



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département :** Biologie et Ecologie Végétale.

قسم : البيولوجيا 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 :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Gestion durable des écosystèmes et protection de l'environnement

**Option :** Pollution des Ecosystèmes et Ecotoxicologie

Intitulé :

---

**Contribution à l'évaluation de la toxicité aiguë du plomb chez  
*Apporectodea trapezoides* : détermination des effets sur la mortalité et  
la croissance par contamination du sol**

---

**Présenté et soutenu par :** *CHERITI Oumnya*

**Le :** 28/06/2017

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** AFRI-MEHENNAOUI Fatima-Zohra (MCA - UFM Constantine),

**Rapporteur :** SAHLI Leila (MCA - UFM Constantine),

**Examineurs :** ZAIMECHE Saida (MCB – UFM Constantine).

*Année universitaire  
2016-2017*



# *Remerciements*

*C'est avec beaucoup de sincérité que je voudrai remercier toutes les personnes ayant soutenu et apprécié mon travail.*

*En premier lieu, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M<sup>lle</sup> SAHLI Leila de m'avoir encadrée. Je la remercie pour sa patience, sa confiance et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion. Depuis ma 2<sup>eme</sup> année, vous êtes pour moi un magnifique modèle de sagesse et de persévérance.*

*Mes plus vifs remerciements vont à Mme AFRI-MEHENAOUI. F.Z qui m'a honorée de présider le jury de ce mémoire, Qu'elle retrouve ici l'expression de ma reconnaissance.*

*Je remercie Mme ZAIMECHE Saida, qui a examiné avec beaucoup d'intérêt ce travail et dont je suis honorée.*

*Je remercie chaleureusement ma famille, surtout mes parents, ces héros qui ont toujours cru en moi et m'ont toujours guidée et encouragée. Je leur suis redevable d'une éducation dont je suis fière.*

*Je tiens à remercier tous les doctorants pour leurs encouragements.*

*Je remercie tous mes ami(e)s, qui savent combien ce travail me tenait à cœur, ils ont su me soutenir lorsque j'en avais besoin.*

*À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce mémoire, je leur présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.*

## Résumé

Cette étude a porté sur l'utilisation d'un vers de terre, *Aporrectodea trapezoides*, comme bioindicateur de la contamination plombique des sols en conditions contrôlées (test d'écotoxicité aiguë).

Le test effectué est de type statique. Il a été réalisé sur des individus juvéniles d'*A. trapezoides* récoltés dans une zone éloignée de toute source de perturbation anthropique (Village de Ayoun Assaad, Didouche Mourad-Constantine). Le substrat du test est un sol naturel prélevé dans la forêt de Chettaba. Ce dernier a été contaminé avec des concentrations croissantes en plomb. En plus du témoin, cinq concentrations ont été testées (1µg, 10µg/g, 100µg/g, 1000µg/g et 5000µg/g). Les individus juvéniles d'*A. trapezoides* sont triés et mis en contact avec les différents substrats contaminés, dans des conditions contrôlées (température, humidité) pendant une durée de 14 jours. Ce test a été prolongé jusqu'à 28 jours, dans le but de caractériser d'autres altérations que peut subir l'espèce étudiée à long terme.

Les résultats obtenus relatifs à la mortalité et le développement en biomasse d'*A. trapezoides* en présence du toxique, ont révélé des perturbations considérables. Ces perturbations sont d'autant plus importantes que la concentration en plomb dans le substrat et la durée d'exposition sont élevées. Ainsi, les deux paramètres étudiés chez cette espèce peuvent être considérés comme dose-dépendants et temps-dépendants.

**Mots clés :** *A. trapezoides*, plomb, test d'écotoxicité aiguë.

## **Abstract**

This study focused on the use of an earthworm *Aporrectodea trapezoides*, as a bioindicator of soil contamination under controlled conditions (acute ecotoxicity test).

The test is static. It was carried out on juvenile individuals of *A. Trapezoides* harvested in an area remote from any source of human disturbance (Village of Ayoun Assaad, Didouche Mourad-Constantine). The substratum used for the test is a natural soil taken from the forest of Chettaba. It was contaminated with increasing concentrations of lead. In addition to the control, five concentrations were tested (1µg, 10µg /g, 100µg /g, 1000µg/g, 5000µg /g). The juvenile individuals of *A. Trapezoides* are sorted and brought into contact with the various contaminated substrates under controlled conditions (temperature, humidity) during 14 days. This test was prolonged up to 28 days, with the aim of characterizing other alterations that can be undergone in the long term by the studied species.

The results obtained concerning the mortality and the development in biomass of *A. Trapezoids* in the presence of the toxicant, revealed considerable disturbances. These perturbations are more important as the concentration of lead in the substrate and the duration of exposure are high. Thus, the two parameters studied in this species can be considered dose-dependent and time-dependent.

**Keywords:** *A. trapezoides*, lead, acute ecotoxicity test.

## الملخص:

ركزت هذه الدراسة على استخدام ديدان الأرض ، أبوريكتوديا ترابيزويد ، كمؤشرات بيولوجية لتلوث التربة بالرصاص في ظروف خاضعة للرقابة ( إختبار السمية الحادة).

يتم تنفيذ إختبار ذو نوع ثابت على أفراد حديثي النشأة من الأبوريكتوديا ترابيزويد بحيث تم جمعهم من منطقة بعيدة عن أي مصدر للتدخل البشري ( قرية عيون عصاد، ديدوش مراد، قسنطينة ). ويعتمد هذا الإختبار أساسا على التربة الطبيعية التي تم إستخلاصها من داخل غابة شطابة بحكم أن هاته الأخيرة ملوثة بزيادة تركيزات الرصاص. إضافة إلى هذا خمسة تركيزات تم إختبارها (  $1\mu\text{g/g}$ ,  $10\mu\text{g/g}$ ,  $100\mu\text{g/g}$ ,  $1000\mu\text{g/g}$  et  $5000\mu\text{g/g}$  ). إن عينة أفراد الأبوريكتوديا ترابيزويد حديثي النشأة قد تم فرزها ووضعها في إتصال مع ركائز مختلفة و ملوثة في ظروف خاضعة للرقابة ( درجة الحرارة و الرطوبة ) و ذلك لمدة 14 يوما. و قد تم تمديد هذا الإختبار لمدة 28 يوم من أجل تشخيص التغييرات الأخرى التي يمكن أن تخضع لها الأنواع التي يتم دراستها على المدى الطويل.

إن النتائج التي تم الحصول عليها هي متعلقة بالوفيات و تطوير الكتلة الحيوية للأبوريكتوديا ترابيزويد تحت تأثير السمية، قد كشفت حصول إضطرابات كبيرة. هاته الإضطرابات هي أكثر أهمية من تركيز الرصاص في الركيزة حتى و إن كانت مدة التعرض مرتفعة . إضافة إلى هذا فإن الإعدادتين التي تمت دراستهم في هذا النوع يمكن أن تعتبر كجرعة و وقت مستقلين.

### Liste des abréviations :

- **AERMC** : Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse.
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation OR.
- **Ca**: calcium.
- **Cd** : Cadmium.
- **CE** : conductivité électrique.
- **CT** : calcaire total.
- **ETMs** : Eléments traces métalliques.
- **GEPPA** : Groupe d'Etude des Problèmes de Pédologie Appliquée.
- **ISO** : Organisation Internationale de Normalisation.
- **Mg**: Magnésium.
- **MO** : Matière Organique.
- **N** : azote.
- **Na** : Sodium.
- **NF** : norme française.
- **OECD** : Organisation for Economic Cooperation and Development.
- **Pb** : plomb.
- **SSDS** : Soil Survey Division Staff.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Propriétés du plomb (Mc Culley et al. 1991).....	4
<b>Tableau 2</b> : Teneurs naturelles du plomb dans les sols et dans la lithosphère (Fagot, 1993).....	6
<b>Tableau 3</b> : Sources anthropiques de deux ETMs dans le sol Fe / Pb (Huynh, 2009; Houda, 2010; Alloway, 2013; Gonnelli et Renella, 2013; Mertens et Smolders, 2013; Oorts, 2013; Smolder et Mertens, 2013; Steinnes, 2013).....	7
<b>Tableau 4</b> : Effets du pH et du potentiel redox sur la mobilité ETM du sol (Förstner, 1985).....	10
<b>Tableau 5</b> : Caractéristiques des groupes écologique de vers de terre (Bouché, 1977)..	18
<b>Tableau 6</b> : Caractéristiques du test de reproduction de vers de terre (norme ISO11268-2).....	25
<b>Tableau 7</b> : Caractéristiques du test d'évitement de vers de terre (norme ISO17512-1)	25
<b>Tableau 8</b> : Concentrations des ETMs testés dans le test d'écotoxicité.....	32
<b>Tableau 9</b> : Données statistiques des paramètres physico-chimiques des sols étudiés...	36
<b>Tableau 10</b> : Grille d'évaluation des valeurs du pH du sol (SSDS, 1993).....	36
<b>Tableau 11</b> : Grille d'appréciation de la salinité des sols en fonction de la CE (SSDS, 1993).....	37
<b>Tableau 12</b> : Grille d'appréciation du calcaire total du sol (proposées par GEPPA in Baize, 1988). .....	37
<b>Tableau 13</b> : Grille d'appréciation Du taux de carbone dans le sol (Hazelton et Murphy, 2007). .....	38
<b>Tableau 14</b> : Grille d'appréciation de la teneur en azote (SSDS, 1993).....	38
<b>Tableau 15</b> : Variation des taux de mortalité en fonction et de la concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours) .....	39
<b>Tableau 16</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur le taux de mortalité après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	41
<b>Tableau 17</b> : Variation des poids moyens d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours) .....	42
<b>Tableau 18</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'évolution du poids après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	44
<b>Tableau 19</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'évolution du poids après 28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	45
<b>Tableau 20</b> : Variation des taux de croissance moyens chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours) .....	46



<b>Tableau 21</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur les taux de croissance après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	47
<b>Tableau 22</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur les taux de croissance après 28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	48
<b>Tableau 23</b> : Variation de l'inhibition de la croissance chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb (ug/kg) et du temps (jours) .....	49
<b>Tableau 24</b> : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'inhibition de croissance après 14-28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ). .....	51

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Origine des métaux lourds dans le sol.....	5
<b>Figure 2 :</b> Devenir des métaux lourds (dont le plomb) dans le sol (Galvez-Cloutier, 1995) .....	9
<b>Figure 3 :</b> Photo vers de terre (Prise par auteur de l'espèce <i>A. Trapezoides</i> )	15
<b>Figure 4:</b> Coupe du sol présentant les trois grandes catégories de vers de terre en fonction des niches écologiques qu'ils occupent. (CNRS 2005) .....	19
<b>Figure 5:</b> Coupe latérale du lombric illustrant les différentes parties du tube digestif (Morin et Houseman 2014). .....	19
<b>Figure 6 :</b> Voies d'exposition d'un vers de terre aux polluants métalliques (schéma conçu par l'auteur en se basant sur (Langdon et al. 2005) et (Goven et al. 2005) ...	20
<b>Figure 7 :</b> Schéma théorique dose/ effet d'un test écotoxicologique avec le mode de définition de ses seuils (Forbes et Calow 1999 modifié par auteur).....	23
<b>Figure8 :</b> Carte de localisation de la zone d'échantillonnage (carte conçue par l'auteur) .....	24
<b>Figure 9 :</b> Méthodologie de traitement et conservation des sols (Photos prises par l'auteur) .....	27
<b>Figure 10 :</b> Photo du pH-mètre (Prise par l'auteur) .....	27
<b>Figure 11 :</b> Photo du conductimètre (Prise par l'auteur) .....	28
<b>Figure 12:</b> Dosage du calcaire total (Prises par l'auteur) .....	28
<b>Figure13 :</b> Etapes dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl (Photos prises par l'auteur.....	30
<b>Figure 14:</b> Photo de l'espèce <i>A. trapezoides</i> échantillonnée au village de Ayoun Assaad, Didouche Mourad-Constantine (36.465579 N 6.665603) .....	32
<b>Figure 15 :</b> Mesure de la taille pour les vers de terre (Photo prise par l'auteur).....	33

<b>Figure 16 :</b> Acclimatation des vers de terre dans les boites de Pétri (Photo prise par l'auteur) .....	33
<b>Figure 17 :</b> Le plan expérimental pour le test d'écotoxicité aigue (Figure conçue par l'auteur) .....	34
<b>Figure 18 :</b> Mesure du poids de 10 vers de terre (Photos prises par l'auteur) .....	35
<b>Figure 19 :</b> Variation des taux de mortalité moyens chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours) .....	40
<b>Figure 20 :</b> Variation des poids moyens d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\text{mg/kg}$ ) et du temps (jours) .....	42
<b>Figure 21 :</b> Variation des taux de croissance moyens chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\text{mg/kg}$ ) et du temps (jours) .....	46
<b>Figure 22 :</b> Variation de l'inhibition de la croissance chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb ( $\text{mg/kg}$ ) et du temps (jours) .....	50

# Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1
<i>Chapitre I synthèse bibliographique</i>	
I-1 Propriétés du plomb (Pb).....	4
I-2 Origine du plomb.....	5
I-2-1 Origine naturelle.....	6
I-2-2 Origine anthropique.....	7
I-3 Devenir du plomb dans le sol .....	8
o Les argiles.....	8
o Les carbonates de calcium.....	8
o Les oxydes.....	8
o La matière organique.....	8
o Des précipités.....	8
I-4 Influence de la physico-chimie du sol sur la spéciation et le comportement du plomb.....	9
I-4-1 Influence du pH.....	9
I-4-1-1 Potentiel d'oxydoréduction.....	10
I-4-2 Influence du calcaire total (CT).....	10
I-4-3- Influence de la matière organique (MO).....	11
I-4-4- Influence de l'azote (N).....	11
I-4-5- Influence de la CEC .....	11
I-4-6- Influence de la texture.....	12
I-5 Utilisation des lombrics comme bioindicateurs de la contamination des sols par les éléments traces métalliques.....	12
I-5-1 Les bioindicateurs .....	13
I-5-2 Ecologie des vers de terre.....	14
I-5-3 Spécificité des lombrics.....	18
I-5-4 Voies d'exposition des lombriciens aux ETMs du sol.....	19
I-6 Aperçu sur les tests d'écotoxicité.....	21
I-6-1 Définition.....	21
I-6-2 Classification des tests d'écotoxicité.....	21
❖ Les tests aigus .....	22

❖ Tests chroniques .....	22
❖ Tests de génotoxicité .....	23
❖ Tests type « perturbateurs endocriniens » : .....	24
I-6-3 Tests d'écotoxicité en milieux terrestre sur vers de terre.....	24
❖ Exemple de tests sur vers de terre .....	24

### *Chapitre II : Matériel et méthodes*

II-1 Méthodologie de prélèvement et conditionnement des échantillons de sols...	25
II- 1-1 Choix de la zone d'échantillonnage .....	25
II- 1-2 Mode de prélèvement des sols.....	25
II- 1-3 Traitement et conservation des échantillons de sol.....	25
II- 2 Détermination des paramètres physicochimiques des sols .....	27
II- 2-1 Le Ph.....	27
II- 2-2 La conductivité électrique .....	28
II- 2-3 Le calcaire total.....	28
II- 2-4 La matière organique .....	29
II-2-5 L'azote total.....	29
II- 3 Les tests d'écotoxicité sur <i>A. trapezoides</i> .....	30
II- 3-1 Le matériel biologique.....	30
II- 3-2 Les tests d'écotoxicité .....	32
II- 3-3 Mesures et observations .....	35
II-4 Traitement statistique des résultats .....	35

### *Chapitre III : Résultats et discussion*

III-1 Résultats de la caractérisation physico-chimique du sol.....	36
III-1-1 Le pH .....	36
III-1-2 La conductivité électrique CE (mS/cm) .....	36
III-1-3 Le calcaire total CT(%) .....	37
III-1-4 La matière organique M.O (%) .....	37
III-1-5 L'Azote N (%) .....	38
III-2 Résultats du test d'écotoxicité du plomb vis-à-vis d' d' <i>A. trapezoides</i> .....	39
III-2-1 Variation des taux de mortalité d' <i>A. trapezoides</i> en fonction et de la concentration et du temps.....	39
III-2-2 Variation des poids moyens d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb et du temps .....	42
III-2-3 Variation des taux de croissance moyens chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb et du temps.....	45
III-2-4 Variation de l'inhibition de la croissance chez d' <i>A. trapezoides</i> en fonction de la concentration en plomb et du temps .....	48
III-2-5 Signes comportementaux d'écotoxicité chez <i>A. trapezoides</i> durant le test.....	51
III-2-6 Validation du test d'écotoxicité aiguë sur d' <i>A. trapezoides</i> .....	52
Conclusion et Perspectives .....	53
Références bibliographiques.....	56

Annexes

# INTRODUCTION

Depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, l'économie mondiale a connu un essor considérable grâce au progrès scientifique dans différents domaines et aux multiples activités anthropiques (industrielles, urbaines, l'agriculture, le tourisme, etc.).

Cependant, ces activités, fussent-elles lucratives, ont eu un impact négatif sur l'environnement se traduisant par une érosion aggravée de la biodiversité.

Parmi ces activités anthropiques, l'utilisation à outrance des éléments traces métalliques (en abrégé : ETM) dans l'industrie, l'agriculture, le cosmétique, etc.

Les nombreuses études et analyses bibliographiques (Baize, 1997 ; Morel, 1997 ; Merian et al. 2004) convergent toutes vers le même constat et confirment leur impact négatif et les risques encourus sur l'environnement et la santé humaine.

A travers cette étude et afin de prévenir et caractériser la contamination métallique plus particulièrement plombique des sols, nous nous sommes penché sur les effets du plomb sur la pédo-faune, plus exactement sur un peuplement lombricien représenté par le stade juvénile de l'espèce *Aporrectodea trapezoides*, à l'état juvénile.

Ce choix est motivé par le fait qu'en Algérie et particulièrement à Constantine, très peu d'informations sont disponibles sur les sols contaminés par les ETM encore moins leur écotoxicité sur l'espèce étudiée, *Aporrectodea trapezoides*, connue pour être un excellent bioindicateur de la qualité (ou la contamination) des sols.

C'est pourquoi, nous-nous sommes proposé à travers cette étude de répondre aux questions suivantes :

- Est-ce que le plomb est réellement toxique pour *Aporrectodea trapezoides* ?
- Parmi les lombriciens les plus utilisés pour les tests d'écotoxicité des éléments traces métalliques, pourquoi l'espèce *Aporrectodea trapezoides* serait-elle meilleure indicatrice de la contamination des sols par le plomb ?
- Quels sont les différents effets de l'augmentation de la concentration du plomb sur le développement des vers juvéniles de l'espèce *Aporrectodea trapezoides* et comment on peut les caractériser ?

□ Existe-il une différence entre les concentrations létales des vers juvéniles issus d'une récolte et celles des vers adultes issus d'un élevage estimées par El hadef El Okki (2016) ?

Afin de répondre correctement à ces questions, ce travail à été organisé en trois chapitres:

Le premier chapitre constitue une synthèse bibliographique qui donne un aperçu général sur la contamination métallique des sols spécifiquement le cas du plomb, ses propriétés, ses origines, et ses différentes formes, ainsi que le rôle joué par les vers de terre dans la bioindication de la qualité des sols.

Le deuxième chapitre est consacré à la description de la région d'échantillonnage, au mode de prélèvement, traitement et conservation des sols, aussi aux divers protocoles retenus pour les analyses physicochimiques des sols, et le test d'écotoxicité du plomb sur *Aporrectodea trapezoides*.

Le dernier chapitre, Résultats et discussion, présente et discute les différents résultats obtenus lors de la caractérisation physico-chimique des sols et du test d'écotoxicité aiguë sur *Aporrectodea trapezoides*.

Enfin, nous présentons une conclusion générale et des perspectives.



# CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

### **I-1 Propriétés du plomb (Pb)**

Le plomb est métal non essentiel (Chiffolleau et al. 2001), mou et malléable à froid, de couleur gris bleuâtre, blanchissant lentement en s'oxydant, Il n'a ni goût ni odeur caractéristique. C'est un membre du groupe des cristallogènes (Turkmen et al. 2005). Le plus lourd des métaux usuels. Le nom et le symbole viennent du latin plumbum signifiant liquide argenté (Mc Culley et al. 1991).

**Tableau 1 :** Propriétés du plomb (Mc Culley et al. 1991).

<b>Symbole :</b>	<b>Pb</b>
<b>Numéro Atomique</b>	82
<b>Masse atomique :</b>	207,2 g.mol <sup>-1</sup>
<b>Rayon atomique</b>	180 pm
<b>Masse volumique :</b>	11,34 g.cm <sup>-3</sup> à 20°C
<b>Température de Fusion</b>	327 °C
<b>Température ébullition :</b>	1 740°C.
<b>Sept isotopes du Pb</b>	<sup>202</sup> Pb, <sup>204</sup> Pb, <sup>205</sup> Pb, <sup>206</sup> Pb, <sup>207</sup> Pb, <sup>208</sup> Pb, <sup>210</sup> Pb
<b>Quatre isotopes à l'état naturel</b>	<sup>204</sup> Pb (1,4%), <sup>206</sup> Pb (26,1%), <sup>207</sup> Pb (22,1%), <sup>208</sup> Pb (52,4%).
<b>Texture :</b>	malléable.
<b>Densité élevée :</b>	11,34

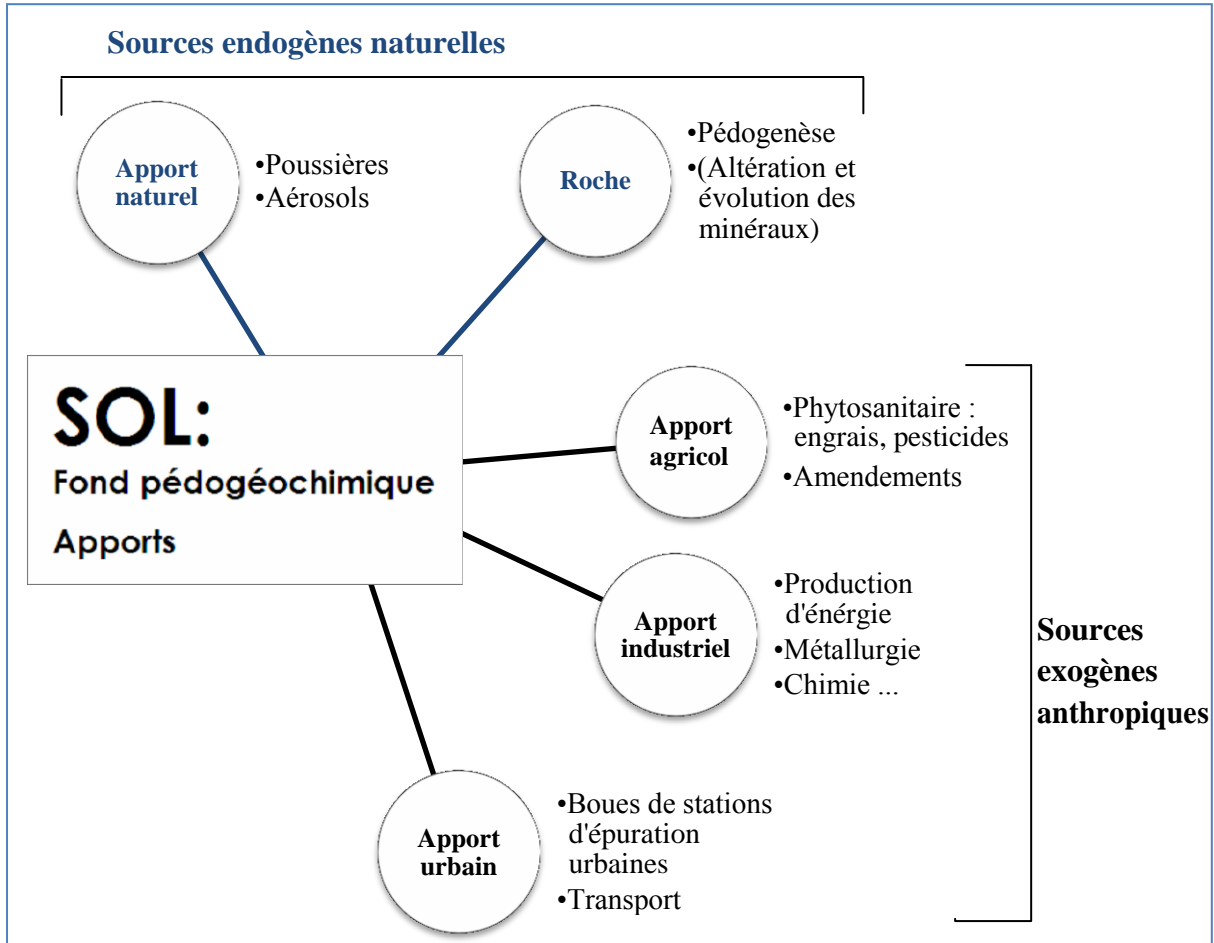
Le plomb est l'un des contaminants les plus répandus dans l'environnement (Hernández-Ochoa et al. 2005; Jarup, 2003). Toxique ou nocif, même à faible concentration pour de nombreux organismes vivants, ses rejets dans l'environnement, sont désormais strictement contrôlés dans le monde.

Le plomb est classé comme :

- Non biodégradable et par conséquent s'accumule dans le biotope (Audry, 2003).
- Polluant prioritaire, par l'Agence Américaine de Protection Environnementale (USEPA, 1992).
- Non-essentiel (USEPA, 1992) : n'a aucune fonction métabolique et est souvent toxique à une faible concentration.

## I-2 Origine du plomb

Le plomb est présent dans les sols avec une concentration naturelle moyenne d'environ  $27 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Kabata-Pendias, 2011). Celle-ci est modifiée par l'apport des différentes activités anthropiques (fig. 1).



**Figure 1:** Origine des métaux lourds dans le sol (schéma conçu par l'auteur d'après Robert et Juste, 1999)

On peut ainsi distinguer deux origines du plomb dans le sol : naturelle, et anthropique.

### II-2-1 Origine naturelle

A l'état naturel, le plomb se retrouve en petite quantité et provient essentiellement de la roche mère, mais aussi des feux de forêts et des éruptions volcaniques (Garrett, 2000).

Il est présent sous forme de galène (sulfure de Pb), de cérusite (carbonate de Pb), et d'anglésite (sulfate de Pb). La forme la plus abondante est la galène, la cérusite et l'anglésite apparaissent lors de l'oxydation de la galène.

Des milliers de gisements de plomb se retrouvent à travers le monde notamment en Algérie avec une production totale  $150.10^6$  tonnes/an (Ministère de l'Energie et des Mines - Direction Générale des Mines, 2000). Parmi eux, le gisement d'El Hadjar, d'Amizour wilaya de Bejaia, et de Batna. Bien qu'il est considéré comme un des constituants naturels de la croûte terrestre, ce minéral peut participer à la pollution des sols, des eaux et de l'air.

**Tableau 2 :** Teneurs naturelles du plomb dans les sols et dans la lithosphère (Fagot, 1993).

<b>ETM</b>	<b>Concentration dans la lithosphère (<math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Gamme de concentrations dans les sols (<math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Concentrations moyennes dans les sols (<math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>
<b>Pb</b>	16	2 – 200	10

### **II-2-2 Origine anthropique**

Le plomb est un métal connu depuis plus de 5000 ans. Il était déjà utilisé lors de l'émaillage du travail de poterie dans l'Égypte ancienne. On évalue actuellement sa quantité dans le monde à 783000 t (Singh et al. 2003). Dont les principales sources sont résumés dans le tableau 3 : les industries qui extraient et purifient le plomb naturel et qui traitent les composants contenant du plomb comme les batteries et leurs retombées atmosphériques contaminent les sols. A ceci s'ajoute les déchets industriels, le trafic routier (Baize, 1997; Morel, 1997 ; Merian et al. 2004), les engrais, les composts et les boues de station d'épuration (Girard et al.2005 ; INERIS, 2010), les cimenteries, les métallurgies et la détérioration des peintures extérieures à base de plomb. En plus des rejets provenant des industries sidérurgiques ainsi que les réseaux de canalisations de distribution d'eau anciennes. Dans les sols des concentrations en plomb supérieures à 110 mg/kg de sol traduisent l'existence d'une source polluante à proximité (Juste et al. 1995).

**Tableau 3 : Sources anthropiques du plomb dans le sol**

(Synthèse d'après : Huynh (2009); Houda (2010); Alloway (2013); Gonnelli et Renella (2013); Mertens et Smolders (2013); Oorts (2013); Smolder et Mertens (2013); Steinnes (2013).

<b>Source :</b>	<b>Pb</b>
Batteries et appareils électriques	+
Pigments et peintures	+
Alliages et soudures	+
Biocides (pesticides, herbicides, ...)	+
Agents de catalyse	+
Verres	+
Engrais	+
Matières plastiques	+
Produits dentaires et cosmétiques	+
Textiles	-
Raffineries	+
Carburants	+

Avec : (+) : Présence ; (-) : Absence

### **I-3 Devenir du plomb dans le sol**

Dans le sol, le plomb peut se retrouver sous forme ionique, dissous, ou lié plus ou moins fortement aux particules (Raskin et Ensley, 2000). Il a plusieurs possibilités d'évolution : il peut précipiter, s'adsorber, être lié aux oxydes du sol ou à la matière organique.

Le plus souvent, la fraction dissoute dans la solution du sol ne représente qu'un infime pourcentage de la totalité du polluant (concentrations de l'ordre de mol/L) (Morel, 1998; Girard et al. 2005). Le plomb se concentre donc dans la fraction solide du sol, et ils se répartissent entre les différentes fractions (organiques et minérales).

Les composantes auxquelles le plomb se lie sont :

- Les argiles

On trouve une fraction importante des ETM du sol dans la fraction argileuse : ils sont inclus dans les réseaux silicatés sous une forme très peu disponible, ou encore adsorbés à la périphérie des argiles (Brigatti et al. 2000)

- Les carbonates de calcium

En sol calcaire, les carbonates de calcium sont les constituants majeurs qui interviennent dans la fixation des éléments-traces métalliques, soit par adsorption, par précipitation d'hydroxydes ou de carbonates, ou encore par insertion dans le réseau de  $\text{CaCO}_3$  (Assadian et Fenn, 2001)

- Les oxydes

Dans la majorité des sols, les oxydes de fer et de manganèse représentent la phase de rétention privilégiée de beaucoup d'éléments traces métalliques (Kabata-Pendias et al. 1999)

- La matière organique

Elle participe efficacement à la rétention des éléments traces métalliques qui peuvent être retenus sous forme échangeable (donc assez facilement mobilisable) ou à l'état de complexes dans lesquels ils sont plus énergiquement fixés (Laurent Lemee, 2004).

- Des précipités

Une grande partie des éléments traces métalliques initialement dissous peut se fixer sur une phase solide (sédiments, colloïdes) selon quatre mécanismes principaux : l'adsorption et l'échange d'ions, la précipitation (ou la co-précipitation) à la surface du solide et l'absorption (Flores-Rodriguez, 1992).

Ces micropolluants métalliques peuvent donc précipiter dans les sols suivant les conditions qui y règnent, pour former des composés chimiques peu ou pas solubles, tels que des sulfures, des phosphates, des hydroxydes ou des sels organiques. (Bigham et Nordstrom, 2000 ; Jambor et al. 2000 ; et Stoffregen et al. 2000).

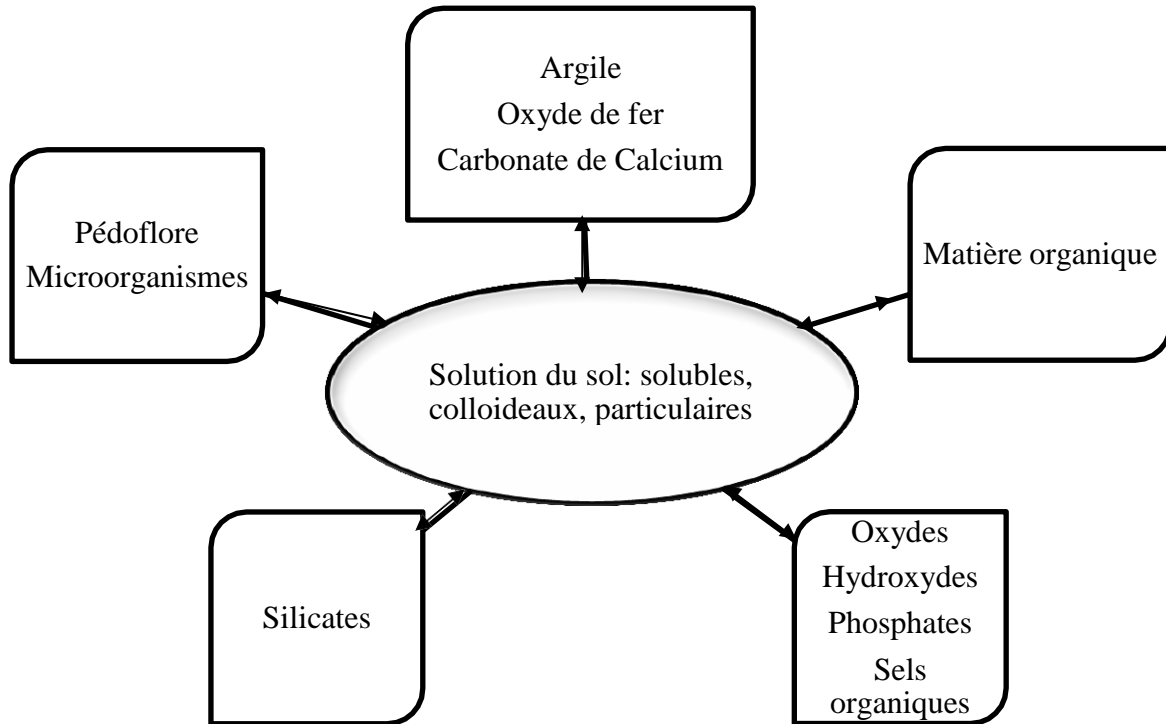


Figure 2 : Devenir des ETMs dans le sol (Galvez-Cloutier, 1995)

#### I-4 Influence de la physico-chimie du sol sur la spéciation et le comportement du plomb

Les éléments traces métalliques ne demeurent pas figés au cours du temps. Ils passent en permanence d'une forme à une autre. Un passage majoritairement contrôlé par des phénomènes d'adsorption et/ou de précipitation/dissolution, qui va être dépendant de la composition minéralogique du sol, notamment de la teneur en phases adsorbantes (matière organique, argile, oxydes...).

##### I-4-1 Influence du pH

Le pH du sol est un facteur déterminant de la mobilité des éléments traces métalliques. En effet, une variation du pH modifie les liaisons du plomb aux différents éléments présent dans le sol. Par exemple, dans un sol où le pH est compris entre 5,5 et 7,5 la solubilité du Pb est contrôlée par les phosphates et les carbonates avec lesquels il précipite, et très peu de Pb est libre ( $Pb^{2+}$ ). Plus le pH est acide moins ces liaisons se font donc plus le Pb est disponible, et plus le pH est basique plus le Pb est oxydé.

Par ailleurs, si le Pb est solubilisé, il peut être lessivé jusqu'à la nappe phréatique ou être absorbé par les plantes (Bliefert et Perraud, 2001).

**I-4-1-1 Potentiel d'oxydoréduction** (Complément au pH)

Le degré d'oxygénation ou aération du sol est déterminé par les pratiques culturales (irrigation, tassement par passages répétés d'engin, apport de matière organique biodégradable) et par les événements climatiques (précipitations massives entraînant des conditions hydromorphes). L'ensemble de ces facteurs favorise l'anoxie, et modifie ainsi la mobilité de certains ETM dont les formes réduites sont plus mobiles dans les sols que les formes oxydées. Le tableau 4 résume l'influence du pH et du potentiel d'oxydoréduction sur le degré de mobilité relative des ETM

**Tableau 4 :** Effets du pH et du potentiel redox sur la mobilité des ETMs du sol  
(Förstner, 1985)

<i>Mobilité relative</i>	<i>pH</i>		<i>Potentiel rédox</i>	
	alcalin	Acide	Oxydant	Réducteur
Très haute	Se, Mo	B	B	-
Haute	As	Zn, Cd, Hg, Co, Ni, (Mn)	Mo, Se	-
Moyenne	Mn	Cu, Al, <b>Pb</b> , Cr	Cu, Co, Hg, Ni, Zn, Cd	Mn
Basse	<b>Pb</b> , Fe, Zn, Cd, Tl	Fe (III), Tl	<b>Pb</b> , Tl	Fe, Zn, Co, Ni, Tl
Très basse	Al, Cr, Hg, Cu, Ni, Co	Mo, Se, As	Al, Cr, Fe, Mn	Al, Cr, Hg, Cu, Se, B, Mo, Cd, <b>Pb</b>

**I-4-2 Influence du calcaire total (CT)**

La teneur en carbonates de calcium CaCO<sub>3</sub> peut influencer directement la mobilité des éléments métalliques. Une teneur élevée rend le milieu alcalin favorable à la fixation des cations. La surface des carbonates favorise les phénomènes de rétention des ions métalliques. Ils fixent les ETM, par adsorption, par précipitation d'hydroxydes ou de carbonates, ou encore par insertion dans le réseau de CaCO<sub>3</sub> (Perrono, 1999). Ces réactions sont influencées par le pH et le potentiel redox du milieu.



#### **I-4-3 Influence de la matière organique (MO)**

L'accumulation du plomb, se fait principalement dans les horizons de surface (Sterckeman et al. 2000) et plus précisément dans les horizons riches en matières organiques. Les teneurs en Pb diminuent, ensuite, plus vers les horizons profonds (Abreu et al. 1998). Ceci s'explique par le fait que le Pb est peu mobile. Etant principalement associé aux argiles, aux oxydes, aux hydroxydes de fer et d'aluminium et à la matière organique, il n'est mobile que lorsqu'il forme des complexes organiques solubles et/ou que le sol a dépassé sa capacité de sorption pour le Pb (Morlot, 1996; Raskin et Ensley, 2000).

Des corrélations entre le taux de matière organique du sol et leur effet sur l'adsorption du plomb ont été établies dans le cadre de plusieurs travaux (Zimdahl et Hasset, 1977 ; Gerritse et al. 1982, Pernet-Coudrier, 2008). Ils ont montré que les concentrations en plomb trouvées dans les sols étaient étroitement corrélées à la teneur en matière organique.

#### **I-4-4 Influence de l'azote (N)**

En raison de la réactivité des ions métalliques avec les atomes de soufre, d'azote et d'oxygène, les acides carboxyliques et les acides aminés sont des chélateurs potentiels. La prise en charge des ions métalliques tels que  $Pb^{2+}$  par divers chélateurs externes et internes permet un meilleur transport du métal (Clemens, 2001).

#### **I-4-5 Influence de la capacité d'échange cationique**

L'augmentation de la salinité entraîne la remobilisation d'ETMs sédimentaires par compétition des ions magnésium et calcium vis-à-vis des autres ETMs sur les sites de fixation. Ce qui a été observé pour le cadmium et le magnésium (Förstner et Whittmann, 1979 ; Rasmussen et Andersen, 1999). Pour le cuivre et le plomb, les désorptions sont beaucoup plus faibles car ils sont principalement associés à la matière organique. Les éléments libérés (mobiles) présentent une toxicité plus ou moins marquée, car ils sont formés de chloro-complexes qui sont moins biodisponibles que les ions libres (Förstner et Whittmann, 1981).

#### **I-4-6 Influence de la texture**

Les argiles présentent une grande surface spécifique et des charges négatives sur leurs feuillets, ce qui leur permet de retenir des cations par adsorption. La capacité adsorbante d'une argile varie d'une famille à l'autre. Les phyllo-silicates ayant une capacité d'échange cationique (CEC) élevée et d'importantes surfaces spécifiques, contribuent à adsorber de fortes quantités d'éléments traces métalliques (Kabata-Pendias, 2001). Ceci se traduit par une corrélation négative significative entre la CEC et la teneur en plomb dans le sol (Kabata-Pendias, 2001).

D'après Deschamps et al. (2006), le comportement des métaux lourds dans le sable dépend fortement de la nature et de la proportion des différents composants de ce sol, les argiles peuvent retenir une importante quantité d'éléments traces métalliques par adsorption.

Dans les sols à texture sableuse, ou à travers les chemins d'écoulement préférentiel, le transfert des micropolluants en profondeur est favorisé car les réactions avec les constituants n'ont pas le temps de s'établir ou du fait de la libération et du transport sous forme colloïdale des micropolluants dans la solution du sol.

#### **I-5 Utilisation des lombrics comme bioindicateurs de la contamination des sols par les éléments traces métalliques**

La contamination métallique des sols atteint en premier lieu la partie superficielle du sol. Du fait de leur accumulation, les éléments traces métalliques peuvent atteindre de fortes teneurs, au-delà des teneurs limites dans les sols, et s'y trouver sous des formes chimiques et dans des conditions environnementales qui favorisent leur mobilité et/ou disponibilité (Bourrelier et Berthelin, 1998). Ainsi, ils peuvent contaminer les horizons plus profonds, toucher les aquifères et les nappes phréatique. Cette contamination devient un réel danger et une pollution certaine (Rodriguez et al. 2006).

Pour prévenir cette contamination terrestre, nous nous sommes intéressés à la pédo-faune, plus exactement au peuplement lombricien. En effet la pollution s'exprime par un dérèglement ou une modification dans le mode de vie des différentes espèces formant la faune du sol et peuvent donc être utilisé comme bioindicateurs de l'état de santé des sols.

### **I-5-1 Les bioindicateurs**

*There is no better indicator of the status of a species or a system than the species or system itself (Tingey 1989).*

La notion de bioindicateur désigne une espèce ou une population qui, du fait des particularités écologiques des espèces composant l'assemblage, est apte à rendre compte de façon intégrée dans le temps de l'ambiance écologique régnant dans un milieu aquatique et à révéler précocement des modifications biotiques ou abiotiques de l'environnement. Pratiquement tous les organismes révèlent des informations sur leur environnement (Charles et Smol, 1994).

Autrement dit, les indicateurs environnementaux sont des systèmes d'alarme « précoces » (par manifestation d'un déséquilibre avant altération de l'espèce) d'une contamination dont les effets peuvent être réversibles (Echaubard, 1995). La majorité de ces bioindicateurs est basée sur leur mortalité, sur les effets observés sur leur croissance ou sur leurs performances de reproduction et/ou de croissance.

Les vers de terre sont considérés comme de bons bioindicateurs de la qualité des sols en écotoxicologie, car ils possèdent la capacité d'accumuler les ETMs (Demuynek et al. 2006), et peuvent donc nous renseigner sur le niveau de contamination métallique des sols (Ma et al. 1983; Morgan et Morgan, 1988; Stafford et Mc Grath, 1986).

Les caractéristiques d'un bioindicateur approprié sont les suivantes :

- Abondance dans le milieu et cosmopolitisme : Les organismes sélectionnés doivent permettre une application géographique et temporelle large des techniques de bioindication.
- Localisation en début de chaîne alimentaire : Autrement dit, au plus proche des transferts de nutriments et d'énergie : les producteurs primaires sont ainsi particulièrement sensibles aux variations environnementales, même légères (Cazaubon, 1991 ; Rott, 1991).
- Cycle de vie simple et court : Afin de révéler les changements ponctuels ainsi que les modifications sur le long-terme et le court-terme (Hellowell, 1978).
- Facilités d'identification morphologique jusqu'au niveau de l'espèce (John, 1998).
- Protocoles d'échantillonnage sur le terrain simplifiés (John, 2000).
- Les espèces autochtones reflètent mieux les changements de qualité des milieux que les espèces exotiques (John, 2000).

### **I-5-2 Ecologie des vers de terre**

Les vers de terre jouent un rôle essentiel dans la formation et l'entretien des sols fertiles et de leurs effets sur le recyclage des éléments nutritifs, le maintien de la fertilité et la structure des sols (Lee, 1985 ; James, 1991 ; Bohlen et al. 1997).

Ils font partie des animaux terrestres les plus anciens. Ils sont omniprésents dans tous les sols capables de soutenir les plantes. Ils se reproduisent partout, mais rarement dans les déserts, lieux constamment enneigés, les sommets des montagnes et les zones manquant presque ou entièrement en sol et végétation (Römbke et al. 2005). Ils peuvent dominer l'ensemble de la macrofaune du sol sur le plan densité et biomasse souterraine globale. Ils peuvent atteindre respectivement 1 million d'individus à l'hectare et 2 tonnes par hectare (Lavelle, 1983).

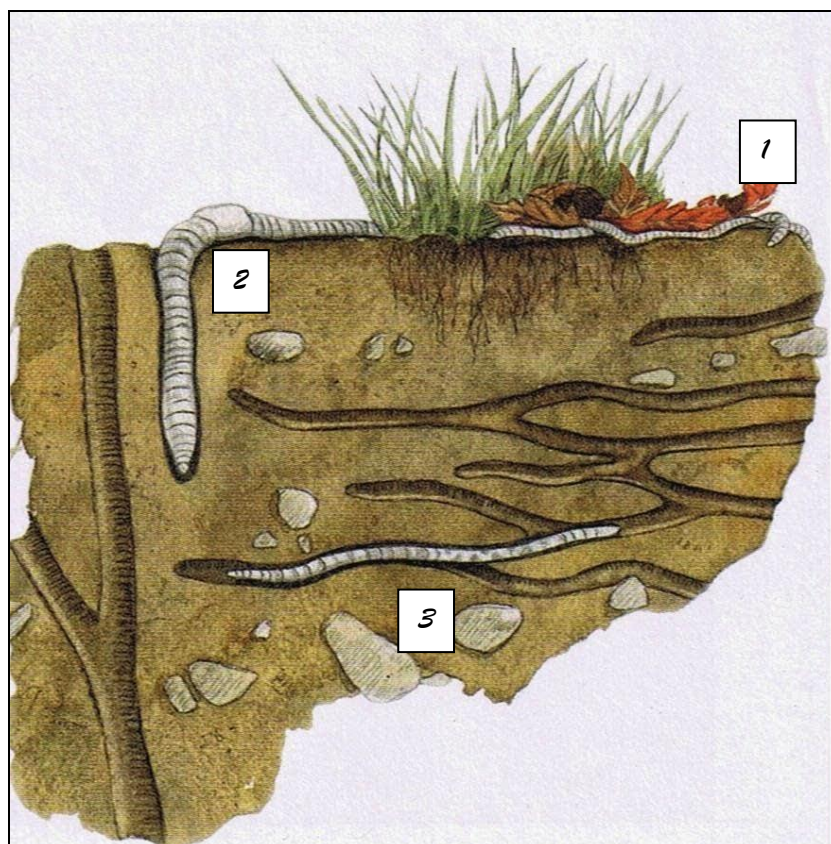
Les vers de terre, aussi appelés lombricidés (annélides, oligochètes...) représentent une composante majeure de la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres. En 1994, plus de 3600 espèces de vers de terre, réparties en 15 familles, avaient été recensées dans le monde, auxquelles s'ajoutent plus de 60 nouvelles espèces chaque année.

On estime le nombre total de vers de terre à 10 000 d'espèce dans le monde (Centre national de la recherche scientifique français-CNRS, 2005). Ils jouent un rôle important dans leur environnement grâce à différents mécanismes physico-chimiques et biologiques, permettant d'améliorer la fertilité et de préserver la structure du sol (Stork et Eggleton, 1992 ; Lavelle et al. 1997). En 1882, Darwin disait « Avant que la charrue n'existe, le sol était régulièrement labouré par les vers de terre, et il ne cessera jamais de l'être encore ». Aussi, en affectant les propriétés physiques et chimiques du sol, ils modifient le biotope des communautés microbiennes (Lavelle et Gilot, 1994 ; Lavelle et al. 1997).



**Figure 3 :** Photo de vers de terre : *A. Trapezoides* (Prise par auteur )

Selon des critères morphologiques, comportementaux, et surtout en fonction des niches écologiques qu'ils occupent, les vers de terre se répartissent en trois grandes catégories écologiques : les épigés, les anéciques et les endogés (Bouché, 1977) :



**Figure 4 :** Coupe du sol présentant les trois grandes catégories de vers de terre en fonction des niches écologiques qu'ils occupent (CNRS, 2005).

### a) Les épigés : (Bouché, 1977 ; Lee, 1985) Epi = dessus; geic = terre

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 le 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.

Exemple de ces espèces :

- *Dendrobaena octaedra* : Cette espèce mange principalement des champignons et des bactéries. Son impact sur le sol forestier serait faible.
- *Lumbricus rubellus* : Le lombric rose est souvent vendu pour la pêche. Il circule dans la litière et dans les quelques centimètres à la surface du sol minéral. Il se nourrit de champignons et de bactéries autour des racines des plantes du sous-bois, et il ingère aussi de la matière organique. Il a un impact important sur le sol forestier.
- *Amyntas agrestis* : Il s'agit d'une espèce originaire d'Asie. Considérée comme extrêmement dommageable, mesure de 8 à 20 cm de longueur, très active et sensible au toucher. Ce ver peut se reproduire sans l'aide d'un partenaire.

### b) Les anéciques : (Bouché, 1977)

Sont des individus de taille moyenne à géante, dans le cas des espèces méditerranéennes, (10 à 110 cm) vivant dans des galeries verticales à subverticales plus ou moins ramifiées et s'ouvrant en surface. Au cours de l'ingestion du sol et de l'enfouissement de la matière organique, ils assurent un mélange intime de la matière organique et de la fraction minérale des différents horizons du sol. Ces espèces, localisées sur toute la hauteur du profil, disposent d'une forte musculature leur permettant de s'adapter à des compacités de sol relativement élevées et de résister aux pressions anthropiques connues en sols cultivés. En exemple :

- *Lumbricus terrestris*, le lombric terrestre. Il est communément vendu pour la pêche. Le lombric enfouit les feuilles dans son tunnel pour les consommer. Une fois que c'est fait, il remonte en surface. On peut estimer le nombre de lombric terrestre en comptant le nombre de monticules au sol. Car chaque ver est solitaire dans son tunnel.

c) **Les endogés** : (Bouché, 1977) Endo = dans ou interne; geic = terre

Sont de taille variable (1 à 20 cm). Ils représentent 20 à 50% de la biomasse des terres fertiles et vivent en permanence dans le sol où ils creusent des galeries d'orientation quelconque. Ces vers se nourrissent de terre plus ou moins riche en matière organique et se déplacent donc beaucoup pour satisfaire leurs besoins alimentaires. Lavelle (1981) précise cette classification en fonction de la richesse en matière organique du sol qu'ils ingèrent. Il existe trois sous-catégories d'endogés : polyhumiques, mésohumiques, et oligohumiques. Les endogés qui ingèrent le sol le plus pauvre en matière organique sont des oligohumiques. Les endogés ont été couramment observés près des racines. On cite :

- *Aporrectodea rosea* : une espèce commune de petite taille, qui occupe les potagers et les champs agricoles.

- *Aporrectodea caliginosa* : espèce de grande taille, non pigmentée. vivant dans les potagers et les champs agricoles. Il brasse le sol minéral et augmente ainsi le développement de l'horizon A en forêt.

- *Aporrectodea Trapezoides* : espèce de notre étude, sa longueur varie de 6 à 14 cm, 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).

**Tableau 5 :** Caractéristiques des groupes écologiques de vers de terre (Bouché, 1977)

	<b>Anéciques</b>	<b>Endogés</b>	<b>Epigés</b>
<b>Définition</b>	Espèces qui creusent des galeries verticales et profondes	Espèces qui creusent des galeries horizontales et	Espèces qui habitent dans la litière de surface
<b>Habitat</b>	Toutes les couches du sol jusqu'à 3–4 m de profondeur (les	Couche arable (5–40 cm), sols minéraux humiques	Dans la litière de surface, surtout dans les prairies et la forêt
<b>Grandeur</b>	Le plus souvent grands, 15–45 cm de	Petits ou jusqu'à 18 cm de longueur	Petits, le plus souvent 2–6 cm de longueur
<b>Alimentation</b>	Tirent de grands débris de plantes dans leurs galeries	Débris de plantes mélangés à la terre de la couche arable	Petits morceaux de plantes restés à la surface du sol
<b>Multiplicatio</b>	Limitée	Limitée	Forte
<b>Durée de vie</b>	Longue: 4–8 ans	Moyenne: 3–5 ans	Courte: 1–2 ans

### **I-5-3 Spécificité des lombrics :**

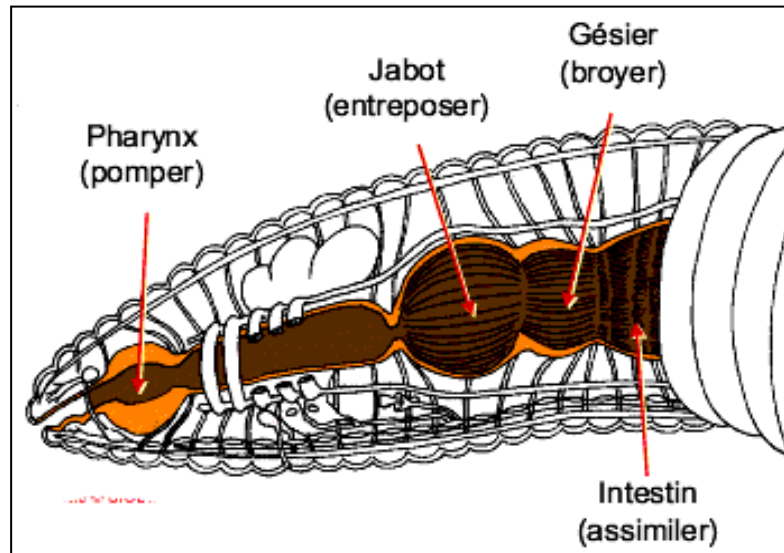
Les vers de terre possèdent un corps mou, segmenté sous forme d'anneau (classe des annélides). Chaque anneau possède 8 petits poils (soies) qui permettent d'avancer dans le sol (sous-classe des oligochètes) (Lee, 1985 ; James, 1991 ; Bohlen et al. 1997).

Ils sont dotés d'une bague (clitellum) qui permet d'identifier les adultes. Il possède une respiration cutanée, leur corps est recouvert de mucus pour maintenir la peau humide (Bachelier, 1978).

Une des particularités des vers de terre est qu'ils sont détritivores, qu'ils ingèrent la terre et en retirent le matériel organique. Leur pharynx musculieux leur permet d'avaler la terre qui est par la suite broyée dans le gésier. Le bol alimentaire voyage le long du tube digestif grâce aux contractions des muscles entourant l'intestin qui provoquent le péristaltisme (Bachelier, 1978).



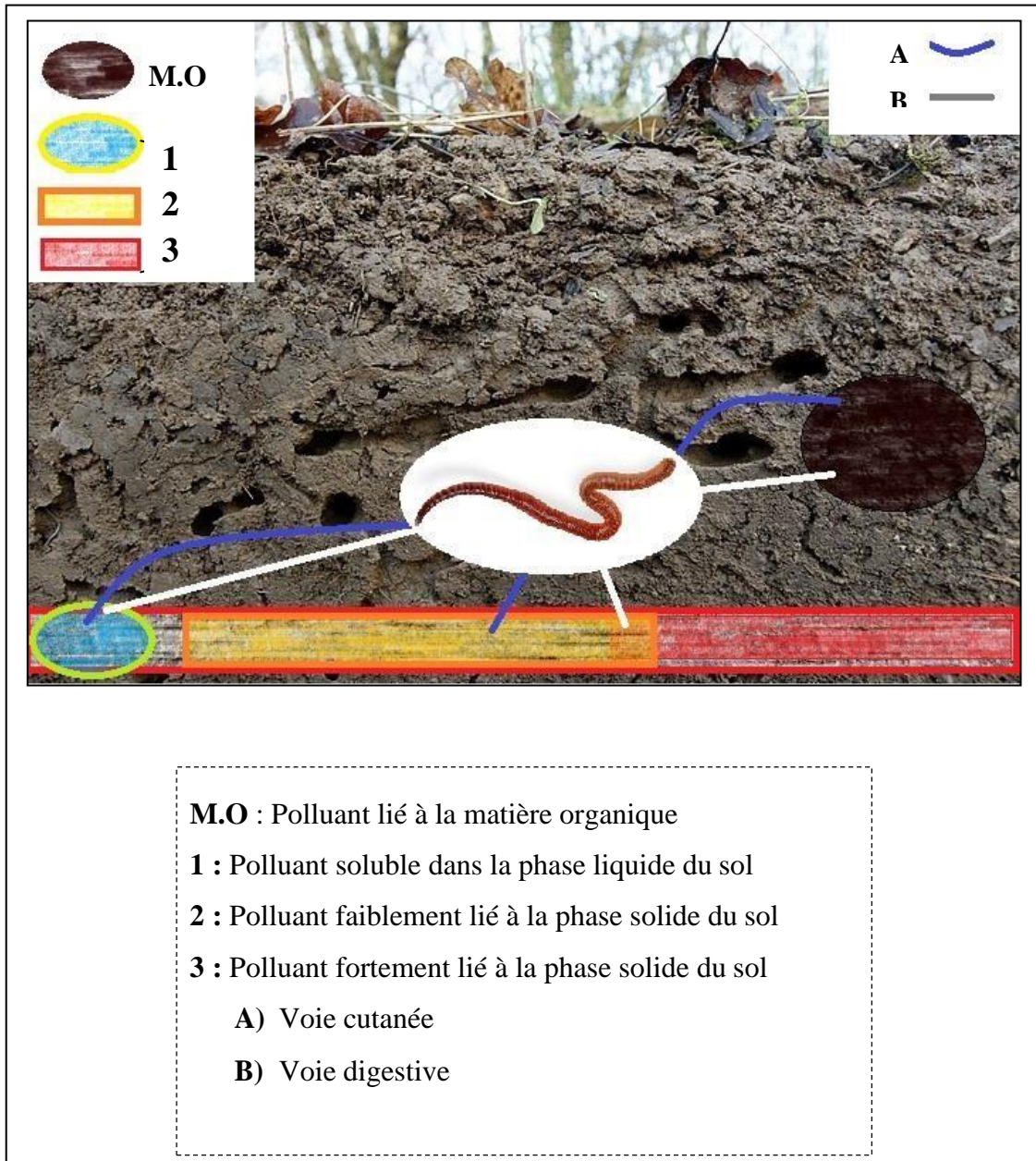
La structure de leur tube digestif leur permet de pomper, entreposer et broyer le sol, en effet il est constitué d'un pharynx suivi d'un jabot et un gésier. La paroi de ce tube forme un repli dorsal, le typhlosole, qui augmente la surface de contact entre les aliments ingérés et la surface de diffusion des aliments digérés (Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFE) du CNRS, à Montpellier 1994).



**Figure 5 :** Coupe latérale du lombric illustrant les différentes parties du tube digestif (Morin et Houseman 2014).

#### **I-5-4 Voies d'exposition des lombriciens aux ETMs du sol**

Dans le sol, Les vers de terre sont exposés à différentes teneurs et formes de contaminants en fonction des catégories écologiques, *i.e.* les vers épigés, anéciques ou endogé, car les voies cutanée et intestinale sont les 2 principales voies de contamination des vers (Goven et al. 2005) :



**Figure 6** : Voies d'exposition d'un vers de terre aux polluants métalliques (schéma conçu par l'auteur, d'après Langdon et al. (2005) et Goven et al. (2005).

**A** : La voie cutanée, *i.e.* par absorption directe par le derme (Langdon et al. 2005).

**B** : La voie intestinale dépend surtout de l'équilibre ingestion - assimilation – sécrétion.

Toutefois, l'assimilation joue un rôle important dans l'immobilisation et l'élimination des ETMs, et diminue par conséquent leur toxicité (Morgan et Morgan, 1993). Ils peuvent ainsi supporter des concentrations métalliques élevées dans les sols qui seraient mortelles pour d'autres animaux (Hopkin, 1989).

En effet les vers de terre (Anéciques et Endogés principalement) ingèrent des matières organiques et non organiques dans leur tube digestif, ces matières sont en contact avec des sécrétions (mucus, enzymes, ammonium) et contribue à l'élaboration de complexes organo-minéraux qui composent leurs déjections (turricules) avec une stabilité structurale. Tandis que les éléments traces métalliques s'accumulent dans leurs tissus et ne seront plus disponible pour le milieu, sauf que cette contamination passera aisément dans la chaîne trophique. (Morgan et Morgan, 1993).

### **I-6 Aperçu sur les tests d'écotoxicité**

#### **I-6-1 Définition :**

Un test d'écotoxicité est un test expérimental réalisé pour identifier le potentiel toxique d'une substance ou d'un mélange de substances par la réponse biologique de l'organisme test. Il détermine les concentrations avec effets (CE10, CE50, LOEC...) ou sans effet (NOEC) (OCDE, 2003).

D'après Calow (1993), un test écotoxicologique idéal doit respecter la règle des 5R (en anglais):

**Relevance** : Réalisme, pertinence, représentativité. L'organisme vivant choisi pour le test doit être représentatif du milieu évalué : ex un ver de terre représente bien les organismes du sol puisqu'il est très présent et très important dans la « vie d'un sol »

**Reliability** : Fiabilité. Une méthode fiable peut être utilisée à n'importe quel moment.

**Repeatability** : Lorsque le test est répété, il doit donner des résultats qui varient peu.

**Reproducibility** : Reproductibilité. Si différents laboratoires à travers le monde réalisent le test sur une même substance, ils doivent trouver des résultats voisins.

**Robustness** : Robustesse. Une méthode robuste est susceptible d'être utilisée par n'importe quel technicien moyennement entraîné ou formé.

#### **I-6-2 Classification des tests d'écotoxicité**

On peut différencier plusieurs types de tests, selon leur durée : les observations se font sur des temps d'exposition plus au moins importants, le nombre d'espèce exposé aux perturbations, le niveau d'observation des effets : Ils peuvent être intracellulaire (enzymatique, génétique ...), cellulaire, au niveau de l'organisme entier, au niveau des populations ou encore des communautés puis de l'écosystème. Différents critères d'effets peuvent être mesurés :

mortalité, croissance, développement, reproduction, activités enzymatiques, génotoxicité, mutagénéicité ... (Calow, 1993 ; Forbes et Forbes, 1997).

On cite quelques-uns:

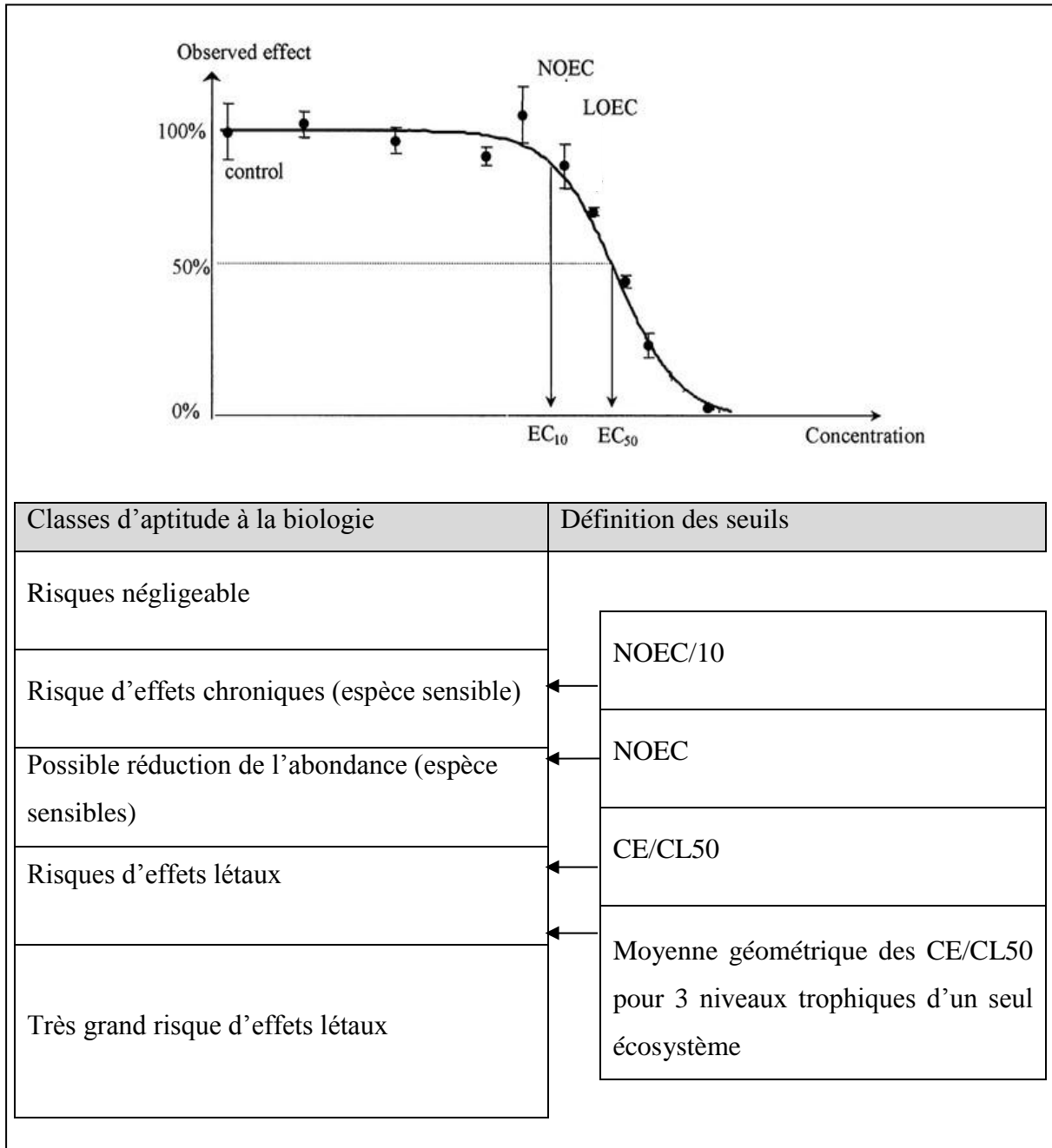
❖ **Les tests aigus :**

Se font sur des temps d'exposition courts (de quelques minutes, heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'organisme), après exposition à une dose unique du toxique. Ces essais permettent d'établir une relation entre la concentration d'exposition et l'intensité de l'effet. Dans ces tests, la valeur recherchée est la CE50 (Concentration efficace 50%), DL50 (Dose Létale) qui se définit comme la concentration en toxique qui engendre la mortalité de 50% de la population par rapport aux témoins (Triffault-Bouchet, 2004).

❖ **Tests chroniques :**

Les tests chroniques (moyen et long terme) nécessitent un temps d'exposition plus prolongé, correspondant en moyenne, à 10 % du cycle de vie de l'organisme et doit intégrer plusieurs stades de son cycle de vie pouvant inclure la reproduction.

Ces tests s'intéressent à deux valeurs (fig.8) : La CSEO = Concentration Sans Effet Observé ou en anglais NOEC (No Observed Effect Concentration) qui est la plus grande concentration dont l'effet sur les organismes n'est pas différent de celui des témoins (AERMC, 2002 ; Triffault-Bouchet, 2004), et la LOEC (Lowest observed effect concentration) qui est la plus faible concentration qui provoque un effet statistiquement différent des témoins (Forbes et Forbes, 1997).



**Figure 7 :** Schéma théorique dose/effet d'un test d'écotoxicité avec le mode de définition de ses seuils (Forbes et Calow, 1999 modifié par l'auteur)

❖ **Tests de génotoxicité :**

Permettent d'évaluer les capacités des polluants à produire des altérations de l'ADN, altérations qui induisent des mutations géniques et/ou des mutations chromosomiques (altération de la structure des chromosomes) (Triffault Bouchet, 2004 ; Wessel et al. 2007). Ces altérations sont la preuve d'une exposition et sont souvent réversibles, la transmission aux

descendants n'est pas toujours systématique, mais ces altérations permettent d'identifier un risque génotoxique potentiel (Triffault-Bouchet, 2004).

❖ **Tests type « perturbateurs endocriniens » :**

Fondés sur l'identification de marqueurs biologiques, capables de mettre en évidence l'effet «perturbateur endocrinien». Ils sont utilisables à la fois dans le cadre de la caractérisation des substances et de la surveillance des milieux et sont appuyés sur des méthodes de culture cellulaires *in vitro* (Ramade, 2007)

**I-6-3 Tests écotoxicologiques en milieux terrestre sur vers de terre**

Concernant les écosystèmes terrestres, la toxicité du sol est évaluée à l'aide de tests qui mesurent les effets de la perturbation sur les organismes édaphiques. Plusieurs espèces sont indicatrices de pollution, dont les lombrics qui ont été employées dans diverses recherches relatives à l'étude de leur relation avec les éléments traces métalliques dans le sol (Wen et al. 2004, Udovic et al. 2007). Plusieurs auteurs ont tenté à travers des études *in situ* d'évaluer les effets des ETMs sur la diversité et la densité des communautés lombriciennes. Ces tests d'écotoxicité, d'accumulation et d'adaptation sont réalisés en conditions contrôlées sur une multitude d'espèces de vers de terre (Nahmani, 2003).

Ces tests sont d'une grande importance environnementale, scientifique et même sanitaire, en effet ils permettent d'évaluer la toxicité des ETMs et le comportement des taxons lombriciens testés vis-à-vis de ces polluants (Nahmani, 2003).

❖ **Exemple de tests sur vers de terre :**

Test de reproduction de vers de terre sur *Eisenia fetida* (ISO 11268-2 : 2012) est un test utilisé pour évaluer la toxicité de substances individuelles ou des mélanges de contaminants dans les sols naturels. C'est un test chronique qui se déroule en deux temps (tab. 6). En premier, le test dure 4 semaines permettant l'étude du risque écologique sur la survie et la croissance des vers de terre adultes, puis il se prolonge en 8 semaines pour évaluer à long terme le risque sur la reproduction.

**Tableau 6** : Caractéristiques du test de reproduction de vers de terre

(Norme ISO 11268-2 : 2012)

<b>Organisme de test</b>	<b>Paramètres étudiés</b>	<b>Durée</b>
<i>Eisenia fetida</i>	-Nombre de juvéniles produits	8 semaines (reproduction)
	-Survie et croissance des vers adultes	4 semaines (survie et croissance des vers adultes)

Une autre méthode de courte durée avec deux jours d'exposition (ISO 17 512-1: 2008), qui reflète la biodisponibilité des contaminants dans les sols, et permet d'évaluer la fonction d'habitat des sols par le biais de réactions d'évitement à des concentrations sub-létales, résumé dans le tableau 7.

**Tableau 7** : Caractéristiques du test d'évitement de vers de terre

(Norme ISO 17 512-1: 2008)

<b>Organisme de test</b>	<b>Paramètres étudiés</b>	<b>Durée</b>
<i>Eisenia fetida</i>	Comportement d'évitement	2 jours

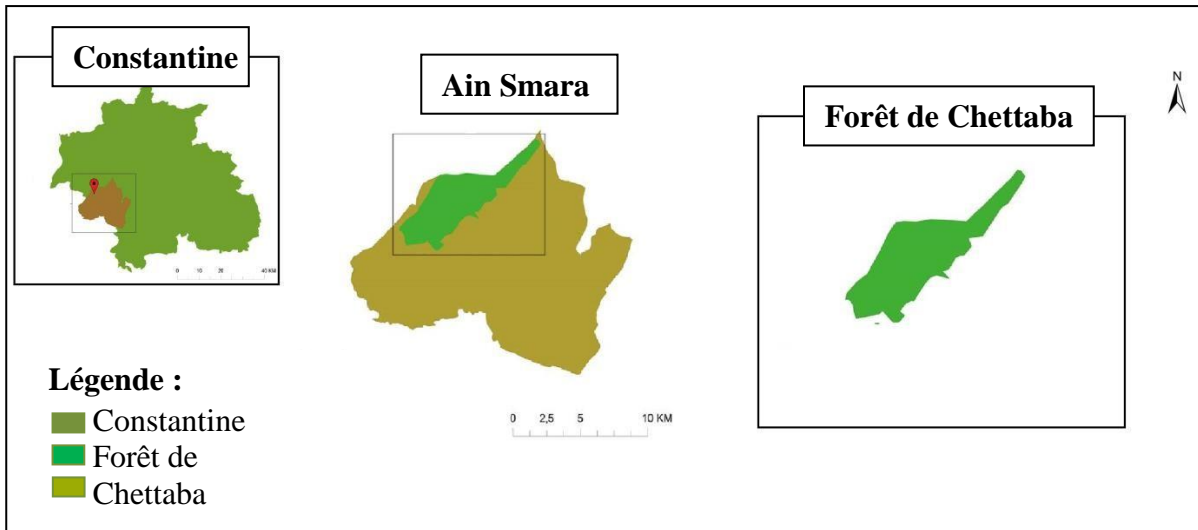
# CHAPITRE II : Matériel et méthodes



## II-1 Méthodologie de prélèvement et conditionnement des échantillons de sols

### II-1-1 Choix de la zone d'échantillonnage

L'échantillonnage des sols destinés aux tests d'écotoxicité a été effectué dans la commune d'Ain Smara à 15 km Sud-Ouest de la ville de Constantine, au Nord-Est Algérien, sur le mont, exactement dans la forêt de Chettaba, à 1000m d'altitude en un seul point avec les coordonnées satellites suivantes : 36°19'12.3"N 6°27'58.2"E.



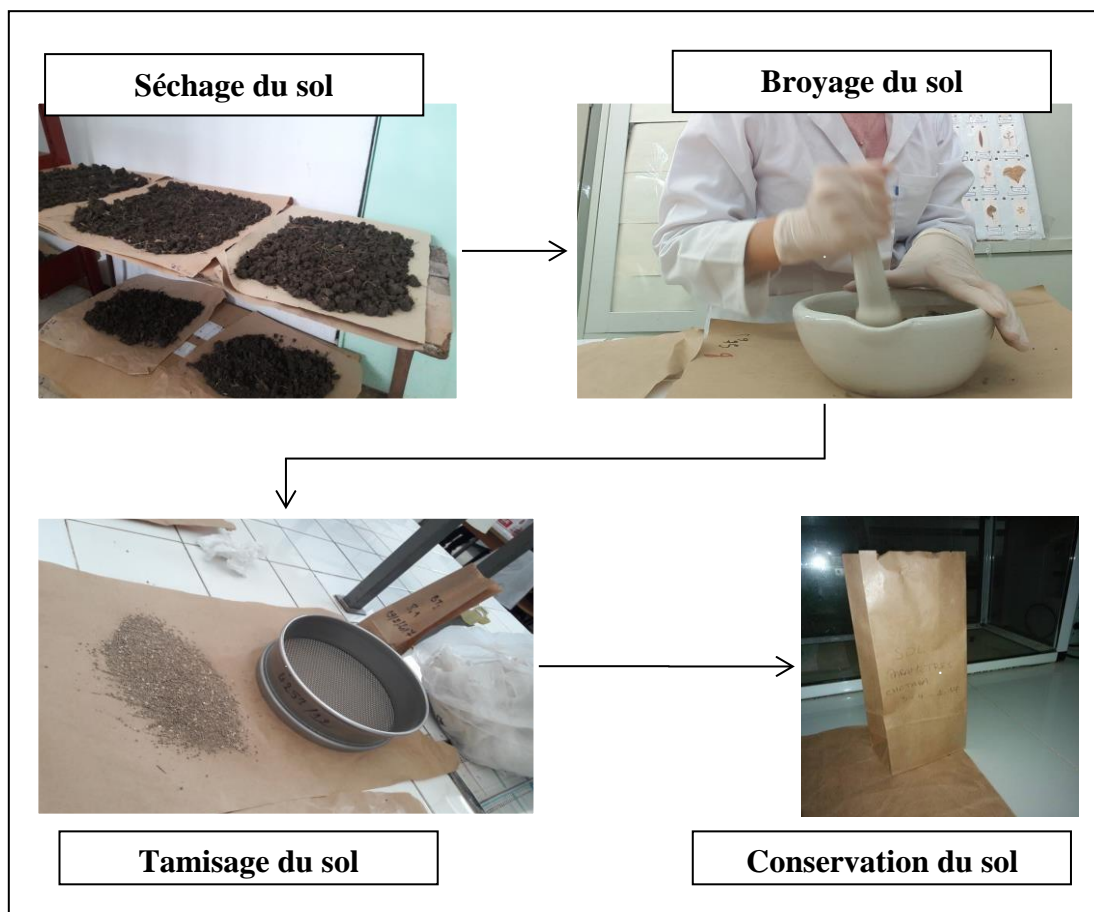
**Figure 8 :** Carte de localisation de la zone d'échantillonnage (conçue par l'auteur)

### II- 1-2 Mode de prélèvement des sols

Le prélèvement du sol dans la forêt de Chettaba a été effectué loin de toute source et forme de perturbation anthropique. Outre la faible fréquentation de la région par les véhicules, nous nous sommes éloignés de la route pour éviter les retombés et toute contamination liée au transport routier. Afin d'éviter les apports déposés par l'érosion, celle-ci étant plus forte en pente, nous avons effectué le prélèvement en terrain plat, tout en évitant les bosses et les dépressions.

### II- 1-3 Traitement et conservation des échantillons de sol

Le traitement du sol s'est effectué sur trois étapes comme indiqué dans la figure 9. Au début le sol a été séché à l'air libre sur du papier kraft pendant 10 à 15 jours, puis broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine propre, et enfin tamisé à 2 mm. Le sol a ensuite été conservé jusqu'à analyse et/ou utilisation.



**Figure 9** : Méthodologie de traitement et conservation des sols (Photos prises par l’auteur)

## II- 2 Détermination des paramètres physico-chimiques du sol

### II-2-1- Le pH

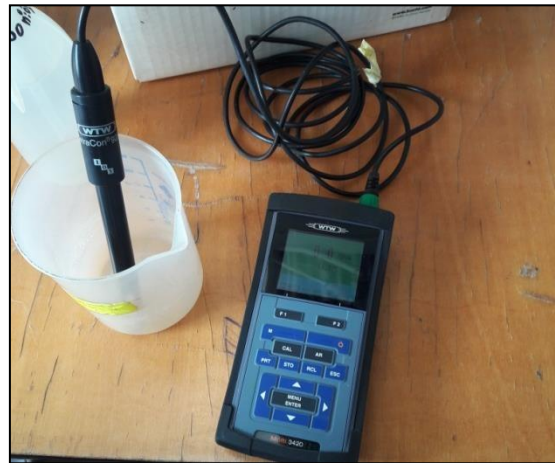
Suivant la norme NF X 31-103 (1998), le pH a été déterminé dans une suspension sol/eau distillée selon un rapport pondéro-volumique de 1/2,5. Le pH est mesuré sur le surnageant à l’aide d’un pH mètre de laboratoire étalonné de modèle Nahita 903, illustré en figure10 :



**Figure 10**: Photo du pH-mètre (Prise par l’auteur)

### II- 2-2-La conductivité électrique

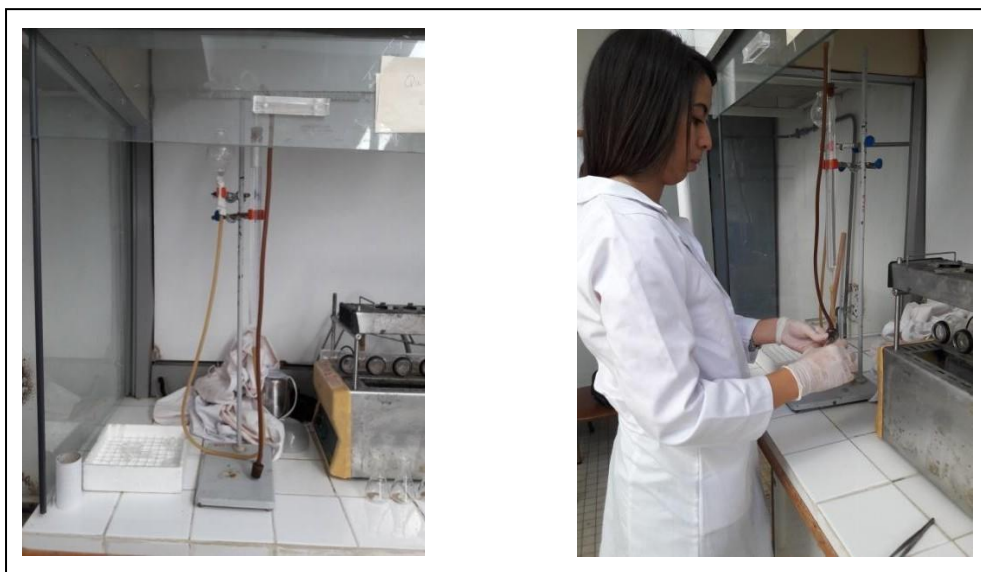
C'est une mesure qui donne une indication sur la salinité du sol. La conductivité électrique a été déterminée dans une suspension sol/eau distillée selon un rapport pondéro-volumique de 1/5 (ISO11265, 1994). La mesure de la conductivité électrique s'est effectuée sur le surnageant obtenu après centrifugation, à l'aide d'un conductimètre de model WTW/Multi 3420, illustré en figure11 :



**Figure 11** : Photo du conductimètre (Prise par l'auteur)

### II-2-3 Le calcaire total

Le calcaire total a été déterminé à l'aide du calcimètre de Bernard (fig.12) selon la norme NF ISO 10693 (1995). Les taux en calcaire total sont exprimés en %.



**Figure 12:** Dosage du calcaire total

## II- 2-4 La matière organique

La matière organique a été déterminée par perte au feu selon la norme (MA. 1010 – PAF 1.0 : 2003). Cette dernière consiste en une calcination sèche de 10 g de sol, préalablement séché, dans un four à moufle à 375°C pendant 16h par montée progressive de la température.

Le taux de la matière organique est déterminé selon l'équation suivante :

$$\text{MO (\%)} = \frac{\text{Poids sol sec (g)} - \text{Poids sol incinéré (g)}}{\text{Poids sol sec (g)}}$$

Afin qu'on puisse interpréter nos résultats, une équivalence a été établie entre les résultats par la méthode de perte au feu (PAF) et la méthode Walkley Black (WB) pour une étendue de 0 à 8 % de matière organique selon la formule suivante :

$$\% \text{ M.O. (PAF)} = 0,9932 \times \text{M.O. (WB)} + 0,587$$

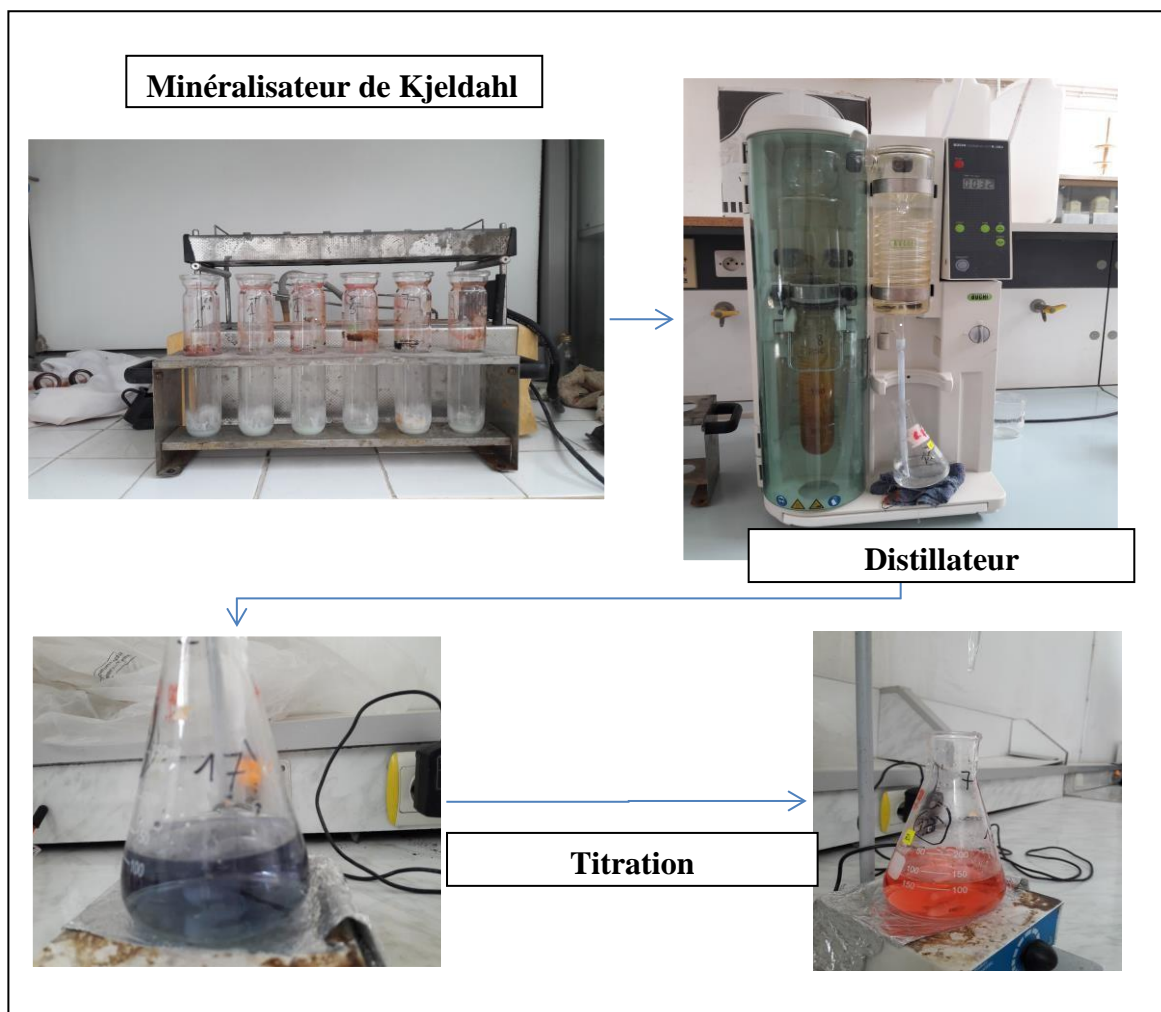
## II-2-5 L'azote total

L'azote total a été déterminé selon la norme ISO-11261 (1995). La technique, telle illustrée dans la figure 13, consiste en une minéralisation de l'azote du sol en  $\text{NH}_4^+$  dans un milieu acide ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), suivie d'une transformation en  $\text{NH}_3$  en présence de la soude, d'une distillation, et enfin d'un piégeage en présence de l'acide borique et d'une titration.

L'azote total est exprimé en % suivant le rapport :

$$\text{N (\%)} = \frac{N \times (v1 - v0) \times 0,014}{m} \times 100$$

- $v1$  : est le volume en millilitres, d'acide sulfurique (0,1 N) utilisé pour l'échantillon ;
- $v0$  : est le volume en millilitres, d'acide sulfurique (0,1 N) utilisé dans l'essai à blanc ;
- $m$  : est la masse, en grammes, de l'échantillon de sol séché à l'air (1 g) ;
- $N$  : normalité de l'acide sulfurique (0,1 N).



**Figure 13:** Dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl (Photos prises par l'auteur).

## II-3 Les tests d'écotoxicité sur *Aporrectodea trapezoides*

### II-3-1 Le matériel biologique

D'après Abdul Rida (1992), Van Vliet et al. (2005), Hobbelen et al. (2006) et d'autres chercheurs qui ont testés les effets de différents éléments traces métalliques sur les vers de terre, il ressort que les espèces épigées notamment *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* sont les plus utilisées. Ces dernières sont considérées comme des espèces de vers modèles pour les tests d'écotoxicité (Nahmani et al. 2007; OCDE, 2004).

Pour la présente étude, l'organisme test est *A. trapezoides* illustré dans la figure 14. Ce choix est justifié par l'abondance relativement importante de l'espèce dans le bassin versant Kebir Rhumel (El Hadeff El Okki, 2016). Aussi pour le test d'écotoxicité, on recherche à faire ressortir les effets du toxique par le biais du contact du polluant avec le bioindicateur (Moriarty 1983, Ramade 1987). Faisant partie des endogés, et contrairement aux espèces épigées et anéciques, *A. trapezoides* présente un contact permanent avec le sol, vis et se nourrit dans le sol, et non à sa surface (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).

Nous avons utilisé les vers appartenant au taxon *A. trapezoides*, une espèce de vers de terre qui répond aux différents critères des indicateurs biologiques, parmi les plus importants, on cite :

- ✓ **La pertinence** : *A. trapezoides* est une espèce représentative du peuplement lombricien dans le bassin versant Kebir-Rhumel (El Hadeff El Okki, 2016). Aussi elle est très répandue dans l'Est algérien avec un pourcentage de dominance combinée PDC (annexe 01) = 50,37% qui combine à la fois la densité et la biomasse (Bazri, 2015).
- ✓ **Une grande longévité** : *A. trapezoides* est caractérisé par une longévité de 3-5 ans (Bouché, 1977)
- ✓ **La sensibilité** : L'espèce est assez sensible pour détecter la contamination aux ETMs (Gish et Christensen, 1973 ; Van Hook, 1974 ; Ireland, 1983).
- ✓ **La connaissance scientifique** : une large bibliographie sur cette espèce, sur laquelle on peut se baser pour détecter les altérations subies et de les interpréter correctement.
- ✓ **La facilité de caractérisation** : l'espèce est facilement détectable par sa couleur : brune foncée avec un gradient dorso-ventral, et son clitellum aux segments 26, 27-34, en forme de selle brunâtre.

Les vers utilisés pour notre test (fig. 13) ont été collectés dans le bassin versant de l'oued Rhumel au point situé au village de Ayoun Assaad, Didouche Mourad à Constantine au point de coordonnées GPS : 36.465579 N 6.665603 E. Leur identification a été effectuée par Dr. El Hadeff El Okki M. de l'institut INAATA.





**Figure 14:** Photo de l'espèce *A. trapezoides* échantillonnée au village de Ayoun Assaad, Didouche Mourad-Constantine (36.465579 N 6.665603)

### II-3-2 Les tests d'écotoxicité

Le test effectué est un test d'écotoxicité aiguë d'une durée de 14 jours et de type statique (pas de renouvellement du substrat). Il a été réalisé selon les directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques-OECD (1984).

Ainsi, pour le substrat du test nous avons utilisé 750g/pot d'un mélange constitué de 70% de sol naturel non contaminé, prélevé à Chettaba (dans la commune d'Ain Smara), et de 30% de terreau pour assurer la survie des vers de terre. Ce mélange a été humidifié à raison de 30% de sa capacité de rétention d'eau. Pour la température, le test s'est déroulé dans une température ambiante de  $20 \pm 2$  °C.

Pour étudier l'action du plomb sur *A. trapezoides*, nous avons ajouté au substrat de base des quantités croissantes de plomb sous forme de poudre de nitrates de plomb ( $PbNO_3$ ). En plus des témoins, les concentrations testées sont récapitulées dans le tableau 8. Le choix des différentes concentrations se justifie par le souci de couvrir la gamme des valeurs susceptibles d'entraîner des effets toxiques chez les lombrics (Ramade, 2007 ; Van Coillie et Parent, 2011 ; Goussen, 2013).

**Tableau 8** : Concentrations en plomb testés sur *A. trapezoides*.

	Témoin	C1	C2	C3	C4	C5
[Pb] ( $\mu\text{g/g}$ )	0	1	10	100	1000	5000

Avant le lancement du test, les vers juvéniles (absence de clitellum) préalablement séparés des adultes, sont prélevés. Ils ont été rincés à l'eau distillée, puis égouttés sur un papier absorbant. Un deuxième tri, permettant la sélection de vers ayant un poids et une taille moyennement homogène, comme indiqué dans les critères de réussite du test posés par OCDE (1984), a été effectué.

**Figure 15** : Mesure de la taille pour les vers de terre (Photo prise par l'auteur)

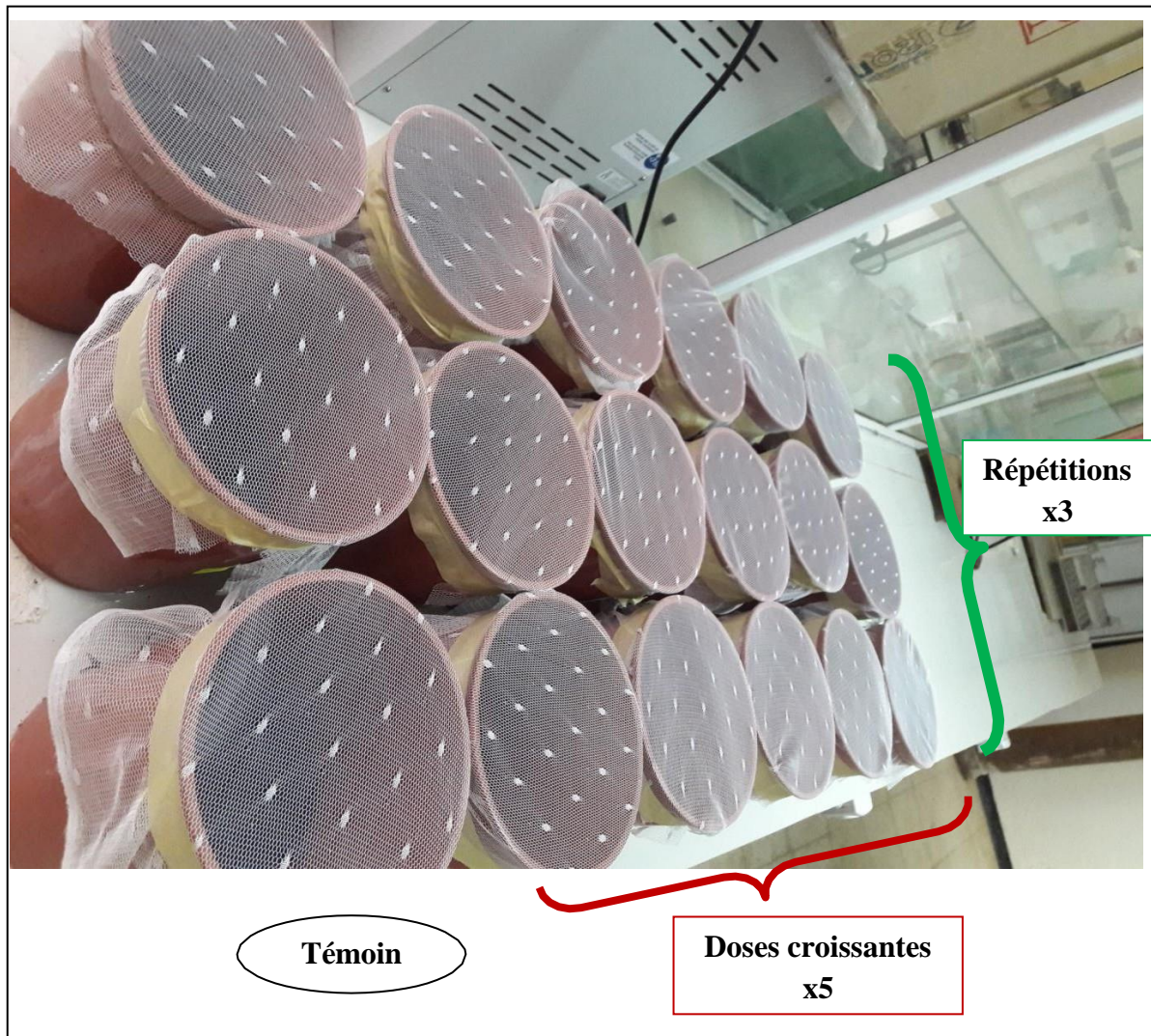
Ces vers sont ensuite déposés dans une boîte de Pétri stérile, de 90 mm de diamètre, et munie de papier filtre imbibé d'eau distillée (fig.16) dans le but de les acclimater. Les boîtes de Pétri sont mises à l'obscurité et à une température de  $22 \pm 2$  °C pendant 3 jours.

**Figure 16** : Acclimation des vers de terre dans les boîtes de Pétri (Photo prise par l'auteur)



Après ces jours d'acclimatation, les vers sont retirés de leurs boîtes, repesés et remesurés séparément (poids frais initial et taille à J0). Enfin les vers sont prêts à intégrer les pots pour le test d'écotoxicité.

Les supports du test sont des pots en polychlorure de vinyle, de forme cylindrique de dimensions 8 x 20 cm<sup>2</sup>, contenant du sol non contaminé pour les témoins et un sol contaminé pour le reste, suivant le plan expérimental illustré dans la figure 17.



**Figure 17:** Le plan expérimental pour le test d'écotoxicité aigue (conçue par l'auteur)

Pour ce test on dispose de 18 pots au total avec dix (10) vers de terre/pot, trois (03) pots témoins et 15 pots contaminés avec cinq concentrations croissantes. Au total, 150 vers de terre ont été exposés à des concentrations croissantes en plomb ( $PbNO_3$ ), en plus des 30 vers utilisés pour les milieux témoins.

A travers ce test d'écotoxicité, deux objectifs sont visés : le premier est d'estimer la concentration létale pour 50% de la population ( $CL_{50}$ ). Le second est l'évaluation de l'effet de la présence du plomb dans le sol sur la croissance des vers juvéniles de l'espèce *A. trapezoides*. C'est pour ceci que nous avons jugé nécessaire de prolonger le test à 28 jours.

### **II- 3-3 Mesures et observations**

Les mesures et les observations ont porté sur le nombre d'individus morts et les poids à J7, J14 et J28.

Lors des journées de mesures et observation, les pots sont vidés de leur sol, les vers sont délicatement séparés du sol. Les individus morts sont comptés et retirés du sol. Les vers restants sont pesés (fig.18) puis remis dans le sol.



**Figure 18 :** Mesure du poids de 10 vers de terre (Photos prises par l'auteur)

Les individus morts sont détectés en testant leur réaction 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, et est retiré. Ces données de mortalité enregistrée en fonction des concentrations permettent de déterminer la concentration létale :  $CL_{50}$  (Chapman et Morgan, 1983 ; Carr et al. 1989 ; Becker et al. 1990 ; ASTM, 1992 ; Long et Wilson, 1997 ; Carr et Chapman, 1998 ; ISO, 1998 ; Miller et al. 2000).

Le poids relevé à chaque étape d'observation, nous donnera une idée sur les altérations subies par l'espèce et permettra de calculer le taux de croissance et le coefficient d'inhibition de la croissance des vers de terre testés.

### **II-4 Traitement statistique des résultats**

Pour mieux apprécier les différents résultats obtenus, pour les paramètres physico-chimiques du sol et les différents facteurs calculés pour le test, nous avons calculé pour chaque paramètre : la moyenne, les valeurs maximales et minimales, l'écart type, la variance, un test post-hoc de Newman-Keuls, l'analyse de la variance (Anova) pour la comparaison multiple, et enfin le calcul de la  $CE_{50}$  et  $CE_{20}$ .

# CHAPITRE III : Résultats et discussion

### III-1 Résultats de la caractérisation physico-chimique du sol

Afin de caractériser le sol prélevé pour le test d'écotoxicité sur vers de terre, nous avons étudié différents paramètres physico-chimiques résumés dans le tableau 9, avec indiqué : le minimum, le maximum, la moyenne et l'écart type :

**Tableau 9** : Données statistiques des paramètres physico-chimiques du sol prélevé.

Répétitions	pH	CE (mS/cm)	CT (%)	M.O(WB) (%)	Azote (%)
1	7,49	0,134	24,14	1,65	0,0035
2	7,41	0,112	24,56	1,64	0,0035
3	7,48	0,119	23,73	1,65	0,0035
4	7,49	0,140	23,94	1,50	0,0105
5	7,46	0,114	24,35	1,55	0,0035
<b>Moyenne</b>	7,46	0,124	24,14	1,60	0,0049
<b>Ecart type</b>	0,032	0,012	0,33	0,07	0,0031
<b>min</b>	7,415	0,112	23,73	1,50	0,0035
<b>max</b>	7,495	0,140	24,56	1,65	0,0105

#### III-1-1 Le pH

D'après les résultats portés dans le tableau 10, il apparaît que la valeur moyenne du pH est de l'ordre de 7,46 avec un minimum de 7,41 et un maximum de 7,49. Selon les normes fixées par SSDS (1993), le sol étudié est légèrement alcalin.

**Tableau 10** : Grille d'évaluation des valeurs du pH du sol (SSDS, 1993)

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

#### III-1-2 La conductivité électrique CE (mS/cm)

La mesure de la conductivité électrique permet d'obtenir rapidement une estimation de la teneur globale en sels dissous. La CE moyenne des sols étudiés est de l'ordre de 0,128 (mS/cm) avec un minimum de 0,112 (mS/cm) et un maximum de 0,140(mS/cm).

Selon les normes (SSDS, 1993), telles que résumées dans le tableau 11, le sol de la région de prélèvement est un sol pauvre en sels, classé donc en non-salin.

**Tableau 11** : Grille d’appréciation de la salinité des sols en fonction de la CE (SSDS, 1993)

Classe :		CE (mS/cm)
0	Non-salin	0 – 2
1	Salinité très faible	2 – 4
2	Salinité faible	4 – 8
3	Salinité modérée	8 – 16
4	Salinité élevée	≥ 16

### III-1-3 Le calcaire total CT(%)

La teneur en calcaire total est en moyenne de 24,14% avec un minimum 23,72% et un maximum 24,55%. En considérant ces résultats déduits par la courbe d’étalonnage (annexe 02), selon la norme (GEPPA in Baize, 1988), tels que résumés dans le tableau 12, le sol prélevé est modérément calcaire.

**Tableau 12** : Grille d’appréciation du calcaire total du sol (proposées par GEPPA in Baize, 1988).

Classe	% CT
Non calcaire	≤ 1 %
Peu calcaire	1 % - 5 %
Modérément calcaire	5 % - 25 %
Fortement calcaire	25 % - 50 %
Très fortement calcaire	50 % - 80 %
Excessivement calcaire	> 80 %

### III-1-4 La matière organique M.O (%)

En raison de ses différents avantages tel que l’adsorption d’ETMs en formant des complexes par chélation par acides humiques par exemple (Alloway, 1995 ; Adriano, 2001 ; Carrillo-Gonzalez et al. 2006), et afin de caractériser notre échantillon de sol, la matière organique a été déterminée par la méthode de perte au feu. La moyenne est de 1,6%, avec un minimum de 1,5%, et un maximum de 1,7 % de matière organique. Ces résultats indiquent que le sol possède un taux modéré en carbone selon la grille (tab.13) de Hazelton and Murphy (2007).

**Tableau 13:** Grille d’appréciation du taux de carbone 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

### III-1-5 L’Azote N (%)

Dans le sol, l’azote est présent sous deux formes, organique et inorganique. Ainsi nous avons dosé le pourcentage d’azote total dans notre sol. Les résultats présentés dans le tableau 14 indiquent une moyenne de 0,0049% d’azote, avec un minimum de 0,0035%, et un maximum de 0,0105%. Ainsi, les sols étudiés sont faiblement riches en azote, selon les normes (SSDS, 1993).

**Tableau 14 :** Grille d’appréciation de la teneur en azote (SSDS, 1993).

Classe	N (%)
Faiblement riche en azote	< 0,1 %
Moyennement riche en azote	0,1 – 0,2 %
Riche en azote	0,2 – 0,3 %
Très riche en azote	> 0,3 %

Au terme de cette caractérisation physico-chimique du sol prélevé à Chettaba (Ain smara-Constantine) destiné au test d’écotoxicité aiguë sur *A. trapezoides*, il ressort que ce dernier est un sol légèrement alcalin, non salin, moyennement calcaire, faiblement riche en azote, et moyennement riche en matière organique.

La comparaison de ces résultats avec les critères physico-chimiques du sol utilisé pour les tests posés dans la norme ISO11268 (1998), démontre que le sol prélevé à Chettaba (Ain smara, Constantine) est pauvre en matière organique et légèrement plus basique qu’un sol conforme pour un test d’écotoxicité. Cependant l’ajout du terreau doté d’un pH de 4,3 ( $\pm$  0,5) ajuste son pH en le baissant à 6,0 ( $\pm$  0,5) et augmente aussi sa richesse en matière organique. Ainsi ces modifications assurent la conformité de notre sol pour l’usage pour le test selon la norme ISO 11268.

### III-2 Résultats du test d'écotoxicité du plomb vis-à-vis d'*A. trapezoides*

Dans le contexte de notre étude, le test aigu est d'une durée de 14 jours, avec des observations successives au septième et quatorzième jour.

Nous avons jugé nécessaire de prolonger le test jusqu'au 28<sup>ème</sup> jour, dans le but d'avoir une idée sur l'effet du plomb à long terme (au-delà de sa toxicité aiguë pour les vers de terre).

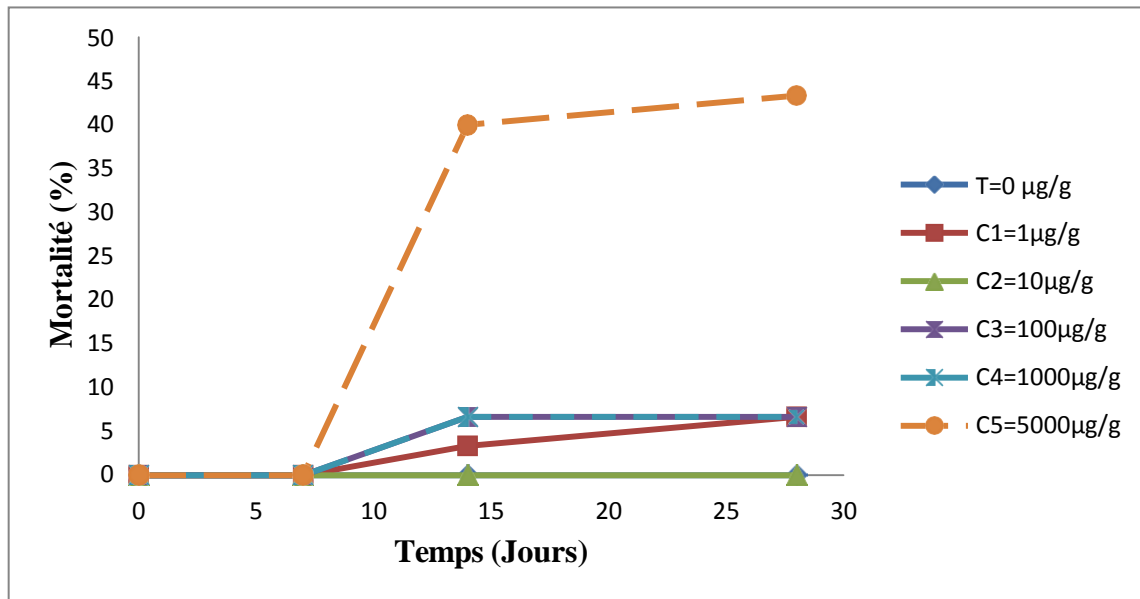
Pour chaque paramètre étudié et/ou calculé, les valeurs relevées à chaque étape d'observation, sont comparées à celles enregistrées dans les pots témoins. La différence permettra de déterminer l'effet de l'augmentation des concentrations de plomb dans le sol sur les vers testés.

#### III-2-1 Variation des taux de mortalité en fonction et de la concentration en plomb et du temps :

La finalité d'un test d'écotoxicité aiguë, est de déterminer les différentes concentrations létales pour des organismes exposés à un toxique (Triffault-Bouchet, 2004). Les résultats obtenus pour l'évaluation la mortalité sont résumés dans le tableau 15, et illustrés par des courbes dans la figure 19 :

**Tableau 15 :** Variation des taux de mortalité (%) en fonction et de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours)

Temps (jrs) \ Concentrations	J0	J7	J14	J28
Témoin=0 $\mu\text{g/g}$	0	0	0	0
C1=1 $\mu\text{g/g}$	0	0	3,33	6,67
C2=10 $\mu\text{g/g}$	0	0	0	0
C3=100 $\mu\text{g/g}$	0	0	6,67	6,67
C4=1000 $\mu\text{g/g}$	0	0	6,67	6,67
C5=5000 $\mu\text{g/g}$	0	0	40	43,3



**Figure 19:** Variation des taux de mortalité moyens chez *A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours)

En se basant sur l'analyse du tableau 15 et de la figure 19 on relève que :

Globalement, la mortalité des vers exposés au plomb se manifeste après le septième jour (j7), et augmente en fonction de la durée d'exposition et de la concentration en plomb dans le substrat. Notons que chez les individus exposés au sol contenant ( $10\mu\text{g/g}$  de plomb) et contrairement à ceux exposés à  $1\mu\text{g/g}$  de plomb, aucune mortalité n'a été enregistrée aussi bien à J7, qu'à J14 et J28. Un tel résultat peut être attribué à des erreurs de manipulation lors du mélange du plomb dans les pots contaminés avec  $1\mu\text{g/g}$  et/ou ceux contaminés avec  $10\mu\text{g/g}$  de plomb. Ainsi, pour ces deux concentrations les taux de mortalité sont soit sous-estimés ( $10\mu\text{g/g}$ ), soit surestimés ( $1\mu\text{g/g}$ ). Une telle conclusion ne peut être confirmée qu'en effectuant d'autres tests dans les mêmes conditions mais avec plus de répétitions.

Par ailleurs, après 14 jours d'exposition au toxique, nous avons enregistré un taux de mortalité minimum de l'ordre de 3.4% chez les individus exposés à  $1\mu\text{g/g}$  de plomb dans le sol, et un maximum de 40% chez les individus exposés à  $5000\mu\text{g/g}$ . La séquence des taux de mortalité à la fin du test est la suivante : **C5 >>> C4=C3 > C1**.

Cette variabilité des taux de mortalité en fonction des apports en plomb dans le substrat a été mise en évidence par l'analyse de la variance qui a révélé un effet concentration significatif ( $p < 0.01$ ). Le test de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :



**Tableau 16:** Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur le taux de mortalité après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes	
Témoin=0 µg/g	A	
C1=1 µg/g	A	
C2=10 µg/g	A	
C3=100 µg/g	A	
C4=1000 µg/g	A	
C5=5000 µg/g		B

Ainsi, il ressort que les individus *A. trapezoides* exposés à des concentrations en plomb allant de 1µg/g à 1000µg/g se retrouvent dans le même groupe que les témoins (groupe A) et se différencient ainsi de ceux exposés au substrat contenant 5000µg/g de plomb qui se détachent dans un groupe à part (groupe B).

Ces résultats mettent en évidence la relation existante entre le taux de mortalité des vers et les concentrations en plomb. En effet, l'augmentation de la concentration du plomb dans le milieu engendre une augmentation de la mortalité.

Après 28 jours d'exposition, les taux de mortalité chez *A. trapezoides* se stabilisent pour les concentrations les plus faibles et augmentent légèrement pour le substrat contaminé à 5000µg/g de plomb. La séquence des taux de mortalité après 28 jours d'exposition au plomb est la suivante : **C5 >>> C4=C3=C1**. Le taux maximum (43,3%) a été enregistré chez les individus exposés à 5000µg/g et le plus faible (6,7%) chez ceux exposés aux substrats contaminés avec 1µg/g, 100µg/g et 1000µg/g de plomb.

Ainsi et de même que pour j14, l'anova a révélé un effet concentration significatif ( $p < 0.01$ ) et le test de Newman-Keuls a fait ressortir les mêmes groupes homogènes que pour j14.

Contrairement à la concentration du toxique, l'effet de la prolongation de la durée d'exposition sur les taux de mortalité n'est pas significatif ( $p > 0.05$ ). Les CL20 calculées pour les deux durées d'exposition encadrées de leurs intervalles de confiance (IC 95 %), sont de l'ordre de 4375 (4059-7510µg/g) et 4221 (4001-6521µg/g) pour j14 et j28 respectivement. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus par El Hade El Okki (2016) pour le même test d'écotoxicité sur des individus d'*A. trapezoides* adultes issus d'un élevage en conditions contrôlées. Cet auteur a enregistré une CL50 beaucoup plus faible de l'ordre de 1861.5µg/g (1244.9-3133.1 µg/g). Ceci peut être attribué au fait

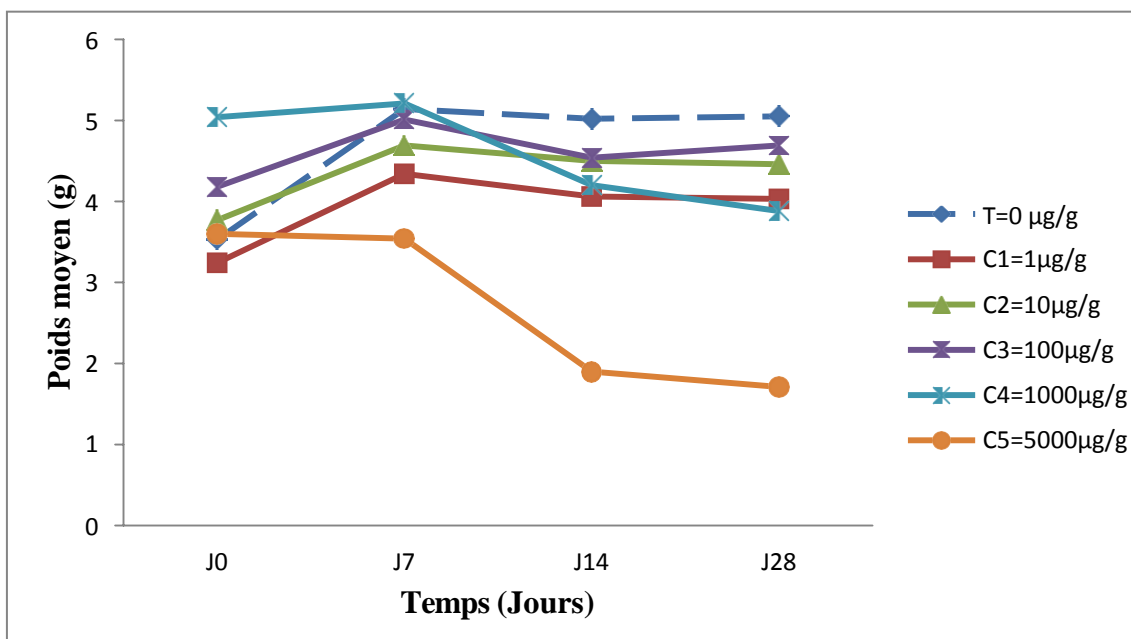
que nos organismes tests sont issus d'une récolte en milieu non contaminé et non d'un élevage. L'origine et l'historique des organismes tests semblent ainsi jouer un rôle important dans la définition des concentrations létales pour cette espèce.

**III-2-2 Variation des poids moyens d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb et du temps :**

Pour mieux évaluer la toxicité du plomb chez les vers de terre, nous avons suivi la variation du poids moyen d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb durant 14 jours d'exposition au toxique voir 28 jours. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 17 et illustrés par des courbes dans la figure 20 :

**Tableau 17 :** Variation des poids moyens (g) d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb ( $\mu\text{g/g}$ ) et du temps (jours)

Temps (jrs) \ Concentrations	J0	J7	J14	J28
Témoin=0 $\mu\text{g/g}$	3,53	5,14	5,02	5,05
C1=1 $\mu\text{g/g}$	3,24	4,34	4,06	4,03
C2=10 $\mu\text{g/g}$	3,77	4,69	4,50	4,46
C3=100 $\mu\text{g/g}$	4,18	5,01	4,54	4,69
C4=1000 $\mu\text{g/g}$	5,04	5,21	4,2	3,88
C5=5000 $\mu\text{g/g}$	3,6	3,54	1,9	1,71



**Figure 20 :** Variation des poids moyens d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb ( $\text{mg/kg}$ ) et du temps (jours)

En se basant sur l'analyse du tableau 17 et de la figure 20, on relève que :

Après 7 jours d'exposition au toxique, les individus d'*A. trapezoides*, notamment ceux mis en contact avec des substrats contenant des teneurs en plomb allant de 1 à 1000µg/g, se sont comportés tous de la même manière. En effet, une augmentation du poids moyen a été enregistrée chez tous les individus exposés aux différentes concentrations. Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration du toxique dans le milieu est faible. Ainsi, par rapport à T0 les poids ont augmentés d'un facteur de 1.45 pour les témoins, 1.33 pour les individus exposés à 1µg/g de plomb, 1.24 pour ceux exposés à 10µg/g et 1.19 pour ceux exposés à 100µg/g. Pour les vers exposés au substrat contenant 1000µg/g, l'augmentation du poids est moins conséquente ; le facteur étant de l'ordre de 1.03. Contrairement à ces derniers, une légère baisse du poids a été enregistrée chez les individus exposés au substrat contenant 5000µg/g de plomb. La séquence de l'évolution des poids enregistrée à cette période du test est la suivante : **C4>T>C3>C2>C1>>C5**.

Après 14 jours d'exposition au toxique, nous pouvons constater que le poids chez les témoins a tendance à se stabiliser et ce jusqu'à la fin du test (fig.21). Chez les individus exposés aux différentes concentrations, nous avons enregistré une baisse du poids. Cette dernière est faible voir négligeable chez les individus exposés à 1µg/g, 10µg/g et 100µg/g, et relativement importante chez les vers exposés aux fortes concentrations (1000µg/g et 5000µg/g). En effet, et par rapport à T7 les poids moyens ont baissés de 4 à 9% chez les individus exposés aux concentrations les plus faibles (1 à 100 µg/g), et de 19% et 64% chez les individus exposés à 1000µg/g et 5000µg/g respectivement. Ainsi, pour cette durée d'exposition, le poids moyen le plus élevé a été relevé chez les témoins (5.02g) alors que le plus faible chez les individus exposés à la concentration la plus élevée (1.9g). La séquence de l'évolution des poids après 14 jours d'exposition au plomb est la suivante :

**T>>C3>C2>C4>C1>>>C5**.

Cette variabilité des poids d'une concentration à l'autre a été mise en évidence par l'analyse de la variance qui a révélé un effet concentration significatif ( $p < 0.001$ ). Le test de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :

**Tableau 18:** Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'évolution du poids après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes	
Témoins	A	
C3=100 µg/g	A	
C2=10 µg/g	A	
C4=1000 µg/g	A	
C1=1 µg/g	A	
C5=5000 µg/g		B

De même que pour les taux de mortalité, il ressort que les individus *A. trapezoides* exposés à des concentrations en plomb allant de 1µg/g à 1000µg/g se retrouvent dans le même groupe que les témoins (groupe A) avec les mêmes différences constatées quant à l'évolution du poids notamment par rapport aux individus exposés à 1000µg/g. Le lot des vers exposés à 5000µg/g se détache à nouveau dans un groupe à part (groupe B).

Au vingt-huitième jour d'exposition au toxique (j28), et par rapport aux résultats obtenus lors du quatorzième jour (j14), nous constatons une stagnation du poids pour l'ensemble des vers de terre testés chez les témoins et les concentrations les plus faibles (1µg/g, 10µg/g et 100µg/g). Pour les concentrations les plus élevées (1000µg/g et 5000µg/g) les poids continuent à baisser. Cette baisse est faible par rapport à celle enregistrée à j14, elle est de l'ordre de 8% et 10% pour les individus exposés à 1000µg/g et 5000µg/g respectivement. Ainsi, le poids maximal (5,05g) a été enregistré chez les témoins et le minimal (1,71g) chez les vers exposés à 5000µg/g. La séquence de l'évolution des poids après 28 jours d'exposition au plomb est la suivante : **T>>C3>C2>C1>>C4>>>C5**.

Cette variabilité des poids d'une concentration à l'autre après 28 jours d'exposition au toxique a été mise en évidence par l'analyse de la variance qui a révélé un effet concentration significatif ( $p < 0.01$ ). Le test de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :

**Tableau19** : Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'évolution du poids après 28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes	
Témoins	A	
C3=100 µg/g	A	
C2=10 µg/g	A	
C4=1000 µg/g	A	
C1=1 µg/g	A	
C5=5000 µg/g		B

De même que pour j14, il ressort que les individus *A. trapezoides* exposés à des concentrations en plomb allant de 1µg/g à 1000µg/g se retrouvent dans le même groupe que les témoins (groupe A) avec les mêmes différences constatées quant à l'évolution du poids notamment par rapport aux individus exposés à 1000µg/g. Le lot des vers exposés à 5000µg/g se détache à nouveau dans un groupe à part (groupe B). Il est à noter que l'accroissement du poids pour les vers témoins par rapport au démarrage du test est conséquent des bonnes conditions de vie fournies (humidité + matière organique).

Au terme des résultats obtenus pour ce premier paramètre de croissance, il est évident qu'il existe une relation entre la baisse du poids et l'augmentation de la concentration en plomb dans le milieu. Cette baisse n'est notable qu'à partir du 7<sup>ème</sup> jour du test et est conséquente pour les concentrations les plus élevées. Ces résultats concordent avec les travaux de Neuhauser et al. (1985), qui a enregistré une perte de la moitié du poids initial chez l'espèce *Eisenia fetida* exposés aux concentrations les plus élevées en plomb. Ce phénomène est fréquent chez les vers de terre, et peut être attribué au fait que ces derniers ont tendance à diminuer leur métabolisme afin de baisser l'absorption et la fixation des éléments traces métalliques, ce qui engendre une baisse du poids corporel au cours du temps (Heidet, 1981).

### III-2-3 Variation des taux moyens de croissance chez *A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb et du temps

Au terme de la période d'exposition au toxique, et pour mieux visualiser les réponses d'*A. trapezoides* à la présence du plomb dans le milieu, nous avons jugé utile le calcul des taux de croissance pour chaque concentration et pour les différentes durées d'exposition. Ces derniers sont obtenus selon la formule suivante :

$$TC (\%) = \left[ \frac{Pt_n}{Pt_0} \right] \times 100$$

TC : taux de croissance en poids (%),

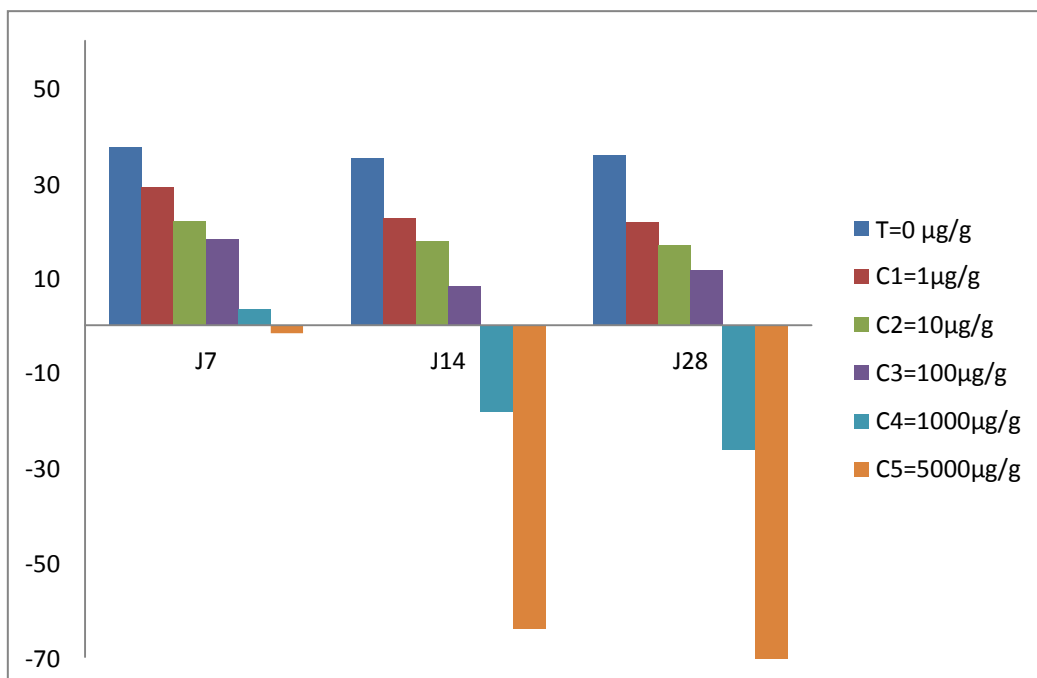
Pt<sub>n</sub> : poids moyen par concentration au temps t<sub>n</sub> (g),

Pt<sub>0</sub> est le poids moyen par concentration au temps t<sub>0</sub> (g).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 20 et représentés sous forme d'histogrammes dans la figure 21 :

**Tableau 20:** Variation des taux de croissance moyens chez d'A. trapezoides en fonction de la concentration en plomb (µg/g) et du temps (jours)

Concentrations \ Temps (jrs)	J7	J14	J28
Témoin=0 µg/g	37,58	35,21	35,81
C1=1 µg/g	29,18	22,51	21,77
C2=10 µg/g	21,84	17,70	16,81
C3=100 µg/g	18,11	8,26	11,51
C4=1000 µg/g	3,32	-18,23	-26,16
C5=5000 µg/g	-1,68	-63,91	-74,44



**Figure 21:** Variation des taux de croissance moyens chez d'A. trapezoides en fonction de la concentration en plomb (µg/g) et du temps (jours)

En se basant sur l'analyse du tableau 21 et de la figure 22 on relève que :

Globalement, les résultats du taux de croissance suivent ceux des poids et des taux de mortalité. En effet, ce paramètre de croissance est influencé non seulement par les concentrations en plomb dans le milieu mais aussi par la durée d'exposition.

Ainsi, après sept jour d'exposition au plomb, le taux de croissance maximal (37,58 %) a été enregistré chez les témoins alors que le faible (-1,68%) chez les vers exposés à la concentration la plus élevée (5000µg/g). La séquence des taux de croissance pour cette durée d'exposition est la suivante : **T>>C1>>C2>C3>>>C4>C5**.

Après 14 et 28 jours d'exposition au toxique, cette séquence décroissante est maintenue avec une baisse plus remarquable des taux de croissance pour les concentrations les plus élevées (1000 µg/g et 5000µg/g). Ainsi, le taux de croissance le plus élevé au quatorzième jour a été enregistré chez les témoins (35,21%) alors que le plus faible (-63,91%) chez les vers exposés à 5000µg/g. La séquence des taux de croissance au terme de cette durée d'exposition est la suivante : **T>C1>C2>>C3>>>C4>>>C5**.

Cette variabilité des taux de croissance en fonction des concentrations pour cette durée d'exposition au plomb, a été mise en évidence par l'analyse de la variance qui a révélé un effet concentration significatif ( $p < 0.001$ ). Le test de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :

**Tableau 21:** Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur les taux de croissance après 14 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes		
Témoins	A		
C1=1 µg/g	A		
C2=10 µg/g	A		
C3=100 µg/g	A	B	
C4=1000 µg/g		B	
C5=5000 µg/g			C

A j28, le maximum de croissance a été enregistré aussi chez les témoins (35,81%), et le minimum (-74,44%) chez les vers exposés à la même concentration que pour j14 (5000µg/g). La séquence des taux de croissance après 28 jours d'exposition au toxique est la suivante : **T>>C1>C2>C3>>>C4>>>C5**.

De même que pour j14, la variabilité des taux de croissance en fonction des concentrations est significative ( $p < 0.01$ ), et le test post-hoc de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :

**Tableau 22 :** Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur les taux de croissance après 28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes	
Témoins	A	
C1=1 µg/g	A	
C2=10 µg/g	A	
C3=100 µg/g	A	
C4=1000 µg/g	A	
C5=5000 µg/g		B

Ainsi et de même que pour les taux de mortalité et l'évolution du poids, il ressort que les individus *A. trapezoides* exposés à des concentrations faibles en plomb se comportent de la même manière que les témoins notamment après 14 jours d'exposition au toxique. Les témoins et les vers exposés aux concentrations C1, C2, C3, et C4 se détachent dans un groupe à part et enregistrent les taux les plus élevés. De tels résultats confirment que les bonnes conditions (terreau, humidité, absence toxique) assurent un développement maximum des vers avec un taux de croissance plutôt positif et constant. Ces résultats concordent avec ceux de Heidet (1981) qui a démontré qu'un équilibre peut s'établir entre les vers et le milieu dans le cas où ce dernier est contaminé avec des concentrations relativement faibles d'éléments traces métalliques. Cet équilibre est à l'origine de deux phénomènes propres aux vers de terre : l'absorption et l'élimination du toxique.

Contrairement à ces derniers, les taux de croissance faibles voir négatifs enregistrés chez les vers exposés aux fortes concentrations en plomb ont fait que ces derniers se détachent dans des groupes à part (groupes B et C) mettant encore en évidence la relation dose-effet. Contrairement à la concentration du toxique que ça soit à j14 ou j28, l'effet de la prolongation de la durée d'exposition sur les taux de croissance n'est pas significatif ( $p > 0.05$ ).



### III-2-4 Variation de l'inhibition de la croissance chez *A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb et du temps

En plus des taux de croissance, et toujours dans le but de mieux visualiser les réponses d'*A. trapezoides* à la présence du plomb dans le milieu, nous avons calculé les facteurs d'inhibition de la croissance pour chaque concentration et pour les différentes durées d'exposition. Ces derniers sont obtenus selon la formule suivante :

$$CIC(\%) = \left| \frac{Pt_n - Pc_n}{Pt_n} \right| \times 100$$

Avec :

CIC : coefficient d'inhibition de la croissance en poids (%),

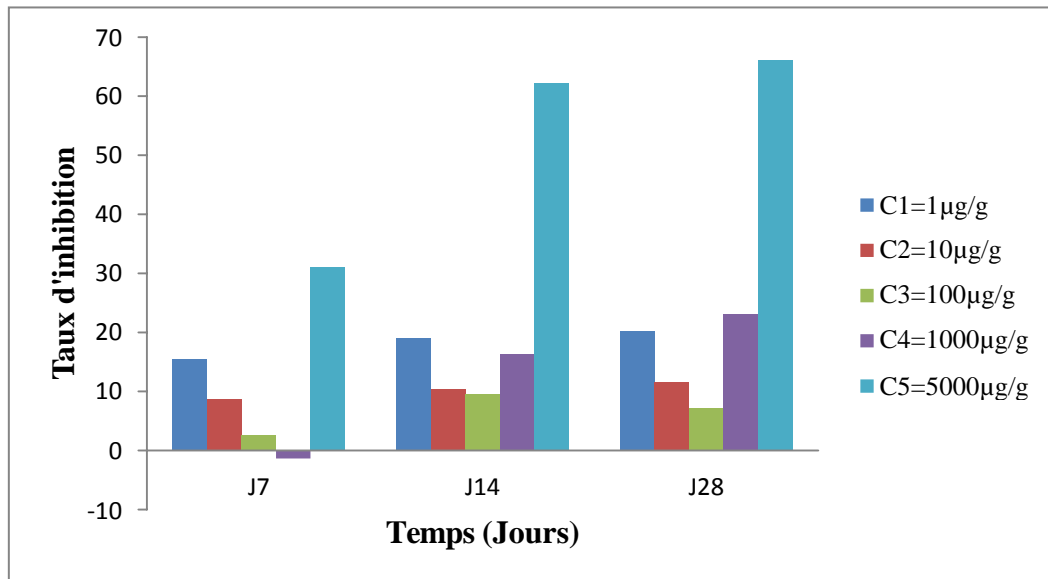
Pt<sub>n</sub> : poids moyen chez les témoins au temps t<sub>n</sub> (g),

Pc<sub>0</sub> est le poids moyen par concentration au temps t<sub>n</sub> (g).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 24 et représentés sous forme d'histogrammes dans la figure 23 :

**Tableau 23:** Variation de l'inhibition de la croissance chez d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb (ug/kg) et du temps (jours).

Temps (jrs) \ Concentrations	J7	J14	J28
C1=1 µg/g	15.56	19,12	20,20
C2=10 µg/g	8.75	10,36	11,68
C3=100 µg/g	2.53	9,56	7,13
C4=1000 µg/g	-1.36	16,33	23,17
C5=5000 µg/g	31.13	62,15	66,14



**Figure 22:** Variation de l'inhibition de la croissance chez d'*A. trapezoides* en fonction de la concentration en plomb (mg/kg) et du temps (jours)

Globalement, durant ce test d'écotoxicité sur *A. trapezoides*, nous avons enregistré d'importantes inhibitions de la croissance notamment chez les individus exposés aux concentrations les plus élevées en plomb. Cette inhibition s'est accentuée avec le temps.

Ainsi, après sept jour d'exposition au toxique et comme pour l'ensemble des paramètres de croissance déjà discuté, le maximum d'inhibition de la croissance (31.13%) a été enregistré chez les individus exposés à 5000µg/g de plomb alors que le plus faible (2.53%) a été enregistré pour les individus ayant été en contact avec un substrat contenant 100µg/g de plomb. Pour l'ensemble des concentrations testées, les valeurs relevées suivent cette séquence décroissante : C5>>C1>>C2>>>C3.

Pour les individus exposés à 1000µg/g de plomb, nous avons plutôt enregistré une stimulation de la croissance. Un tel résultat n'est pas surprenant, il s'agit d'un phénomène d'hormèse souvent observé au début des tests d'écotoxicité lorsque l'organisme test se trouve en contact avec une substance toxique à cette concentration (OCDE, 2011).

Au quatorzième jour (j14), nous avons enregistré une valeur maximale de l'ordre de 62,15% pour la concentration de 5000µg/g, et une valeur minimale de 9,56% pour la concentration 100µg/g. En effet les valeurs se succèdent suivant cette séquence décroissante : C5>>>C1>C4>C2>C3.

Enfin, au vingt-huitième jour (j28) et de même que pour j14, nous avons enregistré une valeur maximale de 66,14% pour la concentration 5000µg/g, et une valeur minimale de

7,13% pour la concentration de 100µg/g. Ce qui ressort aussi, c'est que la toxicité s'est accentuée pour les individus exposés à 1000µg/g de plomb. Les valeurs des facteurs d'inhibition de la croissance se succèdent selon la séquence décroissante suivante : C5>>>C4>C1>C2>C3.

Cette fluctuation des facteurs d'inhibition de la croissance en fonction des concentrations est significative ( $p < 0.05$ ), et le test post-hoc de Newman-Keuls a fait ressortir les groupes homogènes suivants :

**Tableau 24:** Groupes homogènes selon le test de Newman-Keuls-Effet concentration sur l'inhibition de croissance après 14-28 jours d'exposition ( $p < 0.05$ ).

Concentrations	Groupes homogènes	
C3=100 µg/g	A	
C2=10 µg/g	A	
C4=1000 µg/g	A	
C1=1 µg/g	A	
C5=5000 µg/g		B

Contrairement à la concentration, l'effet de la prolongation de la durée d'exposition sur les taux de croissance n'est pas significatif ( $p > 0.05$ ).

L'ensemble des résultats mettent en évidence l'existence d'une relation entre la concentration du plomb et l'inhibition de la croissance des vers de terre. En effet à chaque fois que la concentration du plomb est importante, l'inhibition de la croissance des vers de terre s'accroît. Ces résultats s'accordent avec les travaux de Spurgeon et Hopkin (1996) et (1999) qui ont conclu que l'augmentation de la teneur en éléments traces métalliques inhibe la croissance, le développement sexuel et la production de cocons du *Lumbricus rubellus*.

### III-2-5 Signes comportementaux d'écotoxicité chez *A. trapezoides* durant le test

Ajouter aux différentes altérations que nous avons pu quantifier précédemment, les vers exposés aux fortes concentrations en plomb (1000 µg/g et 5000µg/g pour notre étude) ont montré des signes d'irritation d'ordre comportemental, non quantifiables. Effectivement dès la première semaine, lors des observations et pesée des vers, nous avons remarqué que les ces derniers s'enroulent en boule dans le sol, et dès qu'on les manipule se déplacent en mouvements rapides, nous avons aussi remarqué qu'ils sécrétaient un liquide sous forme de mucus jaunâtre.

Selon Beeby (1991), ce mucus est un mélange hétérogène de coelomocytes, protéines, sels et fluide coelomique, et dépend de la concentration des éléments traces métalliques. Il représente une barrière de protection pour l'épiderme contre les dommages en constituant des chélation de ces éléments (Diogene et al. 1997 ; Heredia et al. 2008 ; Muangphra et Goorneratne, 2011 ; Rodriguez et al. 2013). Beeby (1991), Stürzenbaum et al. (1998), Morgan et al. (2004) et Homa et al. (2005) ont estimé que la sécrétion du mucus est une détoxification de l'organisme et une réponse d'adaptation dans le milieu très contaminé.

### **III-2-6 Validation du test d'écotoxicité aiguë sur d'*A. trapezoides***

Les paramètres permettant de valider les résultats de ce test d'écotoxicité aiguë ont été suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme (OECD, 1984). Les critères de validité pour un essai permettent de s'assurer de la conformité des modes opératoires et de la sensibilité des organismes par rapport aux prescriptions des protocoles. Ces critères sont basés sur la réponse des organismes dans les témoins. Les résultats de cet essai sont validés si les conditions ci-dessous sont simultanément satisfaites :

- Le pourcentage de mortalité observé chez les témoins est inférieur ou égal à 10%,
- Les résultats obtenus avec le toxique de référence par chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ) doivent se situer à l'intérieur de limites bien déterminées. Ces dernières sont définies pour *Eisenia andrei* et *Eisenia fetida*. Par contre, ce critère n'a pas été vérifié puisque l'espèce faisant l'objet de notre étude est *A. trapezoides*.
- Les conditions d'essai (température, humidité par pulvérisateur chaque 2 jours , poids des individus) au cours de l'essai sont respectées.

Dans notre cas, les critères de validité ont tous été respectés (exception faite pour la substance de référence). En effet, lors des dénombrements, nous n'avons relevés aucune mortalité chez les témoins aussi bien à j7 qu'à j14 et j28. De tels résultats confirment que le test s'est déroulé dans de bonnes conditions et conformément aux recommandations des différentes normes internationales. Notons aussi que les poids des individus sélectionnés pour le lancement du test étaient homogènes par lot et par concentration, et que les conditions de déroulement du test (températures et humidité) ont été respectées.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Depuis plusieurs d'années, les phénomènes de pollution des sols ont pris une importance de plus en plus grande. Dans ce compartiment, les pollutions sont responsables de perturbations considérables au niveau des communautés vivantes notamment la faune. Cette dernière, joue un rôle fondamental dans son fonctionnement et peut nous renseigner sur son état de santé. En effet, les communautés biologiques du sol sont en mesure de traduire l'ensemble des stress environnementaux de leur milieu, et apparaissent donc comme de bons indicateurs.

*Aporrectodea trapezoides*, considéré comme représentatif de la faune du sol et des vers de terre en particulier notamment dans le bassin versant Kebir Rhumel, apparait comme un indicateur fiable pour prévenir et caractériser la contamination plombifère des sols (El Hadeff El Okki, 2016). En effet, cette espèce est caractérisée par sa grande longévité, et sa disponibilité en masse presque toute l'année, et son contact permanent avec le sol par le biais de voies dermales et intestinale (Goven et al. 2005).

C'est dans ce contexte que ce travail a été réalisé. L'objectif visé étant d'évaluer en conditions contrôlées (test d'écotoxicité aiguë), les effets de concentrations croissantes en plomb sur le taxon lombricien *Aporrectodea trapezoides*, un taxon mis en valeur pour son importance dans la biosurveillance de la contamination plombifère des sols. Outre les effets du plomb sur ces vers qui constituent le cœur de ce travail, plusieurs paramètres physico-chimiques du sol naturel destiné au test ont été déterminés.

A l'issue de ce travail, les principales conclusions peuvent être résumées ainsi :

- ✓ Les résultats de la caractérisation chimique révèlent que le sol prélevé est légèrement alcalin, non salin, moyennement calcaire, faiblement riche en azote et moyennement riche en matière organique. Il semble ainsi présenter des caractéristiques physico-chimiques adéquates pour un test d'écotoxicité.
- ✓ Les critères permettant de valider les résultats du test d'écotoxicité aiguë sur *Aporrectodea trapezoides* ont été vérifiés et respectés (exception faite pour la substance de référence). En effet, lors des dénombrements, nous n'avons relevés aucune mortalité chez les témoins et ceci tout au long de la durée du test. Aussi, les poids des individus sélectionnés pour le lancement du test étaient homogènes par lot et par concentration, et les conditions de déroulement du test (températures et humidité) ont été respectées.

- ✓ L'utilisation d'*Aporrectodea trapezoides* comme bioindicateur de la contamination plombique du sol en condition contrôlées a révélé des perturbations considérables quant au développement de cette espèce. En effet, des mortalités et des baisses de la croissance en biomasse ont été enregistrées chez les individus tests. Ces baisses sont d'autant plus importantes que la concentration en plomb dans le sol et la durée d'exposition sont élevées.
  
- ✓ Les taux de mortalité des vers exposés aux différentes concentrations de plomb montrent que ce paramètre est dose-dépendant. La mortalité des vers provoque une diminution de leurs densités, il en résulte un sol compact, et mal aéré. Ceci engendre alors une diminution de sa production biologique que ce soit pour la pédo-faune ou la végétation qui aura du mal à encre ses racines dans ce sol.  
Les résultats du taux de mortalité pour les vers juvéniles collectés sont nettement supérieurs à ceux obtenus par El Hadeff El Okki (2016) pour le même test d'écotoxicité sur des individus d'*A. trapezoides* adultes issus d'un élevage en conditions contrôlées.  
Le taux de mortalité enregistré lors de ce test évoque le risque de disparition de cette espèce et de déséquilibre dans la chaîne trophique dans le cas d'exposition à de grandes concentrations.
  
- ✓ Le taux de croissance et celui d'inhibition de la croissance des vers révèle le pouvoir inhibant du plomb et son effet néfaste sur l'équilibre du cycle de vie des vers. Le poids moyen calculé à chaque observation, montre une stagnation et un ralentissement du métabolisme, ce qui indique la forte toxicité du plomb et ses conséquences sur le rendement. Le ralentissement du métabolisme des travailleurs de la terre peut avoir un impact négatif sur la dégradation de la matière organique, et donc sur la stabilité du sol, et un sol pauvre en matière organique est un sol infertile.
  
- ✓ La bioindication du taxon *A. trapezoides* est très importante pour l'évaluation de la qualité des sols, du fait d'appartenir au groupe des endogés, l'espèce acquiert un contact permanent avec le sol, et reflète donc les altérations subies par le sol.  
Les altérations des vers par le plomb révèle sa capacité à pénétrer dans l'organisme des vers de terre par contact cutané et digestif, ce qui nous pousse à

## *Conclusion et perspectives*

imaginer les conséquences catastrophiques d'un passage dans les espèces vivants au contact d'un sol contaminé au plomb, ou/et celles prédatrices de ces vers.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que la présence du plomb dans les sols, même à faible concentration, présente un risque inquiétant qu'il faudra prendre en compte afin de mener à bien et améliorer les procédures d'évaluation de risque écologique. En effet, l'exposition au plomb a révélé des altérations considérables résultant de sa toxicité létale, et de son effet inhibiteur de la croissance de l'espèce *Aporrectodea trapezoides*.

Enfin, comme perspectives et d'un point de vue fondamental, il serait intéressant :

- ✓ De confirmer les résultats de ce test préliminaire et de lancer un test final avec un matériel biologique issu d'élevage afin de mieux cerner les CL50 et CE50.
- ✓ De doser le plomb absorbé par *Aporrectodea trapezoides* mis en contact avec des substrats contaminés par différentes concentrations en plomb.
- ✓ De comparer les effets du plomb sur l'espèce *Aporrectodea trapezoides* aux effets d'autres éléments traces métalliques (Cd, Zn, Cu, etc.).



# Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abdul Rida AMM. 1992.** Biosurveillance de la contamination du sol: Apport de l'étude des lombriciens à l'évaluation des risques liés aux éléments traces. Thèse de Doctorat, INRA., Montpellier (France), 233 p.
- **Abreu C.A., Abreu M.F., Andrade J.C. 1998.** Distribution of lead in the soil profil evaluated by DTPA and Mehlich-3 solution. *Bragantia* 57, 185-882.
- **Adriano DC. 2001.** Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals Springer-Verlag, NY. (USA). 867 p. DOI: 10.1007/978-0-387-21510-5
- **AERMC 2002.** Pollution Toxique et Ecotoxicologie - Notion de base. AERMC, 83p. Guide Technique No. 7
- **AFNOR 1999.** Qualité des sols-Méthodes chimiques-Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) et des cations extractibles. NFX31-130. Paris (France).
- **Alloway BJ. 2013.** Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils. *In* Alloway BJ. (ed.): Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 11-50. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Alloway J.B. 1995.** Soil Pollution and land contamination. *In* pollution: Causes, Effects and Control, Eds. R. M. Harrison. Cambridge. The Royal Society of Chemistry. 318 p.
- **Assadian N., Fenn LB. 2001.** Rhizosphere Chemical Changes Enhance Heavy Metal Absorption by Plants Growing in Calcareous Soils. *In* Gobran GR., Wenzel WW. Lombi E. (eds.): Trace Elements in the Rhizosphere. CRC Press, NY. (USA). pp. 43-60. ISBN: 0-8493-1535-2
- **ASTM. 1992.** Standard guide for Conducting 10-Day Static Sediment Toxicity Tests with Marine and Estuarine Amphipods. E-1367-92. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pa.
- **Audry S. 2003.** Bilan géochimique du transport des éléments traces métalliques dans le système fluvial anthropisé Lot-Garonne-Gironde, THESE. L'UNIVERSITE BORDEAUX I Ecole Doctorale Sciences du Vivant, Géosciences, Sciences de l'Environnement. 379p
- **Bachelier G. 1978.** La faune des Sols, son Ecologie et son Action. ORSTOM., Paris, 391 p. ISBN: 2709905302.
- **Baize D. 1988.** Guide des Analyses Courantes en Pédologie. INRA. (France), 172p.

ISBN: 2-7380- 0075-4.

- **Baize D. 1997.** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris, p 408.
- **Bazri KED. 2015.** Etude de la biodiversité des lombriciens et leurs relations avec les propriétés du sol dans différents étages bioclimatiques, dans l'est algérien. 143p.
- **Becker Gary S., Kevin M. Murphy and Robert Tamura. 1990.** Human capital, fertility, and economic growth. p 12-37.
- **Beeby A. 1991.** Toxic Metal Uptake and Essential Metal Regulation *in* Terrestrial Invertebrates. In Newman MC. McIntoch AW. (eds.): Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan (USA), pp. 65-89. ISBN: 0-87371-411-3.
- **Bigham J.M. et Nordstrom D.K. 2000.** Iron and Aluminum Hydroxysulfates from Acid Sulfate Waters. In: C.N. Alpers, J.L. Jambor et D.K. Norstrom (Eds.), Sulfate Minerals-Crystallography, Geochemistry and Environmental Significance. Reviews in Mineralogy and Geochemistry. Mineralogical Society of America, Washington, D.C., pp. 351-404.
- **Blakemore R.J. 2008.** Cosmopolitan Earthworms – an Eco-Taxonomic Guide to the Species (3rd Ed.). VermEcology, Yokohama (Japan), 757 p. CD-ROM.
- **Bliefert C. et Perraud R. 2001.** Chimie de l'Environnement : air, eau, sols, déchets. Traduction et adaptation française : De Boeck Universités. a. Paris, France et Bruxelles, Belgique. (Originally published in the German language by Wiley-VCH Verlag GmbH, 1997, 2<sup>ème</sup> Eds). 496 p.
- **Bohlen PJ., Parmelee RW., McCartney DA., Edwards CA. 1997.** Earthworm effects on carbon and nitrogen dynamics of surface litter in corn agroecosystems. Ecological Applications;7:1341-1349. DOI: 10.1890/1051 0761(1997)007.
- **Bouché MB. 1984.** Ecotoxicologie des lombriciens. II. Surveillance de la contamination des milieux. Acta Oecologica/Oecologia 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.
- **Bourrelier PH. and Berthelin J. 1998.** Contamination des Sols par les Eléments Traces : les Risques et leur Gestion. Ed. Tec & Doc., Paris. 98 p. ISBN: 2- 7430-0291-3.
- **Brigatti M.F., Lugli C. and Poppi L. 2000.** Kinetics of heavy metal removal and

recovery in sepiolite. Applied clay Science, vol 16, pp. 45-57.

- **Brown G.G., Barois I. and Lavelle P. 2000.** Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. Eur J Soil Biol, 36, 177-198.
- **Calow P. 1993.** Handbook of ecotoxicology-Chapitre 1: General principles and overview. Handbook of ecotoxicology - Volume 1, 1-5. Imprimé par Blackwell Scientific, Cambridge, MA, USA
- **Carr D.J.J., De Costa B.R., Kim C.H., Jacobson A.E., Guarcello V., Rice K.C., Blalock J.E. 1989.** Opioid receptors on cells of the immune system: evidence for delta-and kappa-classes. J Endocrinol 122:161-168.
- **Carr R.S., Chapman DC., Howard C.L., Biedenbach J. 1998.** Sediment Quality Triad assessment survey in Galvestone Bay, Texas system. Ecotoxicology 5:1-25.
- **Carrillo-González R. and González-Chávez M. 2006.** Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastings. Environmental Pollution 144, 84-92.
- **Cazaubon A. 1991.** Problems and objectives of sampling river algae for monitoring. In: Diatom m Whitton, B.A., Rott, E. et Friedrich, G. (eds.), Use of algae for monitoring rivers. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, 17-20
- **Centre National de la Recherche Scientifique-CNRS. 2005.** Colloque en agroenvironnement « des outils à notre échelle », 23 février 2005, « Les ouvriers du sol et les pratiques agricoles de conservation », Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.
- **Chapman PM. Morgan J.O. 1983.** Sediment bioassays with oyster larvae. Bull environ Contam Toxicol 31:438-444.
- **Charles D.F. and Smol J.P. 1994.** Long-term chemical changes in lakes: Quantitative inferences using biotic remains in the sediment record. In: Baker, L. (Ed.). Environmental chemistry of lakes and reservoirs, Advances in Chemistry Series 237. American Chemical Society, Washington D.C. 627p.
- **Chiffolleau J.F., Auger E., Chartier P., Michel I., Truquet A., Ficht J.L., et Romana L.A. 2001.** Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary (France). Estuaries 24(6B): 1029-1040.
- **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. DOI: 10.1071/A98021.

- **Clemens S. 2001.** Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212: 475-486.
- **Clevenger T.E. 1990.** Use of sequential extraction to evaluate the metals in mining wastes. *Water, Air and Soil Pollution*, No.50, pp. 241-254.
- **Dahmani-Muller H.F. et Balabane. M. 2001.** Metal extraction by *Arabidopsis halleri* grown on an unpolluted soil amended with various metal-bearing solids: a pot experiment. *Environmental Pollution*. 114(1): 77-84.
- **Darwin C. 1882.** On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray, London. 230p.
- **Demuynck S., Grumiaux F., Mottier V., Schikorski D., Lemièrre S. and Leprêtre A., 2006.** « Metallothionein response following cadmium exposure in the oligochaete *Eisenia fetida* », *Comparative Biochemistry and Physiology part C*, 144(1), 34-46.
- **Denys S., Tack K., Caboche J., et Delalain P.. 2009.** Bioaccessibility, solid phase distribution, and speciation of Sb in soils and in digestive fluids. *Chemosphere*. 74(5): 711-716.
- **Deschamps T., Benzaazoua M., Bussière B., Belem T., et Mbonimpa, M. 2006.** « Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels », *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement [En ligne]*, Volume 7 Numéro 2 | septembre 2006, mis en ligne le 08 septembre 2006, consulté le 02 juin 2017. URL : <http://vertigo.revues.org/2171> ; DOI : 10.4000/vertigo.2171
- **Diogene J., Dufour M., Poirier GG., Nadeau D. 1997.** Extrusion of earthworm coelomocytes: comparison of the cell populations recovered from the species *Lumbricus terrestris*, *Eisenia fetida* and *Octolasion tyrtaeum*. *Laboratory Animals*, 31: 326–336. DOI: 10.1258/002367797780596068
- **Echaubard M. 1995.** Les animaux comme indicateurs biologiques de pollution. *In Proceedings of Marqueurs biologiques de pollution*, Chinon (France). p. 335–358.
- **Edwards C.A. 2004.** Earthworm ecology. CRC Press. 5p.
- **El Hadeff El Okki M. 2016.** Etude des relations lumbricidae-éléments traces métalliques en conditions naturelles et contrôlées. Cas de l'espèce aporetodea trapezoides. 123p.
- **Environnement Canada. 2004.** Méthode d'essai biologique: Essais pour déterminer la toxicité de sols contaminés pour les vers de terre *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, ou *Lumbricus terrestris*. Environmental Protection Services, Ottawa, ON, Report EPS 1/RM/43.

- **Fagot J. 1993.** Contribution of botany in the strategy of reclamation in the sites contaminated by heavy metals. 195 p.
- **Forbes V.E. and Forbes T.L. 1997.** Ecotoxicologie. Théorie et applications. INRA, Paris, France. Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B., 2006. Principles of ecotoxicology, Third ed. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA. 216p.
- **Forbes VE. and Calow P. 1999.** Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environ Toxicol Chem*; 18 : 1544-56.
- **Förstner U. 1995.** Non-linear release of metals from aquatic sediments; *In Biogeodynamics of pollutants in soils and sediments: Risk Assessment of delayed and non-linear responses*; Eds. Salomons W. and Stigliani W.M. Berlin, Allemagne Springer, pp. 247-307.
- **Förstner U. et Wittmann G.T.W. 1981.** Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 486 p.
- **Förstner V. et Wittmann G.T.W. 1979.** Metal pollution in aquatic environment. Springer Verlag, 468p.
- **Galvez-Cloutier R. 1995.** Study of heavy metal accumulation mechanisms in the Lachine canal sediments. PhD. Thesis. McGill University, Montréal (Canada), 195 p.
- **Garrett R.G. 2000.** Natural Sources of Metals to the Environment. *Human and Ecological Risk Assessment* 2000; 19: 945-963. Article site du Ministère de l'Energie et des Mines - Direction Générale des Mines. 2000 URL : <http://www.energy.gov.dz/> lien direct : <http://www.energy.gov.dz/francais/index.php?page=potentialites>
- **Gerritse R.G., Vriesema R., Dalenberg J.W. and De Raos HP. 1982.** Effect of Sewage Sludge on Trace Element Mobility in Soils. *Journal of Environmental Quality*, 11, p. 359-364.
- **Girard JF., Legchenko A. and Boucher M. 2005.** Stability of MRS signal and estimation of data quality. *Near Surface Geophysics*, 3: 187–194. DOI: 10.3997/1873-0604.2005013.
- **Girard JF., Legchenko A. and Boucher M. 2005.** Stability of MRS signal and estimation of data quality. *Near Surface Geophysics*, 3: 187–194. DOI: 10.3997/1873-0604.2005013.
- **Gish CD. and Christensen RE. 1973.** Cadmium, nickel, lead and zinc in earthworms from roadside soil. *Environmental Science & Technology*, 7: 1060-1062. DOI: 10.1021/es60083a011
- **Gonnelli C and Renella G. 2013.** Chromium and Nickel. *In Alloway BJ. (ed.):*

Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 465–493. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7.

- **Goussen A. 2013.** Etude des effets multigénérationnels d'une exposition chronique aux rayonnements ionisants chez un organisme modèle : le nématode *Caenorhabditis elegans*. 178p.
- **Goven AJ., Venables BJ. and Fitzpatrick LC. 2005.** Earthworms as Ecosentinels for Chemical-Induced Immunotoxicity. In Tryphonas H., Fournier M., Blakley BR., Smits J., Brousseau P. (eds.): Investigative Immunotoxicology. CRC Press, NY. (USA). pp. 91–102. ISBN: 0-415-30854-2.
- **Hall G.E.M., Vaive JE. 1996** - Selective leaches revisited, with emphasis On the amorphous Fe oxyhydroxide phase extraction. *J. Geochem. Explo.* 56: 59-78.
- **Han FX. et Banin A. 1995** - Seleclive sequential dissolution techniques for trace metals in arid-zone soils: the carbonate dissolution step. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26 (3 & 4): p553-576.
- **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.
- **Heidet JC. 1981.** Bioaccumulation et transfert de contaminants par les lombriciens. Mémoire de fin d'étude, ENITA., Dijon (France), 75 p.
- **Hellawell, J.M. 1978.** Biological surveillance of rivers : a biological monitoring handbook-Water Research Centre, Hertz, 332.
- **Heredia RB., Dueñas S., Castillo L., Ventura JJ., Silva Briano M., Posadas del Rio F. and Rodríguez M.G. 2008.** Autofluorescence as a tool to study mucus secretion in *Eisenia foetida*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 151: 407–414. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.01.726.
- **Hernández-Ochoa I., García-Vargas G., López-Carrillo L., Rubio-Andrade M., Morán Martínez J., Cebrián M.E. and Quintanilla-Vega B. 2005.** Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reproductive Toxicology.* 20(2): 221-228.
- **Hobbelen PHF., Koolhaas JE. and Van Gestel CAM. 2006.** Effects of heavy metals on the litter consumption by the earthworm *Lumbricus rubellus* in field soils. *Pedobiologia,* 50: 51–60. DOI: 10.1016/j.pedobi.2005.10.004.
- **Homa J., Olchawa E., Stürzenbaum SR., Morgan AJ., Plytycz B. 2005.** Early-phase immunodetection of metallothionein and heat shock proteins in extruded

earthworm coelomocytes after dermal exposure to metal ions. *Environmental Pollution*, 135: 275–280. DOI: 10.1016/j.envpol.2004.10.019.

- **Hopkin SP. 1989.** *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Science, Barking (UK), 366 p. ISBN: 1-85166-312-6.
- **Hopkins W. E. and Hopkins S.A. 1999.** « The Ethics of Downsizing : Perceptions of Rights and Responsibilities », *Journal of Business Ethics*, Vol. 18, p. 145-156.
- **Houda PS. 2010.** *Trace Elements in Soils*. John Wiley and Sons, Ltd., Wiltshire (UK), 596 p. ISBN-13: 978-1-405-16037-7.
- **Huynh TMD. 2009.** *Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ver de terre/microflore tellurique* Thèse de Doctorat, Université Paris-Est (France). 151 p.
- **INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques). 2010.** *Fiches de données toxicologiques et environnementales. Arsenic et ses dérivés inorganiques*. 2010, 124p.
- **Ireland MP. 1983.** Heavy metal uptake and tissue distribution in earthworms. In J.E. Satchell (ed.): *Earthworm ecology from Darwin to vermiculture*. Chapman & Hall, London (UK), pp. 247–265. DOI: 10.1007/978-94-009-5965-1\_21
- **ISO. 1994.** Soil quality – Determination of the specific electrical conductivity. N° 11265. ISO. Geneva (Switzerland), 4 p.
- **ISO. 1995.** Soil quality – Determination of total nitrogen – Modified Kjeldahl method. N° 11261. ISO. Geneva (Switzerland), 4 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.
- **ISO. 2012.** Soil quality – International Organization for Standardization (1998). Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). N°11268-2, 4p.
- **Jambor J.L., Nordstrom D.K. et Alpers C.N. 2000.** Metal-sulfate salts from sulfide mineral oxidation. In: C.N. Alpers, J.L. Jambor et D.K. Nordstrom (Eds.), *Sulfate Minerals - Crystallography, Geochemistry and Environmental Significance*. Reviews in Mineralogy and Geochemistry. Mineralogical Society of America, Washington, D. C., pp. 303-350.
- **James S.W. 1991.** Soil nitrogen, phosphorus, and organic matter processing by earthworms in tallgrass prairie. *Ecology*, 72, 2101–2109.
- **Jarup L. 2003.** Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull*. 68(1): 167-182.



- **John J. 1998.** Evaluation of attached diatoms as a tool for riverine bio-assessment of water quality. - LWRRDC, 175p.
- **John J. 2000.** Diatom prediction and classification system for urban streams. - LWRRDC, 156.
- **Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M. et Mocquot B. 1995.** Les micropolluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines. Eds . ADEME, Paris, 209p.
- **Kabata-Pendias A. 2001.** Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., pp 413.
- **Kabata-Pendias A. 2011.** Trace Elements in Soils and Plants, 4th Ed., CRC press, Boca Raton, FL.(USA), 505 p. ISBN-13: 978-1-4200-9370-4
- **Kabata-Pendias A. et Pendias H. 1999.** Biogeochemistry of Trace Elements, 2nd ed., Wyd. Nauk PWN, Warsaw, 400p.
- **Langdon CJ., Hodson ME., Arnold RE., Black S. 2005.** Survival, Pb-uptake and behaviour of three species of earthworm in Pb treated soils determined using an OECD-style toxicity test and a soil avoidance test. *Environmental Pollution*, 138: 368–375. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.03.002
- **Laurent Lemee, 2004** Caractérisation structurale de la matière organique complexe des sols et des sédiments - Dynamique et réactivité. Autre. Université de Poitiers - 119p
- **Lavelle P. 1981,** Diversity of Soil Fauna and Ecosystem Function. Laboratoire d'Ecologie des Sois Tropicaux, Universite Pans VVORSTOM, 32 Avenue Henri Varagnat, 93143 BoMy Cedex, France. 16p.
- **Lavelle P., Dangerfield M., Fragoso C., Eschenbrenner V., Lopez-Hemandez D., Pashanasi B. and Bmssaard L. 1994.** The relationship between soil macrofauna and tropical soil fertility. In *The Biological Management of Tropical Soil* (eds. M.J. Swift and P. Woormer), John Wiley-Sayce, New York, pp. 137- 169
- **Lavelle, P., Lattaud, C., Trigo, D. & Barois, I. (1995)** Mutualism and biodiversity in soils. *Plant and Soil*, 170, 23-33.
- **Lee K. 1985.** Earthworms : their Ecology and Relationships with Soils and Land Use. Academic press, Sydney (Australia), 411 p. ISBN: 0-12-440860-5
- **Long ER., Wilson C.J. 1997** - On the identification of toxic hot spots using measures of the sediment quality triad. *Environ Toxicol Chem* 34(6):373-374.

- **Ma WC., Edelman T., van Beersum, Jans T. 1983.** Uptake of cadmium, zinc, lead and copper by earthworms near a zinc-smelting complex: influence of soil pH and organic matter. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 30: 424–427. DOI: 10.1007/BF01610155
- **MA. 1010 – PAF1.0. 2003.** Méthode d'analyse : Détermination de la matière organique par incinération: Méthode de perte au feu (PAF). 8p.
- **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.
- **McCulley F. and Gilman I. 1991.** Literature review: geochemical fate and transport of anthropogenic lead released to the soil environment. Prepared for the Lead Industries Association, Washington, D.C. 39 p.
- **Merian E., Anke M., Ihnat M., Stoeppler M. 2004.** editors. Elements and their compounds in the environment. pp. 1157–1164.
- **Mertens J., Smolders E. 2013.** Zinc. In Alloway BJ. (ed.): *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 465–493. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Miller C.A. 2000.** "The Dynamics of Framing Environmental Values and Policy: Four Models of Societal Processes." *Environmental Values* 9, no. 221-33. doi:10.3197/096327100129342047
- **Morel J.L., 1998.** Dynamique des éléments traces dans les sols : mobilité et transfert vers les eaux souterraines et les plantes. Dans : *Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion*. Académie des sciences, Rapport n°42, 67-126
- **Morel J.L. 1997.** Assessment of phytoavailability of trace elements in soils. *Analisis Magazine* 25(9-10): M70-M72. pp 3-6.
- **Morgan A.J., Morgan J.E., Turner M., Winters C., Yarwood A. 1993.** Heavy metal relationships of earthworms. In Dallinger R., Rainbow P.S. (eds.): *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. (USA), pp. 333–358. ISBN: 0-87371-734-1
- **Morgan A.J., Stürzenbaum S.R., Winters C., Grime G.W., Aziz N.A., Kille P. 2004.** Differential metallothionein expression in earthworm (*Lumbricus rubellus*) tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 11–19. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.022

- **Morgan JE., Morgan AJ. 1988.** Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils. *Environmental Pollution*, 54: 123–138. DOI: 10.1016/0269-7491(88) 90142-X
- **Moriarty F. 1983.** *Ecotoxicology: The Study of Pollutants in Ecosystems*. Ed.: Academic Press, Londres, UK.
- **Moriarty F. 1990.** *Ecotoxicology. The study of pollutants in Ecosystems*. Academic Press, London, 289p.
- **Morin A., Houseman H. 2014.** Guide sur Annelida de l'Université d'Ottawa - Bio Les animaux: Structures et fonctions© 44p.
- **Morlot M. 1996.** Aspects analytiques du plomb dans l'environnement, Ed Lavoisier TEC&DOC.
- **Muangphra P., Gooneratne R. 2011.** Comparative genotoxicity of cadmium and lead in earthworm coelomocytes. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011: 1-7. DOI: 10.1155/2011/218929
- **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.
- **Nahmani J., Hodson ME., Black S. 2007.** A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, 145: 402–424. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.04.009
- **Neuhauser EF., Loehr RC., Malecki MR. 1985.** Contact and artificial soil tests using earthworms to evaluate the impact of wastes in soils. In Petros JK., Lacy WJ., Conway RA. (eds.): *Hazardous and industrial solid waste testing: Fourth Symposium*. ASTM STP886-EB. American Society for testing and materials. Philadelphia (USA). pp 192–203. DOI: 10.1520/STP36372S
- **NF ISO 10693. 1995.** Qualité du sol - Détermination de la teneur en carbonate - Méthode volumétrique. AFNOR Normalisation. 8 p.
- **NF X 31-103. 1988.** Détermination du pH dans l'eau. 5 p.
- **OCDE. 2004.** Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques 222: Essai de reproduction chez le lombric (*Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*). 2p.
- **OECD. 2011.** Organisation for Economic Cooperation and Development. Paris-Detailed Review Paper (DRP) on Molluscs Life-Cycle Toxicity Testing.OECD Series on Testing and Assessment. No. 121, p. 182.

- **OECD. 1984.** Organization for Economical and Cooperative Development-Guideline for Testing of Chemicals, n° 207: Earthworm Acute Toxicity. OECD., Paris (France). 9 p. DOI: 10.1787/9789264070042 –en
- **OECD. 2004.** Guidelines for the Testing of Chemicals : Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*). OECD., Paris (France). DOI: 10.1787/9789264070325-en
- **OECD. 2003.** Environmental Indicators, Development , Measurement and Use, Reference Paper, OECD, Paris (France). DOI: 10.1787/978926307002-en
- **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.
- **Oorts K. 2013.** Copper. In Alloway BJ. (ed.): Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 465–493. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Pernet-Coudrier B. 2008.** Influence de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux : cas de la Seine, un milieu sous forte pression urbaine. Sciences de la Terre. Université Paris-Est.
- **Pernet-Coudrier B. 2008.** Influence de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux : cas de la Seine, un milieu sous forte pression urbaine. Sciences de la Terre. Université Paris-Est, 256p.
- **Perrono P. 1999.** Les micropolluants métalliques des boues de stations d'épuration urbaine et l'épandage agricole. Mém. D.U.E.S.S., D.E.P., Univ. Picardie, Amiens. Perspective. Risk Analysis 1988; 8: 343-355.
- **Ramade F., 1987.** Les Catastrophes Ecologiques. Ed.: Mc Graw Hill, New York, USA. Chapitre 7, 403 p.
- **Ramade F., 2007.** Introduction à l'Ecotoxicologie. Tec & Doc, Lavoisier, 618 p. ISBN-13: 978- 2743009441
- **Raskin, I. and Ensley, B.D. 2000.** Phytoremediation of toxic metals; using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, New York.
- **Raskin, I. and Ensley, B.D. 2000.** Phytoremediation of toxic metals; using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, New York.
- **Rasmussen A.D. et Andersen O. 1999.** Cadmium transfer between water and sediments studied in laboratory experiments and with a computer model. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, **63**, 6,p 720-727.

- **Rodriguez J. 1992.** Les métaux toxiques dans les eaux pluviales en milieu urbain: Caractéristiques physico-chimiques. Thèse de doctorat, Sciences et techniques de l'environnement, Université Paris XII. 229 pp.
- **Rodriguez M.G., Rivera BH., Ventura-Juárez J., Muñoz-Ortega MH. 2013.** Cadmium toxicity evaluation in the earthworm *Eisenia foetida*: Behavior and histopathological effects. *Trends in Comparative Biochemistry & Physiology*, 17: 81–92.
- **Rodríguez-Navarro S., Mayo S., Thiele DJ., Ecker JR., Puig S., Peñarrubia L. 2006.** The Arabidopsis heavy metal P-type ATPase HMA5 interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots. *The Plant Journal* 45: 225-236
- **Römbke J., Jänsch S., Didden W. 2005.** The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 249–265. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.03.027 (Lavelle, 1983).
- **Rott E. 1991.** Methodological aspects and perspectives in the use of periphyton for monitoring and protecting rivers. - In: Whitton, B.A., Rott, E. et Friedrich, G. (eds.), *Use of algae for monitoring rivers*. Institut für Botanik, Universität Innsbruck., 9-16.
- **Ruby, MV., Davis A., Schoof R., Eberle S., et Sellstone CM. 1996.** Estimation of Lead and Arsenic Bioavailability Using a Physiologically Based Extraction Test. *Environmental Science & Technology*. 30(2): p 422-430.
- **Salim IA., Eberle S. 1996.** Sorption isotherm-sequential extraction analysis of heavy metal retention in landfill liners. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 60: p 107-114.
- **Shuman LM. 1985.** Fractionation method for soil microelements. *Soil Science* 140: p 11-22.
- **Singh, O. Labana V., Pandey S., Budhiraja G., and Jain R. K. 2003.** Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 405-412.
- **Smolders E., Mertens J. 2013.** Cadmium. In Alloway BJ. (ed.): *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 283-311. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Spurgeon DJ., Hopkin SP. 1996.** Risk assessment of the threat of secondary poisoning by metals to predators of earthworms in the vicinity of a primary smelting works. *Science of the Total Environment*, 187: 167–183. DOI: 10.1016/0048-9697(96)05132-7

- **SSDS. 1993.** Soil Survey Division Staff- Soil Survey Manual. USDA Handbk, n° 18 (Department of Agriculture). Printing Office, Washington (USA), 437 p.
- **Stafford EA., McGrath SP. 1986.** The use of acid insoluble residue to correct for the presence of soil-derived metals in the gut of earthworms used as bio-indicator organisms. *Environmental Pollution, Series A: Ecological and Biological*, 42: 233–246. DOI: 10.1016/01431471(86)90034-6
- **Steinnes E. 2013.** Lead. In Alloway BJ. (ed.): *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 465-493. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Steinnes E. 2013.** Lead. In Alloway BJ. (ed.): *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. 3th Ed. Springer, Dordrecht (The Netherlands). pp. 465-493. DOI: 10.1007/978-94-007-4470-7
- **Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourier, H. 2000.** Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environ. Pollut.* 107, 377-389.
- **Stoffregen, R.E., Alpers, C.N. et Jambor, J.L. 2000.** Alunite-Jarosite Crystallography, Thermodynamics, and Geochronology. In: C.N. Alpers, J.L. Jambor et D.K. Norstrom (Eds.), *Sulfate Minerals - Crystallography, Geochemistry and Environmental Significance*. *Reviews in Mineralogy and Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III – Matías M. Salvarredy, Aranguren* 349 *Geochemistry*. Mineralogical Society of America, Washington, D.C., pp. 453-479.
- **Stork NE et Eggleton P. 1992,** Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. The Nigel E. Stork and Paul Eggleton, 1992; Volume 7, Numbers 1 and 2., 47p.
- **Stürzenbaum SR., Winters C., Galay M., Morgan AJ., Kille P. 2001.** Metal ion trafficking in earthworms Identification of a cadmium-specific metallothionein. *Journal of Biological Chemistry*, 276: 34013–34018. DOI: 10.1074/jbc.M103605200
- **Tack FMG. 2010.** Trace Elements: General Soil Chemistry, Principles and Processes. In Hooda PS. (ed.): *Trace Elements in Soils*. John Wiley and Sons, Chichester (UK), pp. 9–37. ISBN-13: 978-1-4051-6037-7
- **Tessier A., Campbell, PGC., Bisson M. 1979.** Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51: 844–851. DOI: 10.1021/ac50043a017
- **Tingey, D.T. 1989** Bioindicators in air pollution research - applications and constraints. In: *Biologic markers of air pollution stress and damage in forests*, Committee on biological markers of air pollution damage in trees. National Research

Council, National Academy Press, Washington D.C.

- **Triffault-Bouchet G. 2004.** Effets sur les écosystèmes aquatiques lenticques des émissions de polluants provenant de différents modes de valorisation/élimination de déchets – Application à des mâchefers d’UIOM et à des boues de dragage de canaux. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 309p
- **Turkmen A., Turkmen M., Tepe Y et Akyurt I. 2005.** Heavy metals in three commercially valuable fish species from Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea., *Food Chemistry*, (91), 167-172.
- **Udovic M., Plavc Z., Lestan D. 2007.** The effect of earthworms on the fractionation, mobility and bioavailability of Pb, Zn and Cd before and after soil leaching with EDTA. *Chemosphere*, 70: 126–134. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.06.044
- **USEPA. 1992.** United States Environmental Protection Agency- Behavior of Metals in Soils. EPA/540/S-92/018. Technology Innovative Office, Office of Emergency and Remedial Response. Washington, DC. (USA), 25 p.
- **Van Coillie R., Parent L. 2011.** Ecotoxicologie générale et appliquée. TELUQ, Québec, 521p.
- **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. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.11.002
- **Van Hook RI., 1974.** Cadmium, lead and zinc distributions between earthworms and soils: potentials for biological accumulation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 12: 509– 512. DOI: 10.1007/ BF01684990
- **Van Vliet PCJ., van der Zee SEATM., Ma WC. 2005.** Heavy metal concentrations in soil and earthworms in a floodplain grassland. *Environmental Pollution*, 138: 506–516. DOI: 10.1016/ j.envpol.2005.04.010
- **Veeresh H., Tripathy S., Chaudhuri D., Hart BR. 2003.** Sorption and distribution of adsorbed metals in three soils of India. *Applied Geochemistry* 18 (11): 1723-1731.
- **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. DOI: 10.1016/ j.chemosphere.2012.02.086
- **Wen B., Hu XY., Liu Y., Wang WS., Feng MH., Shan XQ. 2004.** The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 40: 181–187. DOI: 10.1007/s00374-004-0761-3

- **Wessel S., Stoop N., Gull E., Trebst S., and Troyer M. 2007.** Optimized Broad-Histogram Ensembles for the Simulation of Quantum Systems, *J. Stat. Mech.* P12005.
- **Yong RN., Galvez-Cloutier R., Phadungchewit Y. 1993.** Selective sequential extraction analysis of heavy-metal retention in soil. *Canadian Geotechnical Journal*, 30: 834–847. DOI: 10.1139/t93-074
- **Zimdahl R. L., Hasserr J. J. 1977.** Lead in Soil. In *Lead in the Environment*. W. R. Boggess and B. G. Wixson (eds.), 93-98. NSF/RA-770214.



# ANNEXES

## **Annexe 01 :**

### **Pourcentage de dominance combinée :**

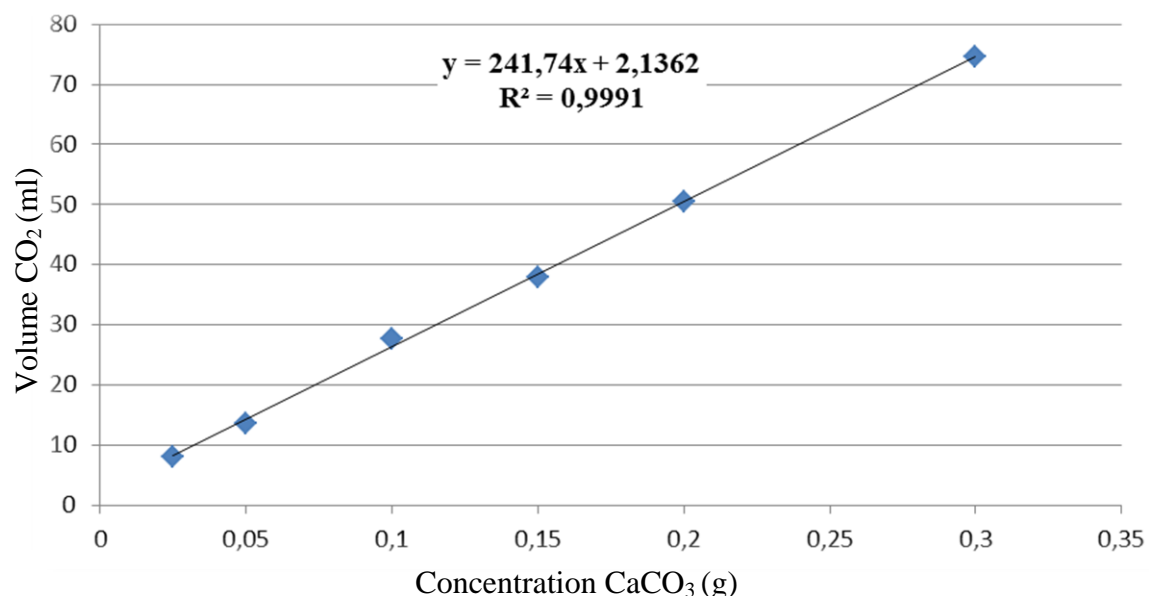
$PDC = [(PPA + PIA + PBA)] / 3$  (Jesús et al. 1981). Ces pourcentages sont calculés pour l'ensemble de la zone étudiée ainsi que pour les différents étages bioclimatiques.

\* (PPA = Le rapport exprimé en pourcentage entre les stations contenant une espèce donnée et l'ensemble des stations)

\* (PIA = Le rapport exprimé en pourcentage entre le nombre d'individus d'une espèce donnée et le nombre total des individus de tous les relevés)

\* (PBA = Le rapport exprimé en pourcentage entre le poids de tous les individus d'une espèce donnée et le poids total des individus de tous les relevés).

## Annexe 02 : Courbe d'étalonnage du carbone :



## CONTRIBUTION À L'ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUË DU PLOMB CHEZ *APORRECTODEA TRAPEZOIDES* : DÉTERMINATION DES EFFETS SUR LA MORTALITÉ ET LA CROISSANCE PAR CONTAMINATION DU SOL

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Pollution des écosystèmes et Ecotoxicologie

Cette étude a porté sur l'utilisation d'un vers de terre, *Aporrectodea trapezoides*, comme bioindicateur de la contamination plombique des sols en conditions contrôlées (test d'écotoxicité aiguë).

Le test effectué est de type statique. Il a été réalisé sur des individus juvéniles d'*A. trapezoides* récoltés dans une zone éloignée de toute source de perturbation anthropique (Village de Ayoun Assaad, Didouche Mourad-Constantine). Le substrat du test est un sol naturel prélevé dans la forêt de Chettaba. Ce dernier a été contaminé avec des concentrations croissantes en plomb. En plus du témoin, cinq concentrations ont été testées (1 $\mu$ /g, 10 $\mu$ g/g, 100 $\mu$ g/g, 1000 $\mu$ g/g et 5000 $\mu$ g/g). Les individus juvéniles d'*A. trapezoides* sont triés et mis en contact avec les différents substrats contaminés, dans des conditions contrôlées (température, humidité) pendant une durée de 14 jours. Ce test a été prolongé jusqu'à 28 jours, dans le but de caractériser d'autres altérations que peut subir l'espèce étudiée étudié à long terme.

Les résultats obtenus relatifs à la mortalité et le développement en biomasse d'*A. trapezoides* en présence du toxique, ont révélé des perturbations considérables. Ces perturbations sont d'autant plus importantes que la concentration en plomb dans le substrat et la durée d'exposition sont élevées. Ainsi, les deux paramètres étudiés chez cette espèce peuvent être considérés comme dose-dépendants et temps-dépendants

**Mots clés :** *A. trapezoides*, plomb, test d'écotoxicité aiguë.

**Laboratoire de recherche :** Biologie et Environnement

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** AFRI-MEHENAOUI Fatima-Zohra (MCA - UFM Constantine),  
**Rapporteur :** SAHLI Leila (MCA - UFM Constantine),  
**Examineur :** ZAIMECHE Saida (MCB - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 28/06/2017