Hadef El-Okki, 2016). Il habite dans les pâturages, jardins, berges, sous les pierres et dans les grottes, terres arables, sols organiques riches présentant une

litière de surface et de l'humidité suffisante (Blakemore, 2008) ; bordure des oueds en milieu semi-aride (Martinucci et Omodeo, 1987 ; Omodeo et al, 2008 ; El-Hadef El- Okki, 2016). En Algérie, ce taxon est aussi le plus abondant et parfois même constitue le seul représentant de cette faune dans le sol (El-Hadef El-Okki, 2016). En effet, cette espèce est raisonnablement tolérante à la sécheresse (Fernandez, 2011). Son aire de répartition originale correspond au Paléarctique, est actuellement distribué à travers les cinq continents (espèce cosmopolite). En 1948, Omodeo décrit déjà ce taxon comme le ver le plus commun dans le monde.

Les vers de terre utilisés sont issus d'un élevage dont les premiers vers ont été récoltés en 2018 dans la même région que le sol utilisé dans les tests (*i.e.* région de Chettaba). Ils ont été maintenus en vie dans des bacs en plastiques jusqu'à leur utilisation. Avant chaque test, les vers adultes (présence de clitellum) sont prélevés de leurs bacs. Ils ont été rincés à l'eau distillée, puis égouttés sur un papier filtre. Afin de vider leur tube digestif, les vers ont été placés individuellement dans des boîtes de Pétri munies de papier filtre imbibé d'eau distillée. Les boîtes sont conservées à l'obscurité pendant 24 h. Après cette période, les vers sont retirés de leurs boîtes et sont aussitôt pesés séparément (poids frais initial : P_1) (fig.13). Les vers sont ainsi prêts à intégrer les différentes batteries de tests.

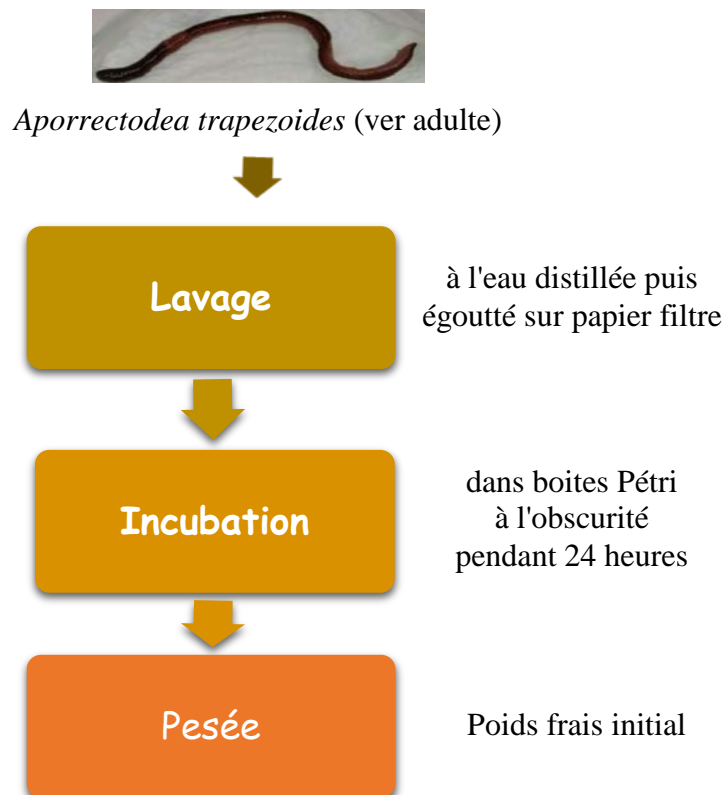


Figure 13 : Préparation des vers de terre.

1.3. Le sol

Le sol utilisé pour le test d'évitement a été prélevé à la surface (horizon superficiel : 10-50 cm) dans la région de Chettaba, commune d'Ain Smara (Sud-Ouest de la ville de Constantine). Les coordonnées GPS de la zone de prélèvement sont les suivantes : 36.34° N. 6.53° E.

Il s'agit d'un sol forestier naturel non contaminé loin de toute source et forme de perturbation anthropique. La préparation du sol a compris quatre étapes comme indiqué dans la figure 14. Au début, le sol a été séché à l'air libre sur du papier kraft pendant 15 jours, puis, il a été broyé à l'aide d'un mortier et tamisé à travers un tamis de 2 mm. Enfin, il a été conservé dans un bac en plastique jusqu'à son utilisation et/ou analyse.



Le sol prélevé



Figure 14 : Etapes de préparation du sol utilisé.

Après séchage et tamisage des sols à travers un tamis de 2 mm, le sol est bien mélangé. 3 échantillons sont prélevés pour caractériser ce sol. L'analyse des paramètres physicochimiques a compris l'humidité, la densité apparente, le pH, la conductivité électrique, la matière organique et le calcaire total.

Tableau 5 : Résultats de la caractérisation physicochimique du sol utilisé dans le test d'évitement.

Paramètres	Unité	Valeurs (moyenne \pm écart-type)
H (en)	%	11,87 \pm 0,96
Da (en)	g.cm⁻³	1,43 \pm 0,17
pH		8,06 \pm 0,02
CE (en)	mS.cm⁻¹	0,11 \pm 0,01
MO (en %)	%	4,65 \pm 0,23
CT (en %)	%	25,4 \pm 0,83

- a. **L'humidité (H)** : La détermination de l'humidité du sol a été réalisé par la méthode gravimétrique selon la norme ISO-11465 (ISO., 1993). D'après le tableau 5, le sol prélevé s'avère peu humide (11,87 % en moyenne).
- b. **La densité apparente (Da)** : La détermination de la densité apparente est réalisé selon la norme ISO-11272 (ISO., 1998). La Da du sol utilisé est en moyenne de l'ordre de 1,43 g.cm⁻³ (tableau 5).
- c. **pH** : Suivant la norme ISO-10390 (AFNOR., 1994), le pH a été déterminé dans une suspension sol/eau distillée selon un rapport pondéro-volumique de 1/2,5. Selon le tableau 5, le pH est en moyenne de l'ordre de 8,06. D'après la grille d'évaluation du SSDS (1993), le sol utilisé est alcalin (Annexe 2).
- d. **La conductivité électrique (CE)** : C'est une mesure qui donne une indication sur la salinité du sol. Elle a été déterminé selon la norme ISO-11265 (ISO., 1994) à l'aide d'un conductimètre. Le rapport pondéro-volumique sol/eau était de 1/5. Selon le tableau 5, la valeur moyenne de la CE est de l'ordre de 0,11 mS.cm⁻¹. D'après la grille d'évaluation du SSDS (1993), le sol utilisé est non salin (Annexe 2).
- e. **La matière organique (MO)** : La matière organique a été déterminée par perte au feu selon la norme (NF ISO-14235 : 1998). Cette dernière consiste en une calcination sèche dans un four à moufle à 375 °C pendant 16 heures. La valeur moyenne de la MO est de l'ordre de 4,65 % (tableau 5). Selon Hazelton et Murphy (2007), le sol s'avère riche en MO (Annexe 2).

- f. **Le calcaire total** : Le calcaire total a été déterminé à l'aide du calcimètre de Bernard, selon la norme NF ISO 10693 (1995). La valeur moyenne du CT est de l'ordre de 25,4 % (tableau 5). Selon la grille d'évaluation proposée par GEPPA (*in* Baize, 1988), le sol utilisé est fortement calcaire (Annexe 2).

1.4. Le terreau

Le terreau (support de culture NFU 42-001) est utilisé comme apport nutritif mis à la disposition des vers de terre durant la période des tests. Il est composé d'un mélange de tourbe blonde de sphaigne et de tourbe brune, enrichi en engrais composés NPK (14-16-18 en kg/m³). Ce terreau est de provenance des Pays-Bas (Ferm O Feed) commercialisé en Algérie sous le nom « *Fertiplus* » dont les caractéristiques physico-chimiques sont données dans le tableau suivant.

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du terreau Fertiplus de Ferm O Feed.

Paramètres	Unité	Valeurs
pH		5,8 - 6,1
Matière sèche	%	30 - 50
Conductivité électrique	mS.cm ⁻¹	20 - 160
Capacité de rétention d'eau	ml.l ⁻¹	680 - 700
Matière organique	%	58 - 90

1.5. Les supports

Les supports utilisés (annexe 3) dans les différents tests sont :

- a- Les boîtes de Pétri en polystyrène cristal, stérile, de diamètre 90 mm.
- b- Les boîtes de Pétri en verre, de diamètre 100 mm.
- c- Les containers cylindriques en acier galvanisé, de 10 cm de hauteur et 28 cm de diamètre. Chaque cylindre est partagé en six compartiments triangulaires reliés à une chambre centrale. L'ensemble est muni de trous dans la base (d'environ 1 cm² de dimension) permettant au vers de terre de circuler librement entre les différents compartiments.

2. Test de toxicité aiguë par contact

Le test réalisé se base sur la directive n° 207 de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OECD., 1984). Il s'agit d'un test de contact dans lequel les vers de terre sont exposés directement au l'aceplan sous forme liquide sur un papier filtre. Tel que recommandé par Wang *et al.* (2012), les flacons ont été remplacés par des boîtes de Pétri.

2.1. Déroulement du test

Quatre concentrations en plus d'un témoin ont été inclus pour l'essai. Dix réplicats ont été utilisées pour chaque concentration (fig. 15). Ainsi, les vers ont été exposés à une gamme croissante de concentrations d'acétamipride : 0,001 ; 0,002 ; 0,005 ; 0,010 mg.cm⁻².

Dans chaque boîte, un papier filtre a été placé d'une manière qu'il recouvre les côtés de la boîte. Ce papier filtre est préalablement traité avec la solution à la dose correspondante d'acétamipride (Acéplan), puis séché dans l'étuve durant 24 heures. Pour le témoin, un volume d'eau distillée équivalent a été apporté sur le papier filtre. Après séchage, le papier filtre a été réhumidifié (environ 2 ml d'eau distillée).

Le test consiste à introduire les vers dans les boîtes de Pétri à raison d'un ver par boîte. L'ensemble a été incubé dans l'obscurité, à la température du laboratoire (environ 22 °C) pendant 48 heures. Les mesures de mortalité sont réalisées après 24 et 48 heures, cependant les observations sont notées durant toute la période du test.

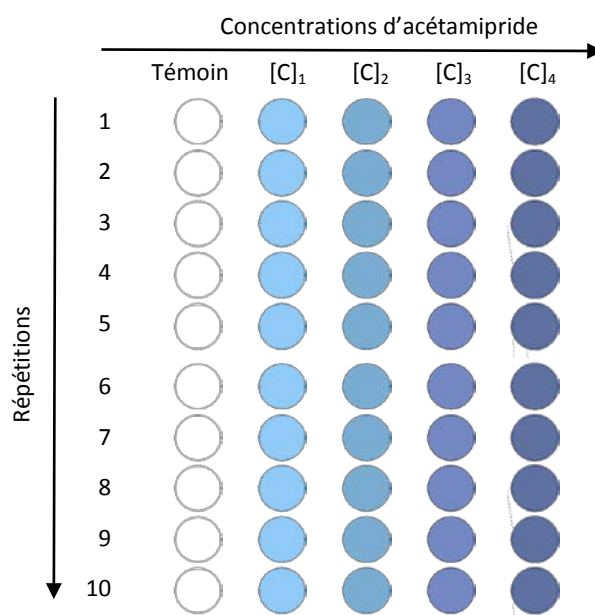


Figure 15 : Plan expérimentale du test de toxicité aiguë sur papier filtre.

2.2. Mesures et observations

Les mesures et les observations ont porté sur des phénomènes qui sont liés à la toxicité du l'acétamipride vis-à-vis du taxon *A. trapezoides* : mortalité, diminution de la biomasse, ainsi que tous les symptômes comportementaux ou pathologiques. Elles ont été effectuées en fonction de la durée du test, *i.e.* Après 24 heures et 48 heures.

- a- *La biomasse* : elle correspond au poids des vers à chaque étape d'observation. Comparées à celles enregistrées dans les témoins, elles permettront de déterminer l'effet de l'augmentation des doses de l'acétamipride sur la biomasse des vers testés.
- b- *La mortalité* : elle est évaluée en testant la réaction des vers à un stimulus mécanique exercé à leur extrémité antérieure (prostomium). Ainsi, le ver est considéré comme mort lorsqu'il ne répond pas à ce stimulus. Les vers morts sont retirés et notés à chaque étape d'observation. Les données de la mortalité enregistrée en fonction des concentrations permettent de déterminer la concentration létale médiane (CL_{50}).
- c- *Les changements* : d'ordre comportementaux ou pathologiques, peuvent être observés chez les vers testés durant l'expérimentation, tels : l'enroulement, des gonflements, des saignements, des fragmentations, etc.
- d- *La concentration létale médiane (CL_{50})* : consigné dans la directive n° 207 de l'OCDE (1984), les données de la mortalité enregistrée en fonction des doses et des concentrations permettent de déterminer la CL_{50} et leur intervalle de confiance (à 95 %) à 24 et 48 heures. Cette valeur est obtenue par une équation de régression en prenant en compte les Probits des mortalités corrigées et la transformation logarithmique des concentrations (Litchfield et Wilcoxon, 1949). Les calculs et les représentations graphiques ont été réalisés en utilisant le logiciel R, version 4.0.3 (R Core Team, 2020).

3. Test d'évitement

Ce test a été développé en 1996 par Yearley et al. (1996). En 2008, l'ISO a établi des lignes directrices des tests d'évitement pour un rapide dépistage et l'évaluation de la fonction des sols et de l'influence des contaminants et des produits chimiques sur le comportement des vers de terre. Le test évalue l'influence des substances chimiques sur le comportement d'évitement des vers de terre (pour le taxon *Eisenia fetida*) exposés pendant 2 jours à un échantillon de sol naturel contaminé ou à des concentrations connues de substance d'essai mélangée à un sol artificiel normalisé ou à un sol naturel.

3.1. Déroulement du test

Pour ce test, on a utilisé des containers comportant 6 chambres séparées les unes des autres par des cloisons fixes munies d'ouvertures d'environ 1 cm à la base afin de permettre aux vers de terre de se déplacer librement entre les compartiments. Les chambres sont intercalées vis-à-vis de la contamination du sol par l'acétamipride (fig. 16). Pour le cylindre servant de contrôle, l'ensemble des chambres comporte des sols non contaminés. Pour les doses utilisées dans ce test sont : 0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1,0 g.kg⁻¹.

Le test consiste à introduire les vers adultes d'*A. trapezoides* à partir de la chambre centrale du cylindre à raison de 10 vers par cylindre. Le nombre total de vers utilisés dans ce test est de 60 vers. Ensuite, les cloisons entre les compartiments ont été retirées et le couvercle a été placé au-dessus du cylindre pour éviter la fuite des vers. Les cylindres sont placés dans un endroit bien aéré à température ambiante 22 ± 2 °C. Après 48h, les couvercles sont retirés et les cloisons amovibles ont été remises afin d'éviter le mouvement des vers de terre entre les compartiments une nouvelle fois. Chaque compartiment est vidé séparément et les vers sont séparés manuellement du substrat.

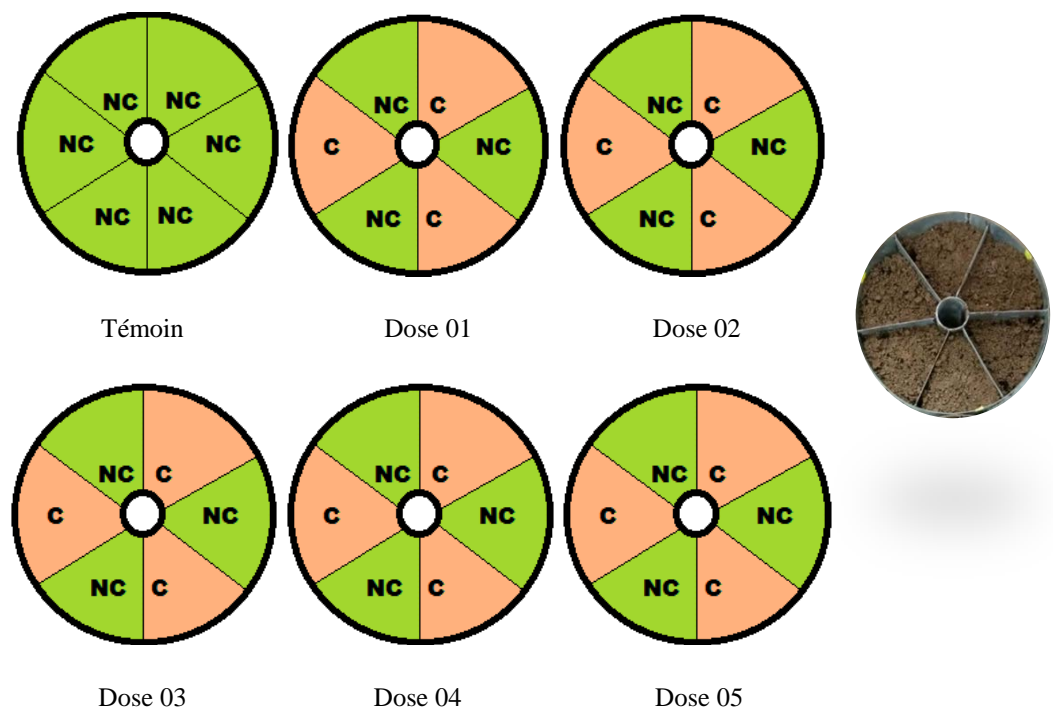


Figure 16 : Plan expérimental du test d'évitement dans les cylindres.

3.2. Mesures et observations

A la fin du test, différentes mesures et observations ont été effectuées :

- a- *Le dénombrement des vers* : il consiste à compter les vers dans chaque compartiment séparément. Si un vers est coupé par la partition (cloison amovible) et séparé entre deux compartiments, on note 0,5 pour l'un et 0,5 pour l'autre compartiment.
- b- *Les changements* : les différents changements observables sont notés individuellement.
- c- *La concentration efficace médiane (CE₅₀)* : elle correspond à une adaptation de la méthodologie standard pour le calcul de la CE₅₀ après 48 heures d'expérimentation. Sa valeur est calculée aussi par la méthode des Probits. Les données brutes (évitement) sont initialement transformées selon l'équation suivante :

$$E \text{ (en \%)} = \frac{N_{NC} - N_C}{N_T} \times 100$$

- où :
- E : évitement ;
 - N_C : nombre de vers dans le sol contaminé ;
 - N_{NC} : nombre de vers dans le sol non contaminé ;
 - N_T : nombre total de vers introduit dans le bac (10 vers).

Après transformation des résultats obtenus, cette analyse a été réalisée en utilisant le logiciel R, version 4.0.3 (R Core Team, 2020).

Chapitre 3

Résultats et discussion

1. Test de toxicité aigue

Le test de toxicité par contact sur papier filtre est une technique de dépistage initiale pour évaluer la toxicité relative d'un produit chimique, dans notre cas l'acétamipride (Aceplan) vis-à-vis du taxon lombricien *A. trapezoides*. Dans ce test, les vers sont mis en contact direct avec le produit chimique, qui est absorbés dans leur corps principalement à travers la peau lorsqu'il se déplace autour du papier filtre. Les résultats de cette expérience sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 7 : Taux de mortalité enregistrée chez vers testés.

[C] _{Acétamipride}	24H		48H	
	Vers morts	Vers vivants	Vers morts	Vers vivants
0 mg.cm ⁻²	0 %	100 %	10 %	90 %
0,001 mg.cm ⁻²	10 %	90 %	20 %	80 %
0,002 mg.cm ⁻²	10 %	90 %	30 %	70 %
0,005 mg.cm ⁻²	30 %	70 %	60 %	40 %
0,010 mg.cm ⁻²	60 %	40 %	100 %	0 %

1.1. Validation du test

L'OCDE (1984) recommande que la mortalité chez les témoins ne doit pas dépasser 10 % à la fin du test. C'est le cas du test réalisé dont nous avons enregistré chez le lot témoin une mortalité de 10 % après 48 heures.

1.2. Mortalité

La mortalité due à un contact direct avec les concentrations testées d'acétamipride a été évaluée au cours de l'exposition à 24 et 48 heures représentée dans le tableau 7. Elle est enregistrée dès la première heure pour la concentration la plus élevée, soit 0,01 mg.cm⁻².

La mortalité maximale est enregistrée chez les vers exposés à la concentration la plus élevée d'acétamipride (0,01 mg.cm⁻²), après 48 heures d'expérience (soit un taux de mortalité de 100 %). Pour les autres doses, la mortalité augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acétamipride et avec la durée du test (fig. 17).

1.3. Détermination de la CL₅₀

L'analyse de ces résultats est réalisée par la méthode des probits et le modèle obtenu permet de tracer la courbe dose-réponse (fig. 17). Les valeurs des différentes concentrations létales sont notées dans le tableau 8. Ces concentrations semblent diminuer avec la durée de

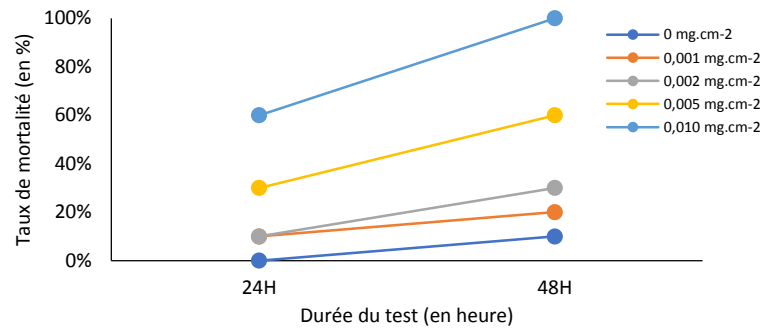


Figure 17 : Taux de mortalité enregistrée durant le test de toxicité.

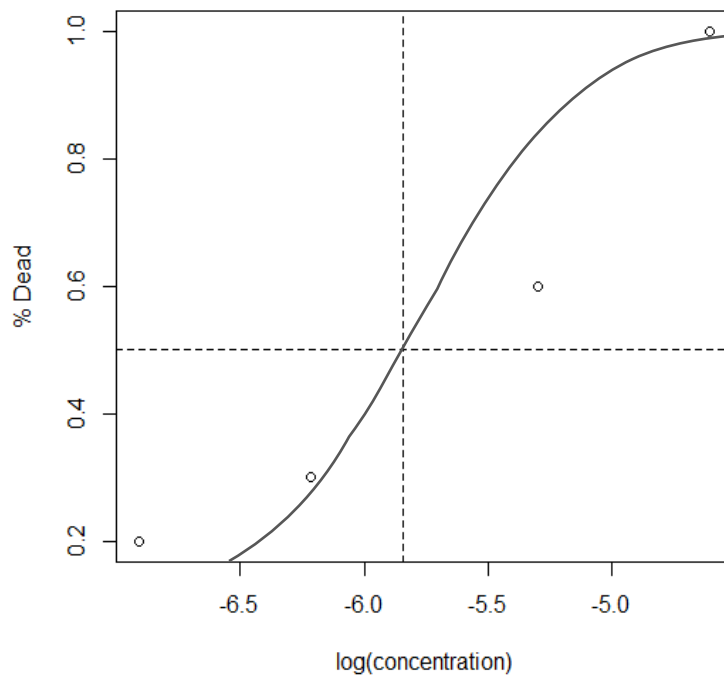


Figure 18 : Courbe log(concentration)-réponse avec les taux de mortalités enregistrés après 48 heures.

Tableau 8 : Valeurs des concentrations léthales après 24H et 48H.

Durée	CL ₁₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24 heures	0,011	0,036	0,118
48 heures	0,007	0,017	0,041

l'exposition. Pour la CL_{50} , les valeurs sont de l'ordre de 0,036 et 0,017 $mg.cm^{-2}$, après 24 et 48 heures d'expérience, respectivement.

1.4. Observations du comportement des vers

Lors des différentes manipulations, différents symptômes et anomalies morphologiques ont été observées chez tous les sujets exposés aux concentrations d'acétamipride (fig. 19). Il s'agit de réponses sur le plan morphologique (enroulement, gonflements et fragmentation du corps), physiologique (sécrétion de mucus, lésions et saignements) et comportementales (mouvements d'agitation intense, réduction des mouvements et baisse de l'activité).

Pour la concentration la plus élevée de l'acétamipride, les vers ont réagi de manière brusque dès le premier contact avec l'insecticide. Ainsi, nous notons des mouvements d'agitation intense ainsi qu'une forte sécrétion du liquide cœlomique à travers les pores dorsaux. Les vers ont présenté tous les symptômes et anomalies cités ci-dessus.

Pour la 3^e concentration, des sécrétions anormales du mucus est observés chez les vers après leur introduction dans les boîtes de Pétri. Après 24 heures, on note l'apparition de gonflements, des saignements ainsi qu'un ralentissement de l'activité des vers.

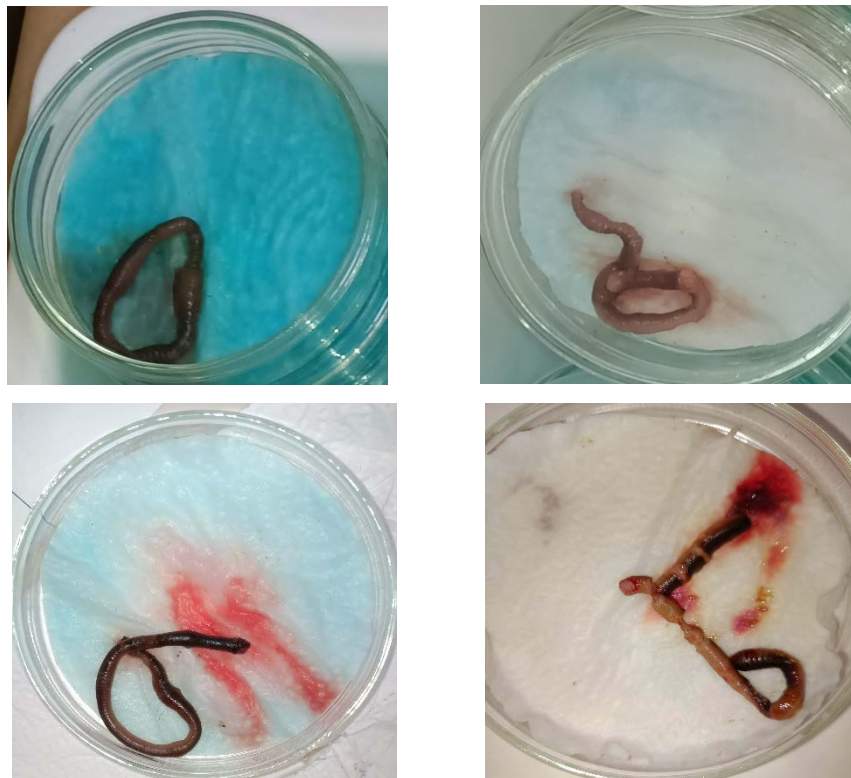


Figure 19 : Différents symptômes observés chez les vers testés.

Pour les deux autres concentrations, les vers ont montré des mouvements d'agitation pendant quelques secondes, suivi d'un enroulement du corps. Durant toute la période du test, on note la réduction de l'activité de ces vers.

2. Test d'évitement

Dans cet essai, les vers d'*A. trapezoides* (au nombre de 10 par cylindre) sont placés dans la chambre centrale du cylindre. Ces vers peuvent migrer vers n'importe quel compartiment (contaminé ou non contaminé) à travers les orifices situés à la base de celle-ci. Après 48 heures, on procède au dénombrement de vers par compartiment.

2.1. Validation du test

Le test d'évitement est considéré comme non valide si les organismes morts ou manquants étaient supérieurs à 10 % par traitement (ISO, 2008). A la fin du test, aucune mortalité ou organisme manquant n'a été observé. Ainsi, le premier critère de validation du test d'évitement a donc été respecté.

De plus, la répartition des vers dans le cylindre témoin *t être comprise dans la fourchette 50 ± 10 % entre les deux compartiments. En l'absence de substances toxiques, les vers ne se rassemblent pas, mais se répartissent plutôt de manière assez aléatoire par rapport aux deux compartiments du cylindre. D'après le tableau 9, les vers présentent des taux de présence de 40 % et 60 % dans les compartiments de même orientation que les autres cylindres ce qui fait que ce critère a aussi été respecté.

2.2. Dénombrement

A la fin du test, les cloisons amovibles sont placées dans chaque cylindre pour éviter le déplacement des vers de terre d'un compartiment à l'autre et on procède au dénombrement des vers en vidant le contenu de chaque compartiment. Les résultats des dénombrements sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 9 : Résultats du dénombrement et de l'évitement des vers dans les cylindres.

[C] _{Acétamipride}	Compartiment non-contaminé	Compartiment contaminé	Evitement
0 mg.kg ⁻¹	60 %	40 %	20 %
0,05 mg.kg ⁻¹	40 %	60 %	0
0,1 mg.kg ⁻¹	40 %	60 %	0
0,25 mg.kg ⁻¹	60 %	40 %	20 %
0,5 mg.kg ⁻¹	70 %	30 %	40 %
1 mg.kg ⁻¹	100 %	0 %	100 %

D'après ces résultats, on constate que les compartiments recevant la dose la plus élevée de l'acétamipride (1 mg.kg^{-1}) ont été évités par les vers testés, soit un taux d'évitement de 100 %.

Pour les doses $0,25$ et $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$, le nombre de vers dans les compartiments contaminés est relativement plus grand que dans les compartiments non contaminés. Le comportement d'évitement est de l'ordre de 20 % et 40 %, respectivement.

Les réponses négatives (*i.e.* que les vers préfèrent le sol contaminé) ont été considérées comme un évitement de 0 % (cas des doses $0,05$ et $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$).

2.3. Détermination de la CE_{50}

La concentration efficace médiane (CE_{50}) est obtenue par la méthode des probits après le calcul des valeurs de taux d'évitement chez les vers testés. D'après le tableau 10, la CE_{50} est de l'ordre de $0,230 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Tableau 10 : les valeurs de la concentration efficace du test d'évitement après 48 heures.

	Valeur
CE_{10}	$0,046 \text{ mg.kg}^{-1}$
CE_{50}	$0,230 \text{ mg.kg}^{-1}$
CE_{90}	$1,161 \text{ mg.kg}^{-1}$

2.4. Observations du comportement des vers

Durant toute la période du test (48 heures), nous n'avons pas enregistré de mortalité chez l'ensemble des vers. Aucun changement physiologique n'a été observé chez les vers testés. Cependant, un faible ralentissement de l'activité a été observé chez les vers des compartiments contaminés par la 4^e dose (soit $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$).

3. Discussion

3.1. Test de toxicité aiguë

Bien que le test de toxicité aiguë sur papier filtre ne représente pas la situation dans le sol, il est important de connaître le statut toxique d'un produit chimique particulier, qu'il soit toxique ou non. En effet, il s'agit d'une technique de sélection initiale pour évaluer la toxicité relative des produits chimiques pour les vers de terre dans la mesure où cet insecticide est absorbé par la peau (Miyazaki et al., 2002 ; Grumiaux et al., 2010 ; Tripathi et al., 2010).

Lors de l'essai de toxicité par contact sur papier filtre, la mortalité diffère entre les concentrations utilisées. Ainsi, les faibles concentrations ont causé une augmentation de la mortalité alors que la concentration la plus élevée a provoqué une mortalité maximale (soit

100 %) après 48 heures. Selon Maitre et al. (2012), le transfert de l'insecticide dans le corps des vers est aussi important que la dose est élevée et la surface de contact est importante.

La mortalité rapide due à un contact direct avec l'insecticide chez ce taxon a été signalée par plusieurs auteurs et pour plusieurs espèces lombriciennes, telles que *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Aporrectodea caliginosa*, *Metaphire posthuma*, *Perionyx excavatus*, etc. (Rao *et al.*, 2003, An et Lee, 2008, Yasmin et D'Souza, 2010, Wang et al., 2012, Stepic et al., 2013 et Velki et Hackenberger, 2013, Lackmann et al., 2021).

La concentration de toxicité aiguë par contact (CL₅₀) de l'acétamipride chez le taxon testé est évaluée à 0,036 mg.cm⁻² et 0,017 mg.cm⁻² après 24 heures et 48 heures d'expérience, respectivement. La valeur de CL₅₀ obtenue pour *A. trapezoides* est supérieure à celle rapportée Wang et al. (2012) pour le taxon *E. fetida*.

Sur la base des valeurs de CL₅₀, Roberts et Dorough (1984) ont proposé une classification des produits en fonction de leur toxicité vis-à-vis des vers de terre. Ainsi, le produit chimique est classé comme supertoxique (CL₅₀ < 1,0 µg.cm⁻²), extrêmement toxique (1–10 µg.cm⁻²), très toxique (10–100 µg.cm⁻²), modérément toxique (100–1000 µg.cm⁻²) ou relativement non toxique (>1000 µg.cm⁻²). Il ressort ainsi que l'acétamipride est très toxique pour le taxon testé *A. trapezoides* alors que Wang et al. (2012) ont constaté qu'il est supertoxique pour *E. fetida* (CL₅₀ < 1,0 µg.cm⁻²). Selon Wang et al. (2012), l'acétamipride présentait la toxicité la plus élevée parmi les cinq néonicotinoïdes testés (acétamipride > imidaclopride > nitenpyram > clothianidine > thiaclopride). En plus, ils ont constaté que les néonicotinoïdes testés étaient tous supertoxiques pour *E. fetida*.

En plus de la mortalité chez l'*A. trapezoides*, d'autres symptômes ont été enregistrés (gonflements, saignements, lésions, coupures, etc.). Les gonflements (fig. 19, a et b) sont très fréquents et représentent la première réponse des vers testés à la présence de l'insecticide. Les lésions, les saignements et la segmentation du corps des vers ne sont observés que pour les dosés élevés. Pour ces dernières, les vers mis en contact avec l'acétamipride s'enroulent, quelques parties de leur corps se gonflent, par la suite des saignements sont observés et au bout de quelque temps les vers meurent. Juste après la mort des vers, leur corps devient solide et change de couleur (généralement plus sombre).

Des résultats semblables ont été rapportés par plusieurs auteurs (An et Lee, 2008 ; Wang et al., 2012 ; Rishikesh et al., 2019 ; Lackmann et al., 2021). Ces auteurs signalaient que les anomalies morphologiques peuvent inclure l'enroulement, le durcissement des téguments, les sécrétions des muqueuses, les lésions, l'amincissement et même la fragmentation. En plus, les insecticides peuvent aussi provoquer des dommages métaboliques

et fonctionnels chez les vers de terre (Wang *et al.*, 2012). Toutes ces anomalies suite à un contact direct avec différents insecticides ont été enregistrés pour plusieurs espèces lombriciennes : *Eisenia fetida* (Rao *et al.*, 2003 et Rao et Kavitha, 2004), *Metaphire posthuma* (Gupta et Saxena, 2003), *Perionyx excavatus* (An et Lee, 2008), *E. andrei* (Stepic *et al.*, 2013 ; Lackmann *et al.*, 2021) *Eudrilus eugeniae* (Rishikesh *et al.*, 2019). Ces changements conduisent à des effets néfastes sur négatifs sur l'alimentation et la reproduction des vers de terre et par conséquent sur la dynamique de la population lombricienne dans le sol (Wang *et al.*, 2012).

Selon Lackmann *et al.* (2021), l'évaluation de la toxicité de la formule commerciale du pesticide permet d'estimer sa toxicité réelle sur les vers de terre, en prenant en compte les solvants, dispersants et autres adjuvants chimiques utilisés pour améliorer la durabilité, le stockage et l'application des pesticides. Cette évaluation nous donne un aperçu sur le danger réel des formulations commerciales des pesticides (Nagy *et al.*, 2020). Dans l'ensemble, il existe très peu d'informations sur les mécanismes de toxicité des préparations commerciales des pesticides (Lackmann *et al.*, 2021).

3.2. Test d'évitement

D'un point de vue technique, la performance du test d'évitement d'*A. trapezoides* était aussi simple que dans le cas de la méthode standard (avec *E. fetida*), *i.e.* que le changement de substrat et de l'espèce n'a pas posé de problèmes méthodologiques. En plus, ce test a été proposé comme une alternative simple et rapide aux tests de toxicité car il est nettement plus sensible.

Selon ISO (2006), le comportement d'évitement chez les vers de terre est un paramètre très sensible pour la détection de faibles concentrations de pesticides et d'autres produits chimiques.

Selon les résultats obtenus, le comportement d'évitement du taxon *A. trapezoides* n'est observable qu'à partir de 0,25 mg d'acétamipride par kg de sol. Les doses les plus faibles semblent être tolérées par les vers testés. Selon Wang *et al.* (2012), l'acétamipride provoquent de forts effets comportementaux, y compris l'évitement, chez l'espèce *E. fetida* à des concentrations commençant à environ 1 mg.kg⁻¹ de sol. De ce fait, le taxon testé semble plus sensible à la présence de l'insecticide dans le sol.

L'ISO (2008) considère que le sol est toxique si plus de 60 % des organismes exposés préfèrent le sol non contaminé (*i.e.* un taux d'évitement supérieur à 60 %). Cependant, les

résultats intermédiaires représentent différents niveaux de toxicité et dépendent du nombre de vers de terre trouvés dans le sol non contaminé.

Ces résultats ont montré que le critère d'évaluation utilisé permettait de détecter les effets du substrat d'essai plus tôt que dans les tests de toxicité aiguë (Wang et al., 2012). Lors des tests sur la réaction des vers d'*E. fetida* à différents sols naturels contaminés, Hund-Rinke et al. (2003) ont trouvé une sensibilité plus élevée mais aussi une variabilité plus élevée dans les tests d'évitement que dans les tests aigus. Des résultats semblables ont été enregistrés pour différents pesticides chez les taxons lombriciens *Aporrectodea caliginosa*, *Eisenia andrei*, *Lumbricus terrestris* and *Perionyx excavatus* (De Silva et al., 2009 ; Wang et al., 2012 ; Dittbrenner et al. 2012).

L'évaluation de la capacité des vers de terre à détecter et à éviter les pesticides est pertinente dans l'évaluation des risques car elle peut refléter plus précisément ce qui se passe sur le terrain où l'insecticide semble être absorbé par voie digestive (principalement dans l'intestin). Dans cette situation, un comportement d'évitement signifierait aussi que les vers de terre pourraient éviter les concentrations sublétales de pesticides. De plus, si les vers de terre évitent les pesticides et se dispersent ainsi depuis une zone contaminée, ils n'assurent plus les fonctions écologiques du sol liées aux services écosystémiques (Bart et al., 2018).

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail était d'évaluer la toxicité expérimentale de l'Acétamipride à partir de sa préparation commerciale « Aceplan » sur le taxon lombricien *Aporrectodea trapezoides* et le comportement d'évitement de ce dernier vis-à-vis de la présence de cet insecticide dans le sol.

La toxicité aiguë de l'acétamipride a été étudiée en appliquant le test de contact sur papier filtre. Le contact direct avec l'insecticide a provoqué une réponse rapide chez les vers testés. En effet, les vers mis en contact avec la concentration la plus élevée d'acétamipride s'enroulent, se gonflent, saignent et par la suite meurent. Les autres concentrations peuvent aussi provoquer des mortalités en raison de changements de comportement des vers (enroulement et la baisse d'activité). Les résultats montrent que l'insecticide est classé comme très toxique pour le taxon *A. trapezoides*. Les applications répétées de cet insecticide pourraient avoir des conséquences néfastes sur les populations lombriciennes dans les sols.

Le comportement d'évitement a été étudié en utilisant un cylindre compartimenté recevant à la fois des sols non contaminés et contaminés par l'insecticide. Dans cet essai, les vers d'*A. trapezoides* ont pu éviter les concentrations létales en se déplaçant vers les compartiments non-contaminés du cylindre. Ce comportement « d'évitement » chez les vers de terre peut être considéré comme un signal d'alerte précoce à la présence de l'insecticide dans le sol. En plus, cet essai semble plus approprié et plus représentatif de l'environnement naturel des vers de terre.

Ces résultats indiquent que l'estimation de la toxicité d'un insecticide est apparemment différente selon les méthodes utilisées. Le test de contact sur papier filtre est une technique de dépistage initial pour y évaluer la toxicité du produit chimique sur les vers de terre. Cependant, le test d'évitement est une alternative simple et rapide aux tests de toxicité car il est nettement plus sensible. La présente étude appuie l'idée d'utiliser ce test comme substitut aux tests aigus.

Enfin, le taxon *A. trapezoides* représente un excellent modèle pour les tests de toxicité. Son utilisation s'avère pertinente pour compléter les connaissances sur les effets des pesticides.

En perspectives, nous soulignons la nécessité de poursuivre les recherches sur les impacts de l'acétamipride. Le test de toxicité par contact direct n'a pas de valeur prédictive de la toxicité dans le sol. Pour cela, des études plus approfondies sur un sol naturel et dans des conditions de laboratoire ou de terrain sont nécessaires à l'avenir afin de déterminer les effets létaux, sublétaux et chroniques (croissance et reproduction) chez le taxon *A. trapezoides*. En plus, le test d'évitement pourrait être soutenu par des biomarqueurs spécifiques (enzymes, protéines, etc.) pour faciliter une meilleure compréhension de l'exposition et de la toxicité de cet insecticide.

Références bibliographiques

Références Bibliographies

- Abdi. S.et Horia.H., 2004. Effets des pesticides sur les caractéristiques physico-chimiques et microflore de l'eau potable de la région de Guelma-Mem Ing Eco et Env. Uni. Annaba. 77p.
- Aubertot J. N., Barbier J. M., Carpentier A., Gril J. J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Voltz M., 2005. Pesticides, agricultures et environnement. Ed.Quae Versailles Cedex, France. 19 p.
- Bachelier G., 1978. La faune des sols son écologie et son action. O.R.S.T.O.M, Paris, 400 p.
- Baize D., 1988. Méthodologie relative au choix, au prélèvement et à l'étude pédologique préalable des sites de l'Observatoire de la Qualité desSols. In : Manuel de l'OQS. Ministère de l'Environnement, Paris,France.
- Bartl S., Amossé J., Lowe CN., Mouginl C., Péryl ARR., Pelosi C., 2018. Aporrectodea caliginosa, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. Environmental Science and Pollution Research,
- Batsh D. 2011. L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré-Nancy1, 7p. 165p
- Bazri K. 2015. Etude de la biodiversité des lombriciens et leurs relations avec les propriétés du sol dans différents étages bioclimatiques, dans l'est algérien. Thèse doctorat, 188p.
- Bencheikh el Hocine S., 2016. Comportement de trois espèces lombriciennes Aporrectodea trapézoïdes et Octodrilus complanatus et Eisenia fetida en milieu sableux. Mémoire Master 2 en Ecologie et Environnement. Université de Constantine 1, Algérie. 7p.
- Blakemore R.J. 2008. Cosmopolitan Earthworms – an Eco-Taxonomic Guide to the Species (3rd Ed.). VermEcology, Yokohama (Japan), 757 p. CD-ROM.
- Booth L.H., Heppelthwaite V.J. et O'Halloran K. 2000. Growth, Development and Fecundity of the earthworms Aporrectodea caliginosa after Exposure to two Organophosphates. New Zealand Plant Protection, vol. 53, p. 221-225.
- Bouché M.B. (1972). Lombriciens de France. Ecologie et Systématique. I.N.R.A. (Ann. Zool.- écol. anim. Numéro hors-série 72/2), Paris, 671p.
- Bouché M.B. (1977). Stratégies lombriciennes. Bull. Ecol., Paris, 25 : 122-132.
- Bouché MB. 1984. Ecotoxicologie des lombriciens. II. Surveillance de la contamination des milieux. Acta Œcologica/Œcologia Applicata, 5 : 291-301.
- Bouché MB. et Al-Addan F. 1997. Earthworms, water infiltration and soil stability: some new assessments. Soil Biol. Biochem. 29, 441-452.
- Boucher C.G., Margoum C., 2003. Contribution l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fosses, caractérisation physico-chimique et hydrodynamique, Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier-Grenoble I. France. 292p.

- Brown, G.G., Edwards, C.A. & Brussaard, L. (2004) How earthworms affect plant growth : burrowing into the mechanisms. In Edwards, C.A. (ed) Earthworm ecology. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 13-49.
- Calvet R. et Charnay M.P. 2002. Le devenir dans le sol des produits phytopharmaceutiques In Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Edition ACTA, Paris, 805-833p.
- Chiyoza T., 2008. The history of insecticides and the transition of their production. Jpn. J. Toxicol., 21 :123-131.
- Choo LPD. and Baker GH. 1998. Influence of four commonly used pesticides on the survival, growth, and reproduction of the earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Lumbricidae). Australian Journal of Agricultural Research, 49 : 1297–1303.
- Cortet J, Gillon D, Joffre R, Ourcival J.M, Poinso-Balaguer N. Effects of pesticides on organic matter recycling and microarthropods in a maizefield: use and discussion of the litter-bag methodology. *Eur J Soil Biol.* 2002;38:261–265.
- Cruz J.M.2015. Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols : développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Thèse de Doctorat en Chimie analytique et Environnementale. Université de Bordeaux. Français. 485p.
- Dallinger, R. 1994. Invertebrate organisms as biological indicators of heavy metals pollution. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 14, no. 2, p. 27-31.
- Darwin C.R., 1881. The formation of vegetable mould, through the action of worms with observations in their habits. London: John Murray.
- De Silva, P.M.C.S., van Gestel, C.A.M., 2009. Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere* 77,1609–1613.
- Decaëns, T., Mariani, L. et Lavelle, P., 1999. Soil surface macrofaunal communities associated with earthworm casts in grasslands of the Eastern Plains of Colombia. *Appl. Soil Ecol.* 13, 87-100.
- Diehl R. 1975. Agriculture générale des pesticides. J, B, Baillié. 421p.
- Dittbrenner N, Capowiez Y, Koehler H-R, Triebkorn R., 2012. Stress protein response (Hsp70) and avoidance behaviour in *Eisenia fetida*, *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris* when exposed to imidacloprid. *J Soils Sediments* 12(2):198–206
- Dugeny F., 2010 : Produits Phytosanitaires, Risques pour l'Environnement et la Santé Connaissances des usages en Zone non Agricole, Livre, p. 9.
- Edwards C. A. et Bohlen P.J. 1992. The effects of toxic chemicals on earthworms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 125, p 23-100.
- Edwards, C. A. et Bohlen, P. J., 1996. Biology and Ecology of Earthworms 3rd ed. Chapman and Hall, London, 426 pp.
- El Hade El Okki M. 2016. Etude des relations lumbricidae-éléments traces métalliques en conditions naturelles et contrôlées. Cas de l'espèce *aporrectodea trapezoides*. 123p.
- Elbert, A., M. Haas, B. Springer, W. Thielert & R. Nauen, 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science*, 64 : 1099–1105.

- Fournier J., Vedove A.D. et Morin C. 2002. Formulation des produits phytosanitaires. In pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvent. Edition ACTA, Paris, 473-495p.
- Fragoso, C., Brown, G. G., Patron, J. C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B. et Kumar, T., 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. *Appl. Soil Ecol.* 6, 17-35.
- Frund H C, Graefe U, Tisher S. 2010. Earthworms as bioindicators of soil quality, 262 P.
- Gauer M., 2007-Biologie animale. Université Louis Pasteur Strasbourg, Strasbourg. 68p.
- Guimont S., 2005. Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine, France. 341p.
- Hazelton RA. and Murphy BW. 2007. Interpreting Soil Test Results: What Do All the Numbers Mean? CSIRO Publishing, Collingwood (Australia). 152 p. ISBN-13: 978-0-64309-225-9.
- Herger P., 2003. regenwürm. Zentrum für angewandte Ökologie Schattweid, Natur-Museum. Luzern. Wolhusen. 49 p.
- Hipp A., 2005. The Life Cycle of an Earthworm. Rosen Classroom, 24p.
- Hole DG, Perkins AJ, Wilson JD, Alexander IH, Grice PV, Evans AD., 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biol Conservat*, 122:113–130.
- Inserm. 2013. (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé, 2013. Disponible sur https://www.inserm.fr/sites/default/files/media/entity_documents/Inserm_EC_2013
- ISO (International Organisation for Standardization), 2008. Soil quality—avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour—part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) No. 17512–1. Geneva
- ISO. (International Organization for Standardization), 1993. Soil Quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method, N° 11465. ISO., Geneve (Switzerland), 3 p.
- ISO., 1994. Soil quality – Determination of the specific electrical conductivity. N° 11265. ISO., Geneva (Switzerland), 4 p.
- ISO., 1998. Soil quality – Determination of dry bulk density. N° 11272. ISO., Geneva (Switzerland), 10 p.
- ISO., 2008. Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior. Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia ndrei*), N° 17512-1. ISO., Geneva (Switzerland), 25 p.
- James, S.W. (1991). Soil, nitrogen, phosphorus, and organic-matter processing by earthworms in tallgrass prairie. *Ecology*, 72, 2101-2109.
- Jeschke P., Nauen R., Schindler M., et Elbert A. 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry.* 59 : 2897–908.
- Joshi N, Dabral M (2008) - Life cycle of earthworms *Drawida nepalensis*, *Metaphire houlleti* and *Perionyx excavatus* under laboratory controlled conditions. *Life Science Journal*, Vol 5, No 4.

- Lackmann C., Velki M., Bjedov D., Ečimović S., Seiler TB., Hollert H., 2021. Commercial preparations of pesticides exert higher toxicity and cause changes at subcellular level in earthworm *Eisenia Andrei*. *Environ Sci Eur* (2021) 33:12.
- Lavelle P. (1981). Stratégie de reproduction chez les vers de terre. *Acta Oecol. Gener.*, 2 : 117-133.
- Lavelle P. et Spain A. V., 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Scientific Publications, Amsterdam, 654 pp.
- Litchfield JA., Wilcoxon F., 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 96: 99–113.
- Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Hakeem KR. *Effect of Pesticides on environment*. Switzerland: Springer International Publishing; 2016.
- Maitre M.I., Rodríguez A.R., Masin C.E., Ricardo T., 2012. Evaluation of Earthworms Present on Natural and Agricultural-Livestock Soils of the Center Northern Litoral Santafesino, República Argentina. In, R.P. Soundararajan (ed.): *Pesticides – Advances in Chemical and Botanical Pesticides*. Intech, pp. 13-18.
- Mamy L. Barriuso E. Gabrielle B., 2008 : Evaluer les Risques Environnementaux des Pesticides, Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate, *Innovations Agronomiques*, Livre, p. 3, 121-143.
- Mangala P, De Silva CS, Pathiratne A, Van Gestel CAM., 2009. Influence of Temperature and Soil Type on the Toxicity of Three Pesticides to *Eisenia Andrei*. *Chemosphere*. 76:1410–1415.
- Martinucci GB., Omodeo P. 1987. Comparaison of the earthworm fauna of some oak forests in Italy and Algeria. In Bonvicini Pagliai AM., Omodeo P. (eds.) : *On Earthworms. Selected Symposia and Monographs UZI.*, Muchi, Modena (Italy). pp. 225–234.
- Matsuda K., Kanaoka S., Akamatsu M., Sattelle D. B., 2009. Diverse actions and target-site selectivity of neonicotinoids : structural insights. *Molecular Pharmacology*, 76 : 1-10.
- Mayeux, V. et Savanne, D., 1996. La faune, indicateur de la qualité des sols. Ademe, Direction Scientifique Service Recherche impacts et milieux, pp. 62.
- Merhi M. 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des Lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de Doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition, Université de Toulouse, France, 249 p.
- Miglani, R., Bisht, S.S., 2019. World of earthworms with pesticides and insecticides. *Interdisciplinary toxicology*, 12(2), 71–82.
- Morgan J. E. et Morgan A. J., 1988. Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils. *Environ. Pol.*, vol. 54, p 123-138.
- Nahmani J. 2003. Impact des métaux sur la structure et le rôle fonctionnel des communautés de macro-invertébrés et de microorganismes des sols du Nord-Pas-de-Calais : Une approche multiscalaire. Thèse de Doctorat. Université Paris VI (France), 198 p.
- NF ISO 10693. 1995. Qualité du sol - Détermination de la teneur en carbonate - Méthode volumétrique. AFNOR Normalisation. 8 p.
- NF ISO-14235 : 1998. Qualité du sol- Dosage du carbone organique par oxydation sulfochromique. 5p.

- NF X 31-103. 1988. Détermination du pH dans l'eau. 5 p.
- OCDE. (Organization for Economical and Cooperative Development), 1984. Guideline for Testing of Chemicals, n° 207: Earthworm Acute Toxicity. OECD., Paris (France). 9 p.
- Omodeo P., Rota E. 2008. Earthworm diversity and land evolution in three Mediterranean districts. Proceedings of the California Academy of Sciences, Fourth Series, 59: 65–83.
- Paoletti M (1999) - The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agr. Ecosyst. Environ. Vol. 74, p. 137-155.
- Pelosi. C, 2008- Modélisation de la dynamique d'une population de vers de terre lumbricus terrestris au champ contribution à l'étude de l'impact de systèmes de culture sur les communautés lombriciennes. N°decommande1619, Th. Doc., Ecole doctoral. ABIÉS. Paris.141 p.
- Pretty J. 2005. The Pesticide Detox – Towards a more Sustainable Agriculture, Earthscan, London, United Kingdom.
- R Core Team, 2020. R. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Ramade F., 2005. Eléments d'écologie : écologie appliquée, Ed. Dunod, Paris, 6^{ème} édition, 864 p.
- Randriamalala M.O. 2013. Etude des substrats adaptés à l'alimentation des lombrics Pennesyy wigger. Mémoire d'ingénieur Agronome en E.S.S.A, Université D'Antananarivo, Madagascar, 8p.
- Rathore HS, Nollet LM (Eds)., 2012. Pesticides : evaluation of environmental pollution. CRC Press.
- Regnault-Roger C, Fabres G, Philogène B (2005). Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement : pesticides et biopesticides-OGM lutte intégrée et biologique-Agriculture durable. Lavoisier. Paris : Tec et Doc, 1013 p.
- Rial-Otero R., Cancho-Grande B., Arias-Estévez M., López-Periago E. Gándara J., 2003 : Procedure for the Measurement of Soil Inputs of Plant-Protection Agents Washed off Through Vineyard Canopy by Rainfall. J. Agricult. Food Chem., 51 : 5041-5046.
- Ribera D. et Saint-Denis M. 1999. Le ver *Eisenia fetida* : intérêts et perspectives en écotoxicologie terrestre. Bull. Soc. Zool. Fr., 124(4) : 411-420.
- Rivière JL, 1993. Les animaux sentinelles. Le Courrier de l'Environnement de l'INRA 20, 59-68.
- Roberts BL., Dorough HW., 1984. Relative toxicities of chemicals to the earthworm *Eisenia foetida*. Environ Toxicol Chem, 3:67–78.
- Robidoux P. Y., Svendsen C., Sarrazin M., Thiboutot S. Ampleman G., Hawari J., Weeks J.M., et Sunahara G.I. 2005. Assessment of a 2,4,6- Trinitrotoluene Contaminated Site Using *Aporrectodea rosea* and *Eisenia andrei* in Mesocosms. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 46: 1-11.
- Römbke J, Jansch S, Didden W, 2005. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. Ecotoxicology and Environmental Safety 62, 249-265.
- Rodriguez-Campos J, Dendooven L, Alvarez-Bernal D, Contreras-Ramos SM., 2014. Potential of earthworm to accelerate removal of organic contaminants from soil: a review. Appl Soil Ecol 79 :10–25.

- Rosell G, Quero C, Coll J, Guerrero A. Biorational insecticides in pest management. *J of Pesticide Sci.* 2008;33:103–121.
- Saad hellal H., 2015. Contribution à l'étude du comportement de deux espèces lombriciennes *Aporrectodea trapezoides* et *Octodrilus complanatus* dans des substrats exposés à la salinité. Mémoire Master 2 en Protection et Conservation des Ecosystèmes. Université de Constantine 1, Algérie, 4p.
- Schreck E., Geret F., Gontier L., Treilhou M., 2008. Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* nocturna. *Chemos* 71:1832–1839.
- Sims R.W. et Gerard B.M., 1999. Earthworms: Notes for the Identification of British Species, Synopses of the British Fauna (New Series) n°.31 (Revised). London: Linnean Society.
- Singh S, Singh J, Vig AP., 2016. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: soil vs vermicast. *Ecol Eng* 90 :1–5.
- SSDS. 1993. Soil Survey Division Staff- Soil Survey Manual. USDA Handbk, n° 18 (Department of Agriculture). Printing Office, Washington (USA), 437 p.
- Tellier S., Desrosiers R., Duchesne R-M. et Samuel O., 2006. Les pesticides en milieux agricoles : état de la situation environnementale et initiatives prometteuses, Direction des politiques en milieu terrestre, Service des pesticides, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 90p.
- Tomizawa M., Casida J.E., 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology : mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45 : 247-268.
- Tondoh E J, Monin M I, Tiho S, Csuzdi C. 2006. Can earthworms be used as bioindicators of land-use perturbation in semi-deciduous forest? *Biol Fertil Soils*, 43 :585- 592.
- Tooker, J. F.; Douglas, M. R.; Krupke, C. H. (2017), Neonicotinoid seed treatments: limitations and compatibility with integrated pest management. *Agric. Environ. Lett.*, 2, 170026
- Tremblay N., 2014- Exploitation et élevage des vers de terre pour le marché des appâts vivants. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, 12 p.
- USEPA (United State Environmental Protection Agency), 2011. Ecological Risk Assessment for the Proposed Section 3 New Use of Acetamiprid on a Variety of Agricultural Crops and as Bait near Animal Areas and Enclosed Dumpsters. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 184 p.
- Van Gestel CAM., Koolhaas JE., Hamers T., van Hoppe M., van Roover M., Korsman C., Reinecke SA. 2009. Effects of metal pollution on earthworm communities in a contaminated floodplain area : Linking biomarker, community and functional responses. *Environmental Pollution*, 157 : 895–903.
- Velki M., Hackenberger BK., 2013. Biomarker responses in earthworm *Eisenia andrei* exposed to pirimiphos-methyl and deltamethrin using different toxicity tests. *Chemosphere* 90(3):1216–1226
- Vigot M. et Cluzeau D, 2014., Les vers de terre. Chambre d'Agriculture de la Vienne. Vienne. 10p.
- Villeneuve F, Désire C (1965) - Zoologie Bordas. 40 p.

- Wang Y., Wu S., Chen L., Wu C., Yu R., Wang Q., Zhao X. 2012. Toxicity assessment of 45 pesticides to the epigeic earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 88 : 484–491.
- Yardley RB., Gast LC., Lazorchak JM., 1996. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environmental toxicology and chemistry*, 15: 1532–1537.
- Zhou SP., Duan CQ., Wang XH., Michelle WHG., Yu ZF., Fu H., 2008. Assessing cypermethrin-contaminated soil with three different earthworm test methods. *J Environ Sci* 20:1381–1385.

Annexes

Annexe 1

Les appareils utilisés durant l'analyse des paramètres physico-chimiques



pH-mètres



Conductimètre



Calcimètre de Bernard



Bain de paraffine



Agitateur



Four à moufle

Annexe 2

Tableau : Grille d'évaluation des valeurs du pH du sol (SSDS. : Soil Survey Division Staff, 1993).

Classe	pH
Fortement acide	< 5,0
Acide	5,0 - 6,0
Légèrement acide	6,0 - 6,6
Neutre	6,6 - 7,4
Légèrement alcalin	7,4 - 7,8
Alcalin	> 7,8

Tableau : Grille d'appréciation de la salinité des sols en fonction de la CE (SSDS., 1993).

Classe	CE (mS/cm)
Non-salin	0-2
Salinité très faible	2-4
Salinité faible	4-8
Salinité modéré	8-16
Salinité élevé	>16

Tableau : Grille d'appréciation de la MO dans le sol (Hazelton et Murphy, 2007).

Classe	C (%)
Taux extrêmement faible	< 0,4

Taux très faible	0,4 – 0,6
Taux faible	0,6 – 1,0
Taux modéré	1,0 – 1,8
Taux élevé	1,8 – 3,0
Taux très élevé	> 3,0

Tableau : Grille d’appréciation du calcaire total du sol
(proposées par GEPPA in Baize, 1988).

Classe	Taux des CT
Non calcaire	$\leq 1 \%$
Peu calcaire	1 % - 5 %
Modérément calcaire	5 % - 25 %
Fortement calcaire	25 % - 50 %
Très Fortement calcaire	50 % - 80 %
Excessivement calcaire	> 80 %

Annexe 3

Les supports utilisés dans les différents tests



Les boites de pétri



Les boites de pétri en verre



Les containers cylindriques

EVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUË ET DU COMPORTEMENT D'ÉVITEMENT CHEZ LE TAXON APORRECTODEA TRAPEZOIDES (DUGES, 1828) VIS-À-VIS DE L'ACÉTAMIPRIDE (INSECTICIDE).

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Fondamentale et Appliquée

Ce travail a été effectué dans le but d'évaluer la toxicité expérimentale de l'Acétamipride à partir de sa préparation commerciale « Aceplan » sur le taxon lombricien Aporrectodea trapezoides, Pour cela nous nous sommes proposé d'effectuer deux tests, test de toxicité aiguë sur papier filtre dans le but de déterminer la CL50 de cet élément ainsi qu'un test d'évitement afin d'identifier le seuil auquel le comportement d'évitement apparaît pour le taxon étudié, tout cela dans des conditions de laboratoire contrôlées.

Les tests ont été réalisés sur des individus adultes d'A. trapezoides issus d'un élevage dont les premiers vers ont été récoltés en 2018 dans la même région que le sol utilisé dans ces tests (i.e. région de Chettaba). Il s'agit d'un sol naturel éloignée de toute source de perturbation anthropique.

Les résultats obtenus lors de nos tests et en référence à la CL50 l'Acétamipride se révéla comme très toxique et provoqué une réponse rapide chez les vers testés du taxon A.trapezoides, d'autres part pour le test d'évitement il apparaît que le comportement de vers de terre se manifeste à une dose de 0,25 mg d'acétamipride par kg de sol et que pour les doses inférieures à celle-ci les vers de terre arrivent à résister de la présence de cet insecticide dans le sol.

Mots clés : A.trapezoides, Acétamipride, Test de toxicité aiguë, Test d'évitement

Laboratoire de recherche : Biologie et environnement

Jury d'évaluation :

Président du jury : SAHLI L.	Prof.	FSNV-UFMC1
Rapporteur : EL HADEF EL OKKI M.	MCB	INATAA-UFMC1
Examineurs : AMRI S.	MCB	FSNV-UFMC1

Date de soutenance : 14 /09/2021