



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi -Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie Animale

Thème :

Effet d'un herbicide chez les lombriciens

Présenté par : **HABAB MOUNA**

JOUINI RIHAB

Devant le jury :

| | | | |
|---------------------------|------------|------------------------------|------------------|
| Dr. DJELLAB Sihem | MCA | Université de Tébessa | Président |
| Dr. BOUAZDIA Karim | MCB | Université de Tébessa | Promoteur |
| Dr. TINE Samir | MCA | Université de Tébessa | Examineur |

Année Universitaire : 2020/2021

Note : /20

Remerciements

Nous exprimons nos sincères remerciements à la présidente de jury Mme DJELLAB SIHEM pour avoir accepté de présider la soutenance et Mr TINE SAMIR d'avoir examiné notre travail.

Nous voudrions remercier, notre promoteur Mr BOUAZDIA KARIM pour son encadrement, sa disponibilité et pour ses conseils. Nous avons ainsi profité de ses connaissances interminables.

Nous remercions aussi ceux qui tout au long de ces années d'études, nous ont aidés, conseillés. Particulièrement les enseignants du département biologie des êtres vivants.

Nos remerciements s'adressent également à nos parents qui ont toujours été présents pour nous à tout moment et dans toutes les situations, ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de près ou loin à l'élaboration de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail...

À mes chers parents ... Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

À mon frère Salah et mes sœurs Besma et Barra, ainsi qu'à mes amis (Chahinez, Nada et autres) et camarades d'études.

À mon binôme Rihab, Merci pour tous les moments de bonheur que tu nous as offerts.

À ceux qui m'ont transmis leur passion pour la biologie.

Mouna

Je dédie ce travail :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Quisse Dieu te préserver et te procurer santé et bonheur, à toi mon père.

A ma très chère mère source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

A ma grand-mère paternelle et mon grand père et ma grand-mère maternelles je vous souhaite une longue vie

À mes adorables sœurs (Sara, Hiba, Nouha, Amira et Fousra) et mon cher frère (Mohammed Zakaria) Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. J'implore le tout-puissant dieu pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A mes oncles Farai abderahmen ; younes ; raouf et spécifiquement boumedienne Par vos mots apaisés, vos conseils inestimables et vos encouragements.

A mon cher tonton Jouini Mohammed Lakhidher et à la mémoire de Jouini Mohammed Pherif, J'aurais tant aimé que tu sois présente. Que Dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde

A toute ma famille et mes amies Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur, affectueusement.

A mon binôme Mouna habab Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mes pensées, tu es pour moi une sœur je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Rihab

RESUMES

Résumé

L'étude des vers de terre connaît un regain d'intérêt ces dernières années. Les données algériennes se sont enrichies, mais restent toutefois insuffisantes. Dans notre travail, on a d'abord identifié les différentes espèces de vers de terre collectés dans les sites d'échantillonnage, Bekkaria, Ain Zerga et Tébessa. Ainsi, on a pu recenser trois espèces : *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea* et *Eisenia fetida*. L'espèce *A. caliginosa* est plus abondante que les autres espèces dans les trois sites.

Ensuite, nous avons étudiés les effets de l'herbicide Glyphon sur *A. caliginosa* à l'aide de tests toxicologiques où les critères d'évaluation sont, le taux de mortalité et la morphologie. Sous l'effet de concentrations croissantes de Glyphon. L'herbicide Glyphon manifeste une toxicité avec une relation dose-réponse. Le nombre de survie est réduit avec l'augmentation des concentrations, ce qui a conduit à des valeurs de CI50=1483,71[1399,29 ; 1479,25] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et CI90=1582,01[1538,66 ; 1626,59] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ nettement supérieures à la concentration recommandée aux agriculteurs. A l'issue du test de toxicité, des altérations morphologiques des vers traités ont été révélés aux différentes concentrations. Les symptômes de cette altération vont du changement de couleur du tégument jusqu'à la lyse de la paroi du corps.

D'un autre côté, nous nous sommes intéressés à une batterie de biomarqueurs tels que : GSH, Activité GST, Activité AChE en présence de l'herbicide à des concentrations sub-létales chez les vers *A. caliginosa*. Nos résultats montrent que l'activité GST, l'activité AChE et le GSH reste inchangé.

Mot clés : Glyphon, *Aporrectodea caliginosa*, identification, toxicité, GST, GSH, AChE.

Abstract

The study of earthworms is experiencing a revival of interest in recent years. In our work, we first identified the different species of earthworms collected in the sampling sites, Bekkaria, Ain Zerga and Tebessa. Thus, we could identify three species: *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea* and *Eisenia fetida*. The species *A. caliginosa* is more abundant than the other species in the three sites.

Then, we studied the effects of the herbicide Glyphon on *A. caliginosa* using toxicological tests where the evaluation criteria are, mortality rate and morphology. Under increasing concentrations of Glyphon. The herbicide Glyphon shows a toxicity with a dose-response relation. The number of survival is reduced with increasing concentrations, which led to values of $CI_{50}=1483,71[1399,29 ; 1479,25]$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $CI_{90}=1582,01[1538,66 ; 1626,59]$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ significantly higher than the recommended concentration for farmers. At the end of the toxicity test, morphological alterations of the treated worms were revealed at the different concentrations. The symptoms of this alteration range from color change of the integument to lysis of the body wall.

On the other hand, we were interested in a battery of biomarkers such as : GSH, GST activity, AChE activity in the presence of the herbicide at sub-lethal concentrations in *A. caliginosa* worms. Our results show that GST activity, AChE activity and GSH remain unchanged.

Keywords : Glyphon, *Aporrectodea caliginosa*, identification, toxicity, GST, GSH, AChE.

الملخص

تشهد دراسة ديدان الأرض عودة الاهتمام في السنوات الأخيرة. في عملنا، صنفنا أولاً الأنواع المختلفة من ديدان الأرض التي تم جمعها في مواقع أخذ العينات، بكارية، عين الزرقاء وتيسة. وهكذا، يمكننا تصنيف ثلاثة أنواع: *Aporrectodea caliginosa*، *Aporrectodea rosea* و *Eisenia fetida*. النوع *A. caliginosa* أكثر وفرة من الأنواع الأخرى في المواقع الثلاثة.

بعد ذلك، درسنا تأثير مبيد الأعشاب Glyphon على *A. caliginosa* باستخدام اختبارات السمية حيث معايير التقييم هي معدل الوفيات والمورفولوجيا. تحت تركيزات متزايدة من Glyphon. يظهر مبيد الأعشاب Glyphon سمية مع علاقة الجرعة والاستجابة. يتم تقليل عدد البقاء على قيد الحياة مع زيادة التركيزات، مما أدى إلى قيم:

$CI_{90}=1582,01[1538,66 ; 1626,59]$ و $CI_{50}=1483,71[1399,29 ; 1479,25]$ أعلى بكثير من التركيز الموصى به للمزارعين. في نهاية اختبار السمية، تم الكشف عن التغيرات المورفولوجية للديدان المعالجة بتركيزات مختلفة. وتتراوح أعراض هذا التغيير من تغيير لون الغشاء إلى تحلل جدار الجسم.

من ناحية أخرى، كنا مهتمين بجملة من المؤشرات الحيوية مثل: GSH، نشاط GST، نشاط AChE في وجود مبيد الأعشاب بتركيزات شبه قاتلة في الديدان *A. caliginosa*. تظهر نتائجنا أن نشاط GST ونشاط AChE و GSH لم يتغير.

الكلمة المفتاحية: Glyphon، *Aporrectodea caliginosa*، تصنيف، سمية، GST، GSH، AChE.

TABLE DES MATIERES

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

| | |
|--|------|
| Introduction | 1 |
| Matériels et méthodes | 4-28 |
| 1.Généralités sur les lombriciens | 4 |
| 1.1. Systématique..... | 4 |
| 1.2. Morphologie des lombriciens | 4 |
| 1.2.1. Critère morphologique | 5 |
| 1.2.1.1. Segmentation | 5 |
| 1.2.1.2. Soies | 5 |
| 1.2.1.3. Caractères sexuels externes | 6 |
| 1.2.1.4. Taille | 7 |
| 1.2.1.5. Coloration | 7 |
| 1.2.2. Critères anatomiques interne | 7 |
| 1.2.2.1. Tube digestive | 8 |
| 1.2.2.2. Système circulatoire | 8 |
| 1.2.2.3. Système respiratoire | 9 |
| 1.2.2.4. Système excréteur | 9 |

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| 1.2.2.5. Système nerveux | 9 |
| 1.3. Classification écologique..... | 9 |
| 1.4. Période de l'activité et longévité | 10 |
| 1.5. Nutrition | 11 |
| 1.6. Reproduction cycle de vie | 11 |
| 1.7. Intérêt des vers de terre | 11 |
| 2. Généralités sur les pesticides | 14 |
| 2.1. Définition des pesticides | 14 |
| 2.2. Classification des pesticides | 14 |
| 2.2.1. Selon la cible | 15 |
| 2.2.2. Selon la famille chimique | 15 |
| 2.3. Le glyphosate | 16 |
| 2.3.1. Définition | 16 |
| 2.3.2. Propriétés physicochimiques | 17 |
| 2.3.3. Mode d'action | 18 |
| 3. Dispositif expérimental..... | 19 |
| 3.1. Présentation du site de collecte des vers de terre | 19 |
| 3.1.1. Situation géographique | 19 |
| 3.1.1.1. Tébessa | 19 |
| 3.1.1.2. Bekkaria | 19 |
| 3.1.1.3. Ain Zerga | 20 |
| 3.2. Prélèvement des échantillons | 20 |
| 3.3. Choix de l'espèce | 21 |
| 3.4. Systématique de l' <i>Aporrectodea caliginosa</i> | 22 |
| 3.5. Travaux au laboratoire | 22 |
| 3.5.1. Rinçage et tri des vers de terre | 22 |
| 3.6. Méthode d'identification et description des espèces | 23 |

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-------|
| 3.7. Condition expérimentale | 24 |
| 3.8. Test de toxicité | 25 |
| 3.8.1. Traitement | 25 |
| 3.9. Méthodes de dosage | 25 |
| 3.9.1. Dosage des protéines totales | 25 |
| 3.9.2. Dosage du glutathion (GSH) | 26 |
| 3.9.3. Dosage de l'activité glutathion-s-transférase (GST) | 26 |
| 3.9.4. Dosage de l'activité acétylcholinestérase (AChE) | 27 |
| 3.10. Analyse statistique des résultats | 27 |
| 4. Résultat et discussion | 30-45 |
| Résultats | 30 |
| 1. Identification | 30 |
| 2. Toxicité de l'herbicide Glyphon | 31 |
| 2.1. Effet sur la morphologie | 32 |
| 2.2. Effet de Glyphon sur les biomarqueurs | 32 |
| 2.2.1. Effet du Glyphon sur la quantité totale des protéines | 33 |
| 2.2.2. Effet du Glyphon sur l'activité glutathion-s-transférase (GST) | 34 |
| 2.2.3. Effet du Glyphon sur l'activité glutathion (GSH) | 34 |
| 2.2.4. Effet du Glyphon sur l'activité Acétylcholinestérase (AChE) | 35 |
| 2.2.5. Corrélation entre les différents paramètres | 36 |
| Discussion | 37 |
| Conclusion | 47 |
| Références bibliographiques | 50 |

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Classification des vers de terre | 4 |
| 2 | Les trois grands groupes écologiques de lombriciens | 10 |
| 3 | Les principales familles chimiques des pesticides | 16 |
| 4 | Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate | 17 |
| 5 | Comparaison entre les caractéristiques des différentes espèces de vers de terre | 30 |
| 6 | Concentrations létales (CL50 et CL90) en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et leurs intervalles de confiance après 48 heures d'exposition topique. | 31 |
| 7 | Les différents paramètres statistiques relatif à l'analyse des probits. | 31 |
| 8 | Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) au niveau de la partie clitelienne de corps d' <i>A.caliginosa</i> durant la période d'exposition au Glyphon (concentrations sub-létales) ($m \pm SD$; $n= 6$). | 34 |
| 9 | Activité spécifique de la GSH (nM/mg de protéines) au niveau du partie de corps d' <i>A.caliginosa</i> durant la période d'exposition au Glyphon (concentrations sub-létales) ($m \pm SD$; $n=6$). | 35 |
| 10 | Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) au niveau de la partie antérieure du corps des vers <i>A. Caliginosa</i> après 48 heures d'exposition au Glyphon ($m \pm SD$; $n= 6$). | 35 |
| 11 | Corrélation entre les différents paramètres | 35 |

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 1 | Les régions du corps d'une ver de terre | 5 |
| 2 | Dispositions des soies chez le ver de terre | 6 |
| 3 | Les organes externes liés à l'accouplement | 6 |
| 4 | Cocons de vers de terre | 7 |
| 5 | Anatomie interne de la région antérieure (vue dorsale) | 8 |
| 6 | Localisation des trois catégories écologiques de lombriciens | 10 |
| 7 | La reproduction et la formation de cocons chez les vers de terre | 12 |
| 8 | Cycle de vie d'un individu <i>Aporrectodea caliginosa</i> | 13 |
| 9 | Inhibition de la synthèse d'acides aminés aromatiques par l'action de l'herbicide glyphosate sur la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), enzyme de la voie du shikimate | 19 |
| 10 | Carte géographique de Tébessa, avec les différents sites de collection des vers de terre. | 20 |
| 11 | Étapes de prélèvement des vers de terre sur le terrain | 21 |
| 12 | <i>Aporrectodea caliginosa</i> | 21 |
| 13 | Triage des vers de terre | 23 |
| 14 | Étapes d'identification des vers de terre au niveau de laboratoire | 24 |
| 15 | Les étapes du test | 24 |
| 16 | Schéma récapitulatif du protocole expérimental. | 28 |
| 17 | Efficacité de l'herbicide Glyphon chez les adultes des vers <i>A. caliginosa</i> après 48 heures d'exposition : Analyse des probits | 31 |
| 18 | Les anomalies morphologiques des vers exposés à l'herbicides Glyphon à différentes concentrations | 32 |
| 19 | Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination). | 33 |
| 20 | Effet des concentrations sub-létales de l'herbicide Glyphon sur la quantité de protéines totales après 48 heures d'exposition. | 33 |
| 21 | Effet de concentrations sub-létales de Glyphon sur l'activité Glutathion-S-Transférase (GST) au niveau des parties clitelienne des vers de terre. | 34 |
| 22 | Effet de concentrations sub-létales de l'herbicide Glyphon sur la quantité de GSH dans la partie post-clitellienne des vers de terre. | 35 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 23 | Effet de concentrations croissantes de l'herbicide Glyphon sur l'activité Acétylcholinestérase (AchE) dans les parties postérieures des vers de terre après 48 heures d'exposition. | 36 |
|-----------|---|-----------|

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

AChE : Acétylcholine Estérase.

AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi.

AMPA : Amino Méthyl Phosphonique.

CL50 : Concentration Létale 50.

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman.

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

EPSPS : 5-EnolPyruvylShikimate-3-Phosphate Synthétase.

GSH : Glutathion Réduit.

GST : Glutathion-S-Transférase.

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.

HBG : Herbicides à Base de Glyphosate.

MTBE: Methyl *Tert*-Butyl Ether.

RAD : Recommended Agricultural Dose.

ROS : Reactive Oxygene Species.

SOD : Super Oxyde Dismutase.

FAO : Food Agricultural Organisation.

WHO : World Health Organisation

BSA : Bovine Albumine Serum

TEL : Le plomb Tétra Ethyle

2,4D : L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique

GPx : Glutathion Peroxydases

LDH : Lactate Déshydrogénase

INTRODUCTION

Introduction

Au cours de la dernière décennie, environ 6,1 milliards de kilogrammes de l'herbicide glyphosate ont été appliqués dans le monde entier. Le glyphosate [N-(phosphonométhyl) glycine] est un ingrédient actif d'une gamme de dés herbants, créés pour être utilisés dans l'agriculture, l'horticulture et les sites d'agrément. Son utilisation à l'échelle mondiale a été multipliée par près de 15 depuis 1996, date à laquelle les cultures génétiquement modifiées Glyphosate-Tolérant "Roundup Ready" ont été introduites (Benbrook, 2016).

En Algérie environ 27 produits phytosanitaires à base de glyphosate sont homologués et commercialisés qui sont largement utilisés par les agriculteurs (DPVCT., 2015)

Bien qu'il s'agisse de l'herbicide le plus utilisé au monde (Myers et al 2016), le glyphosate a été classé en 2015 comme "probablement cancérigène pour l'homme" par le Centre international de recherche sur le cancer, l'agence spécialisée dans le cancer de l'Organisation Mondiale de la Santé, à la suite d'un examen des preuves issues des études sur l'exposition humaine et des recherches sur les animaux de laboratoire (WHO 2015). En outre, en 2016, des scientifiques ont fait part de leurs inquiétudes quant à la sécurité des herbicides à base de glyphosate et appellent à de nouveaux investissements dans les études épidémiologiques, la biosurveillance et les études toxicologiques (Myers et al 2016).

Alors que les effets du glyphosate sur la santé humaine font l'objet d'un examen minutieux, les scientifiques s'inquiètent désormais de l'insuffisance de nos connaissances sur l'innocuité écologique du glyphosate, la façon dont il se comporte dans l'environnement naturel, comment il interagit avec les organismes vivants et les voies de dégradation (Sviridov, 2015). Des recherches récentes suggèrent que l'herbicide persiste plus longtemps avec le retour au sol des résidus de culture contenant du glyphosate (Mamy et al 2014).

Une récente évaluation scientifique mondiale a révélé que 33 % des terres sont dégradées en raison de l'érosion, de la salinisation, du compactage, de l'acidification et de la pollution chimique de nos sols (FAQ 2003). Ce rapport passe en revue les preuves scientifiques publiées et évaluées par des pairs concernant l'impact du glyphosate sur la santé humaine. L'impact des herbicides à base de glyphosate sur les sols, les micro-organismes du sol et la faune du sol.

À ce jour, les études scientifiques concernant l'impact du glyphosate sur les microorganismes du sol ont fourni des résultats contrastés. Certaines études sur le sol n'ont pas trouvé de menace pour les micro-organismes du sol à cause du glyphosate (Araujo et al 2003).

INTRODUCTION

L'utilisation du glyphosate augmente le potentiel de développement de niveaux de pathogènes qui affectent la santé des cultures, altérant les communautés de microbes de la rhizosphère impliqués dans la transformation des nutriments, et modifiant l'équilibre entre les micro-organismes qui sont bénéfiques et ceux qui sont nuisibles à la santé des plantes (Kremer et Means 2009).

Les vers de terre agissent comme des "ingénieurs de l'écosystème" en déchiétant la litière végétale, en la minéralisant ainsi que la matière organique du sol dans leurs intestins, et en produisant des déjections qui améliorent la disponibilité des nutriments du sol et favorisent la productivité des plantes. Leur creusement améliore la pénétration des racines dans le sol et l'infiltration de l'eau (Gaupp-Berghausen et *al.*, 2015).

Des études portant sur des lombrics exposés au glyphosate ont indiqué une réduction du rythme de leur croissance et une tendance de ces animaux à éviter les endroits traités à cet herbicide, toute atteinte à ces invertébrés risque de compromettre la santé des sols. (Antoniou et *al.*, 2010).

Dans ce contexte, notre travail se propose d'étudier, au laboratoire, l'impact du Glyphosate sur l'espèce de vers de terre *Aporrectodea caliginosa*, identifiée parmi les spécimens collectés. Les paramètres étudiés sont la mortalité, la morphologie et l'activité enzymatique de la GST, l'AChE ainsi que la quantité de la GSH et des protéines totales chez les vers exposés à ce pesticide.

MATERIELS ET METHODES

1. Généralités sur les lombriciens :

1.1. Systématique :

Les vers de terre appartiennent à l'embranchement des Annélides, à la classe des Clitellata et à l'ordre des Haplotaxida Tableau (1). Ils se répartissent en différentes familles suivant caractéristiques spécifiques.

Tableau 1. Classification des vers de terre (Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Lumbricina>)

| |
|---|
| Règne : Animal |
| Embranchement : Annélide |
| Classe : Clitellata |
| Sous-classe : Oligochaeta |
| Ordre : Haplotaxida |
| Sous ordre : Lumbricina (De Blainville, 1830) |

1.2. Morphologie des lombriciens :

Les vers de terre sont des Annélides fousseurs, dont le corps très extensible est constitué par plusieurs segments. Selon les espèces, la longueur du corps varie de quelques millimètres à 3 mètres. Chaque segment peut être garni soit de quatre paires de courtes soies sur la face ventrale soit d'une rangée de soies tout autour (chez certaines espèces tropicales). Ces soies interviendraient dans le déplacement. Les deux premiers segments (le prostomium et le péristomium) ne portent pas de soies. Il en est de même du dernier segment ou pygidium. Ce dernier n'a pas de soies et a un rôle particulier : pointe sensorielle pour le premier, bouche pour le deuxième et anus pour le dernier (Razafindrakoto, 2012).

La couleur du corps varie le plus souvent du rose au marron et peut être parfois irisée avec des reflets violets. Quelques espèces sont très colorées, orange ou turquoise (James, 1991). La présence, chez les adultes, d'un bourrelet tégumentaire, le clitellum, qui apparaît à la maturité génitale est un caractère frappant de l'anatomie externe

Leur corps est mou, toujours humide grâce à un léger mucus. Ils se déplacent en contractant et allongeant alternativement leurs segments. Signalons que les vers de terre ont une odeur caractéristique, généralement assez discrète, mais qui devient relativement forte et désagréable chez *Eisenia fetida* (Baha, 2008).

1.2.1. Critères morphologiques :

Le corps d'un ver de terre est composé de trois régions successives, le prostomium, le soma et le pygidium (Fig.1).

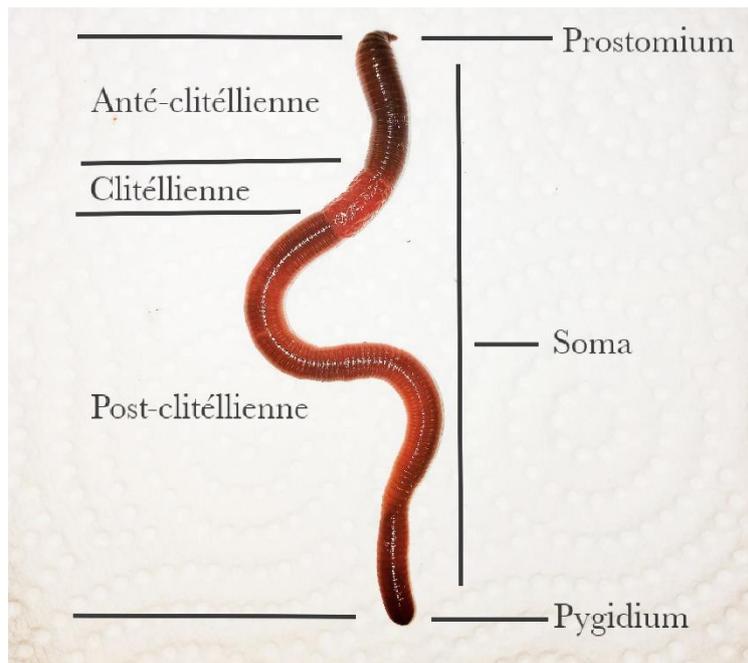


Figure 1. Les régions du corps d'une ver de terre (photo personnelle 2021)

1.2.1.1. Segmentation :

Le corps des vers de terre est cylindrique et formé d'une succession de segments extensibles et semblables compris entre un lobe céphalique (prostomium) et un lobe terminal appelé pygidium (Lavelle et Spain, 2001).

Les segments sont munis de pores dorsaux par lesquels, les vers de terre peuvent éjecter un fluide cœlomique en réponse à une perturbation mécanique ou chimique (Bachelier, 1978).

1.2.1.2. Soies :

Selon Bachelier (1978), les vers de terre possèdent des soies rigides, peu nombreuses et de forme peu variée, implantées directement dans les téguments, elles interviendraient dans le déplacement.

Il existe deux types de disposition de soie (Fig.2) : type lombricienne (Avoir 8 soies par segment souvent se répartissent en 4 paires) et perichaetienne (Avoir plus de 8 soies par segment se répartissent autour de la circonférence du corps). Les écarts entre les soies sont variables mais constants au niveau d'un même segment et à l'intérieur d'une population, ce qui conduit à l'usage fréquent de ce caractère en taxonomie.

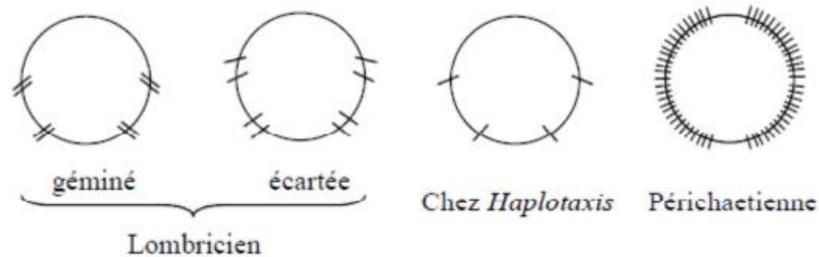


Figure 2. Dispositions des soies chez le ver de terre (Bouché, 1972).

1.2.1.3. Caractères sexuels externes :

Ils sont observés chez les individus adultes, sont particulièrement importants dans l'identification des espèces. Le clitellum (Fig.3) : sous forme d'un fer à cheval à annulaire chez quelques familles, il sécrète un cocon (Fig.4) qui reçoit les œufs et les spermatozoïdes en période de reproduction, les orifices mâles qui constituent un caractère sexuels secondaire bien visible comparé aux pores femelles dont l'emplacement ne peut être facilement déterminé. Les orifices de réceptacles séminaux, disposés par paire, dont le nombre varient selon les espèces (Bouché, 1972).

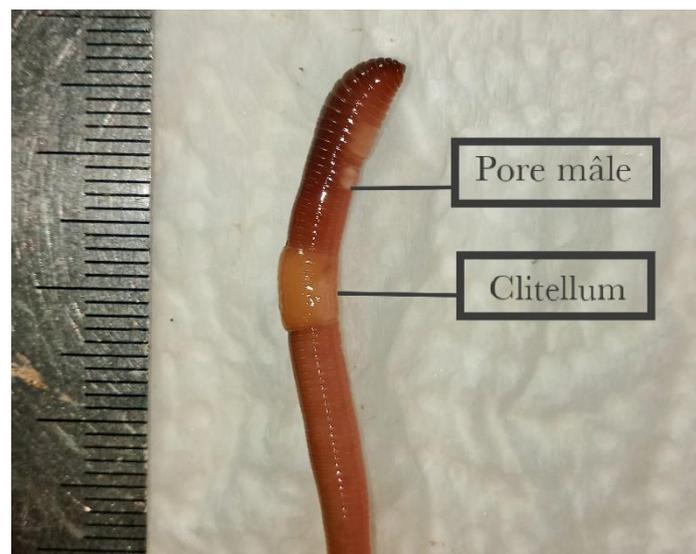


Figure 3. Les organes externes liés à l'accouplement (photo personnelle2021)



Figure 4. Cocons de vers de terre (photo personnelle2021)

1.2.1.4. Taille :

La taille des vers de terre peut varier du simple au double au sein d'une même espèce suivant les conditions de vie des individus (Bachelier, 1978), dont l'humidité du sol. Parmi lesquelles *Lumbricus terrestris* dont la taille est variée de 90 à 300 mm ; *Eisenia rosea* qui est de 25 à 85 mm de taille et *Dendroba empygmea* qui ne dépasse pas 15 à 30 mm (Bachelier, 1978).

1.2.1.5. Coloration :

La couleur du corps des lombrics est variée, les genres *Lumbricus*, *Eisenia* et *Dendrobaena* qui vivent au milieu des litières en décomposition sont de couleur rouge : *Eisenia foetida* avec ses bandes de couleur brune et chamois est aisément reconnaissable. Les Allolobophora et les Octolasiium qui vivent moins en surface et ingèrent davantage de matières minérales sont de couleur gris à gris bleuté ; *A. chlorotica* est souvent de couleur verdâtre avec un clitellum bien rose (Bachelier, 1963). Les vers des régions sèches sont souvent aussi de couleur plus sombre que les vers des régions humides (Bachelier, 1978).

1.2.2. Critères anatomiques internes :

La structure interne d'un vers de terre se décrit comme, une installation de trois cylindres l'un dans l'autre. La partie interne (fig.5) contient un long intestin qui traverse tout le corps ; la partie médiane est constituée de deux séries de muscles : l'une longitudinale et l'autre circulaire. Enfin, l'épiderme forme l'enveloppe externe, appelée cuticule.

On distingue chez le lombric la présence de six systèmes distincts : un système nerveux, respiratoire, circulatoire, digestif, excréteur et reproducteur (Schraer, 1987).

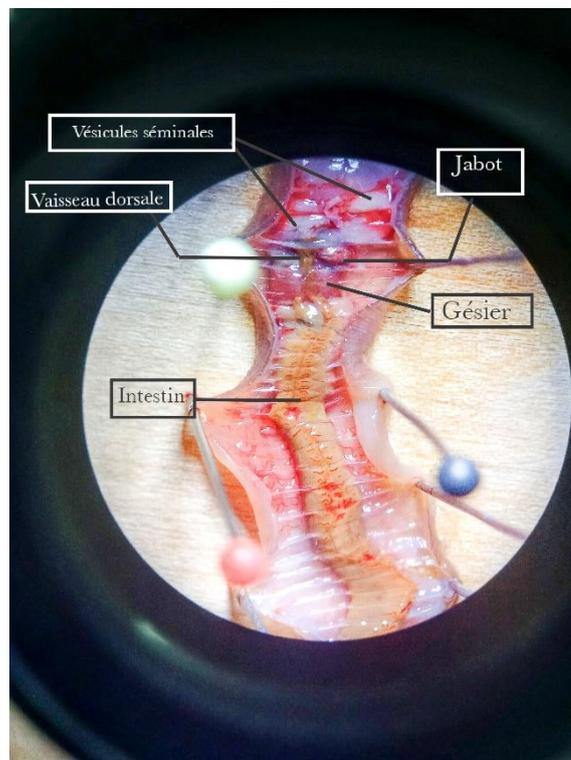


Figure 5. Anatomie interne de la région antérieure (vue dorsale) (photo personnelle 2021)

1.2.2.1. Tube digestif :

Le tube digestif est constitué d'un tube interne qui parcourt toute la longueur du ver et qui présente des modifications locales pour assurer certaines fonctions digestives spécialisées. Le tube digestif qui débute par un simple orifice la bouche, comporte directement un pharynx suivi, dans un ordre variable, d'un œsophage plus ou moins long, de glande de Morren, d'un jabot et d'un gésier, cet ensemble est suivi d'un long intestin. Comportant le plus souvent un repli interne, dorsal, le typhlosolis (cet organe a un développement et une morphologie très variables en fonction des espèces) (Tomlin, 1980).

1.2.2.2. Système circulatoire :

Les vers de terre ont un système circulatoire fermé, il se compose de vaisseaux sanguins longitudinaux ; 4 paires de cœurs avec des valves ; deux paires de boucles latérales ; du sang. Les vaisseaux longitudinaux comprennent les vaisseaux dorsaux et ventraux qui s'étendent sur tout le corps, un vaisseau sous-neural allant du segment 15 à l'extrémité du corps située sous le cordon nerveux, un vaisseau supraoesophagien situé sur l'estomac dans le segment 9-13, et une paire de vaisseaux œsophagiens des segments 13 à 1. La circulation est unidirectionnelle, Le

cœur pompe le sang des vaisseaux dorsaux aux vaisseaux ventraux. Le sang est constitué des cellules sanguines de nature phagocytaire et de l'hémoglobine qui reste dissoute dans le plasma sanguin. (Sims et Gerard, 1985 ; Edwards et Bohlen, 1996 ; Starr, 2014).

1.2.2.3. Système respiratoire :

Les vers de terre n'ont pas d'organes respiratoires spécialisés. L'oxygène doit d'abord se dissoudre dans une couche aqueuse sur toute la surface du corps, à partir de laquelle se diffuse à travers la cuticule et les tissus épidermiques dans le sang, qui contient l'hémoglobine (Edwards et Lofty, 2013).

1.2.2.4. Système excréteur :

Les principaux organes excréteurs du ver de terre sont les néphridies, qui extraient les déchets du fluide cœlomique sous forme de déchet. Une paire de néphridies se retrouvent dans chaque segment, à l'exception des trois premiers et des derniers segments. Chaque néphridie se termine par une ouverture à l'extérieur qui sont les néphridiopores. Ces derniers se situent sur la face latérale et s'étendent généralement en une seule série le long du corps de chaque côté (Edwards et Bohlen, 1996).

1.2.2.5. Système nerveux :

Le système nerveux se compose de ganglions cérébraux, d'un cordon nerveux ventral, situé dans le cœlome, commençant à l'extrémité antérieure et s'étendant sur toute la longueur du corps (Edwards, 2012).

1.3. Classification écologique des lombriciens :

Les travaux de Bouché (1972) et de Lavelle (1981) ont permis de regrouper les différentes espèces des vers de terre en trois catégories principales Tableau (2). Cette classification est basée sur des critères morphologiques et écologiques (Fig.6).

Tableau 2. Les trois grands groupes écologiques de lombriciens

| | |
|----------------------|--|
| Les épigées | Sont des vers pigmentés de petite taille (10 à 30 mm en général) et vivent généralement dans la litière de surface et se nourrissent des matières organiques en décomposition dans cette litière (Bouché, 1977 ; Lee, 1985) |
| Les endogées | Sont des vers peu ou pas pigmentés, de taille variable (1 à 20 cm), vivant généralement dans les premiers centimètres de sol où ils construisent des galeries temporaires horizontales en se nourrissant de sol minéral plus ou moins riche en matières organiques (Bouché, 1972). |
| Les anéciques | Sont de couleur brune, de taille moyenne à géante (10 à 110 cm). Ils creusent des galeries verticales profondes à subverticales plus ou moins ramifiées s’ouvrant en surface. Ils ont un mode de vie mixte, et se nourrissent de débris organiques prélevés en surface et qu’ils laissent pourrir dans le sol avant de les ingérer avec du sol (Bouche, 1977). |

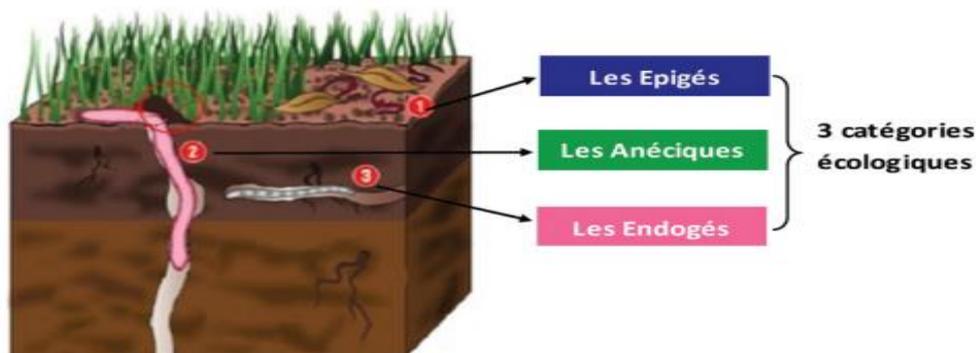


Figure 6. Localisation des trois catégories écologiques de lombriciens (OPVT—OSUR/Univ.Rennes).

1.4. Période d’activité et longévité :

Dans les régions tempérées, la plupart des vers de terre rentrent en diapause l’été. Activité, nutrition et aptitude à se reproduire reprend à l’automne avec la réhumidification du sol. En hiver, les vers ralentissent leur activité, ils s’enfoncent si le froid devient trop intense. Dans le sud de la Suède, la majorité de la population de *Lumbricus terrestris* s’enfouissait profondément dans le sol et devenait inactive lorsque la température du sol est descendue en dessous de 0°C

en hiver. Leur vie redevient normale au printemps avec l'adoucissement du climat. (Shuster et Edwards, 2002 ; Potvin et Lilleskov, 2016).

Les vers de terre ont une durée de vie dépendante de l'espèce, de leur biotope et des conditions dans lesquelles ils vivent. Les stratégies d'allocation de l'énergie varient entre les types « r et k ». La stratégie de type « r » concerne les espèces à durée de vie courte (plusieurs mois) donc plus spécifiquement les épigés, qui allouent tout d'abord leur énergie à la reproduction et à la croissance. A l'inverse, la stratégie « k », principalement les endogés et les anéciques, privilégient la survie à la reproduction et à la croissance car ils ont une durée de vie plus longue (jusqu'à 10 ans) (Bazri, 2015).

1.5. Nutrition :

Le régime alimentaire des vers de terre se compose principalement de matériel à divers stades de décomposition. Les tissus végétaux morts constituent l'essentiel de la matière organique consommée, mais aussi des microorganismes vivants, des champignons, des nématodes et d'autres microfaunes, mésofaune et leurs restes morts sont également ingérés.

La plupart des espèces consomment aussi les fractions minérales du sol et semblent préférer les mélanges organo-minéraux aux matières organiques pures. On distingue deux modes de nutrition : les détritivores qui se nourrissent de la litière et les géophages qui ingèrent de grandes quantités du sol contenant de la matière organique (Curry et Schmidt, 2007).

1.6. Reproduction et cycle de vie :

Les vers de terre sont hermaphrodites ; ils possèdent des organes et produisent des gamètes mâles et femelles. Le mode de reproduction diffère selon les espèces. Certaines sont obligatoirement biparentales, à l'instar de *Lumbricus terrestris* et nécessitent donc un accouplement entre deux individus, alors que d'autres se reproduisent sans accouplement, par auto-fertilisation ou par parthénogénèse (Sims et Gérard, 1999). Chez les espèces biparentale, l'accouplement se déroule la nuit en surface (Fig.7), les deux individus suivent une configuration en tête-bêche et, selon les familles, on observe une transmission directe du sperme des pores mâles dans les réceptacles séminaux, ou transmission du sperme à distance par les gouttières génitales que bordent dorsalement les nervures génitales (Hipp, 2005). Quelques jours plus tard, le clitellum produit le cocon qui glisse le long de la partie antérieure du vers de terre et émis dans le sol sous forme d'une capsule fermée à deux extrémités. Chez les espèces à reproduction monoparentale, La parthénogénèse s'effectue à partir d'un seul gamète alors que

l'auto-fertilisation nécessite l'intervention des deux gamètes, mâles et femelles, apportés par le même individu (Sims et Gérard, 1999).

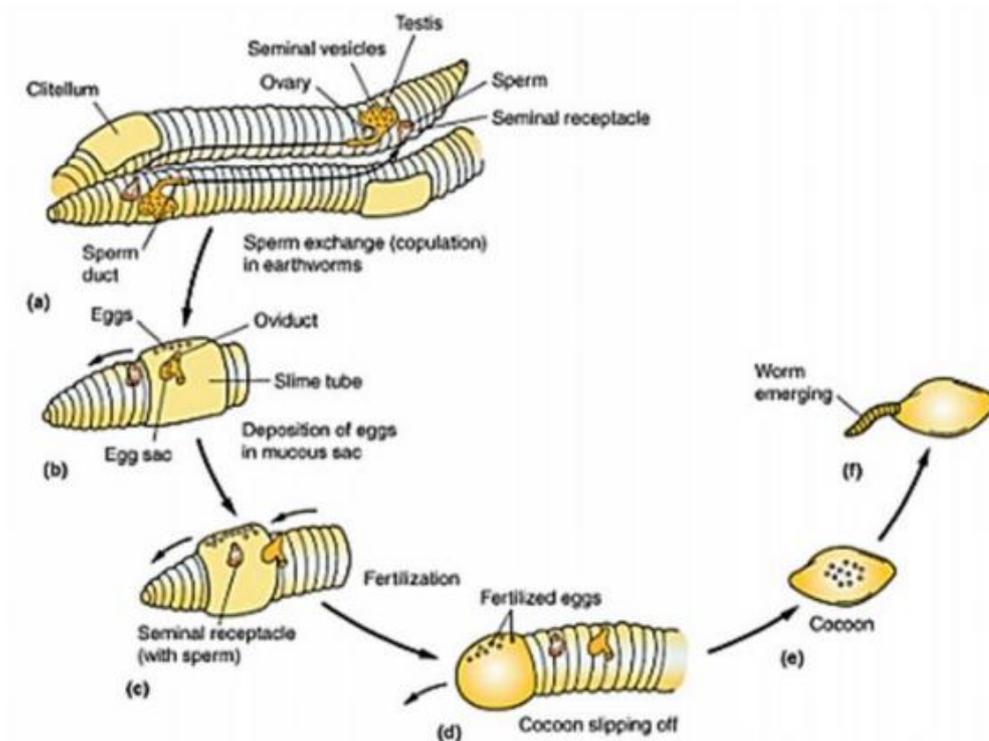


Figure 7. La reproduction et la formation de cocons chez les vers de terre. (a) le sperme est échangé pendant la copulation. (b) les œufs sont déposés dans un sac de mucus. (c) les œufs sont fertilisés. (d) le cocon glisse hors du vers. (e) le cocon est déposé. (f) les vers juvéniles émergent du cocon dans 2 à 3 semaines (Holley, 2017)

Les vers adultes produisent plusieurs cocons par ans selon leur âge (Svendsen et *al.*, 2005) et les conditions du milieu (Lee, 1985). Les cocons contiennent les substances nutritives indispensables au développement embryonnaire, chacun comporte plusieurs œufs, mais seuls quelques-uns se développent proprement (Hipp, 2005). Les cocons sont résistants aux conditions défavorables comme la sécheresse (Edwards et Bohlen 1996).

La durée d'incubation dépend des conditions climatiques (Holmstrup et *al.*, 1996) et des conditions de vie de l'adulte. (Pelosi, 2008). Les vers émergent du cocon, de couleur blanchâtre, long de 1,3 cm en moyenne (variable selon les espèces). La couleur commence à s'assombrir quelques heures après l'éclosion pour prendre la couleur propre à l'espèce (Hipp, 2005).

Les juvéniles deviennent plus long à mesure que leurs segments se développent. Ils acquièrent progressivement les caractères sexuels externes et deviennent sub-adultes. Ils

atteignent leur maturité après la formation du clitellum et deviennent adultes capables de se reproduire (Pelosi, 2008).

La durée de maturation dépend de l'espèce considérée ainsi que des conditions du milieu. Lakhani et Satchell (1970) rapportent que *Lumbricus terrestris* devient mature au bout d'un an au champ, alors qu'il ne suffira que de quelques mois en condition de laboratoire.

La durée des quatre étapes fondamentales du cycle de vie des lombriciens ; cocon, juvénile, sub-adulte et adulte (Fig.8), ainsi que la fécondité et la survie des vers dépendent fortement de l'espèce considérée mais aussi des conditions du milieu (Pelosi, 2008).

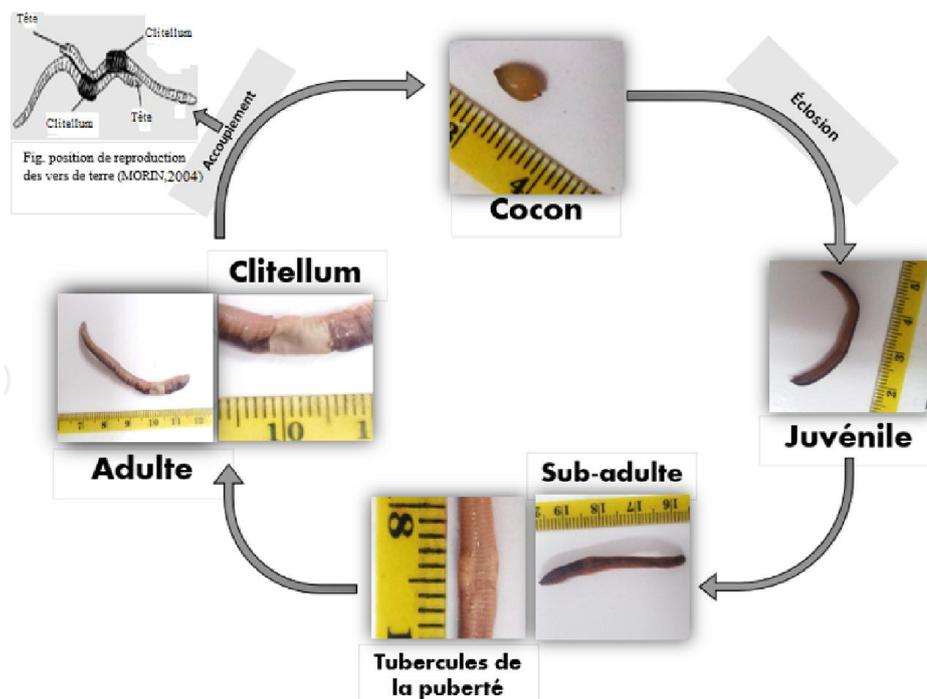


Figure 8. Cycle de vie d'un individu *Aporrectodea caliginosa* (Saadi et Menasria, 2018)

1.7. Intérêt des vers de terre

Les vers de terre jouent un rôle écologique majeur en termes d'aération et de microdrainage du sol, comme ils influencent peu la diversité des espèces présentes, et ils influencent différemment la productivité de certains types ou communautés de plantes (Lavelle et *al.*, 1998).

Depuis le début du 20ème siècle jusqu'à aujourd'hui, le nombre d'expériences visant à étudier l'effet des vers de terre sur la structure et fertilité des sols, mais aussi sur les différents paramètres agissant sur la croissance des plantes n'ont pas cessé d'augmenter (Freitas, 2013).

Les vers de terre remplissent des fonctions écologiques uniques dans le sol. Ils jouent un rôle important dans la dynamique physique, chimique et biologique du sol, à travers trois principales fonctions : la création de galeries, la formation des turricules et les interactions avec d'autres organismes (Pelosi, 2008).

Les grandes galeries permettent l'aération du sol, le développement des racines, ainsi que l'augmentation de l'infiltration de l'eau qui limite le ruissellement et l'érosion (Lavelle et *al.*, 1999).

Les lombriciens assurent la décomposition, l'incorporation de la matière organiques et la formation des turricules en augmentant la fertilité du sol, ainsi que la disponibilité des éléments minéraux nutritifs pour les plantes et les autres organismes du sol, notamment les microorganismes tels que *Bacillus benzoovorans* (Silva, 2013).

Certains essais sur le terrain menés en Nouvelle-Zélande montrent que l'introduction et la propagation de vers de terre d'origine européenne ont entraîné une augmentation du rendement des pâturages semés (Stockdill, 1982).

2. Généralités sur les pesticides

2.1. Définition des pesticides :

Le terme pesticide désigne de manière générique l'ensemble des produits destinés à lutter contre les parasites animaux ou végétaux. Cet anglicisme, issu du latin *pestis* (épidémie, fléau) et *coedere* (tuer), souligne l'intention de ces substances à lutter contre des nuisances biologiques. Cependant, les mêmes matières actives employées en agriculture peuvent être également utilisées dans d'autres secteurs professionnels ou être destinées à un usage domestique ou médical. La plupart des pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse, sont des produits biologiquement actifs et donc intentionnellement toxiques pour certains organismes (Regnault-Roger et *al.*, 2005).

2.2. Classification des pesticides :

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, Les pesticides sont classés en fonction de leurs cibles, mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (Ming et *al.*, 2013).

2.2.1. Selon la cible :

- Insecticides Selon Batch (2011), les insecticides sont des substances actives ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs. Les insecticides organiques de synthèse sont des molécules carbonées, synthétisées, et se distinguent des insecticides inorganiques ou minéraux. Les insecticides actuels se répartissent en cinq familles principales qui sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, pyretrinoïdes et les nicotiniques. (Ramade, 2005).
- Fongicides Les fongicides destinés à éliminer les moisissures et parasites (champignons...). Le fongicide le plus ancien et le plus courant est le soufre et ses dérivés ainsi que le cuivre, le triazole et le benzène (Foubert, 2012).
- Herbicides Les herbicides sont destinés à lutter contre certains végétaux (les « mauvaises herbes » ou plantes adventices), qui entrent en concurrence avec les plantes à favoriser et à protéger en ralentissant leur croissance. L'herbicide le plus connu est le glyphosate (Roundup) qui inhibe la synthèse des acides aminés dans les plantes jugées « indésirables » pour les cultures (Foubert, 2012).
- Acaricides Les acaricides sont toxiques pour les acariens hématophages ou phytophages (araignées rouges) (Dajoz, 2006). On distingue en outre :
 - Les nématocides (toxiques pour les vers du groupe des nématodes).
 - Les rodenticides (contre les rongeurs).
 - Les molluscicides (contre les mollusques : limaces et escargots).
 - les corvifuges (contre les corbeaux)

2.2.2. Selon la famille chimique :

Les pesticides regroupent plus de 1000 substances appartenant à plus de 150 familles chimiques différentes, une famille chimique regroupe l'ensemble de molécules dérivées d'un groupe d'atomes constituant une structure de base (Clive et Tomlin, 2006), Les principaux groupes chimiques sont représentés dans le tableau (3).

Tableau 3. Les principales familles chimiques des pesticides (El bakouri, 2006).

| | Insecticides | Fongicides | Herbicides |
|------------|--|---|---|
| Minéraux | <ul style="list-style-type: none"> • Composés arsenicaux • Soufre • Composés fluorés • Dérivé de mercure • Dérivé de sélénium • Composé de base de silice, quartz, manganèse • Huiles de pétrole | <ul style="list-style-type: none"> • Sels de NH₄, de Ca, de Fe de Mg, K, Na • Sous forme de sulfates, de nitrates • Chlorures, Chlorates... | <ul style="list-style-type: none"> • Sel de Cuivre • A base de soufre • Composés arsenicaux • Huiles minérales |
| Organiques | <ul style="list-style-type: none"> • Organochlorés • Organophosphorés • Carbamates | <ul style="list-style-type: none"> • Phytohormones ; • Dérivés de l'urée • Carbamates • Triazines et Diazine • Dérivés de pyrimidines • Dérivés des dicarboximides • Dérivés des thiadiazine et thiadiazoles | <ul style="list-style-type: none"> • Carbamate et Dithiocarbamates • Dérivés des benzène • Dérivés des quinones • Amides • Benzonitriles • Toluidines • Organophosphorés |
| Divers | <ul style="list-style-type: none"> • Pyrethrine de synthèse • Produits bactériens • Répulsif | <ul style="list-style-type: none"> • Dicamba • Pichlorame • paraquot | <ul style="list-style-type: none"> • Carboxines • Chloropicrine • Doguanides • Formol |

2.3. Le glyphosate :

2.3.1. Définition :

C'est un herbicide organophosphoré (Tsuioshi et *al.*, 2009), de formule moléculaire (C₃H₈NO₅P), il est appelé par les chimistes N-(phosphonométhyl) glycine. (Gounari, 2006 ; Hu et *al.*, 2008).

C'est l'herbicide le plus vendu dans le monde depuis son arrivée sur le marché en 1974 sous la formulation commerciale « Roundup » (Monsanto, Etats-Unis). (Mazzella et *al.*, 2009).

Il figure aujourd'hui sur le marché dans plus d'une dizaine de préparations commerciales (Brex, Glyphos, Roundup, Kalach... etc.). Il s'agit d'un herbicide total, pénétrant par les feuilles, puis transporté de manière systémique jusqu'aux racines. (Delabays et Bohren, 2007 ; Druart et *al.*, 2011), le produit le plus courant contient 360 g de glyphosate/litre (FAO., 1987).

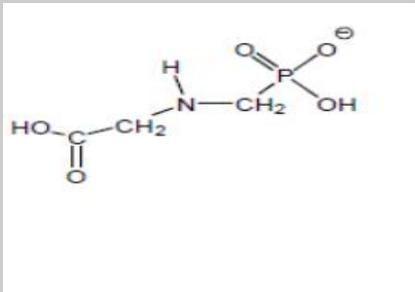
Le glyphosate seul est peu efficace car elle n'adhère pas aux feuilles ni ne les pénètre facilement. Pour accroître sa solubilité, il est donc habituellement préparé sous forme de sel d'isopropylamine ou bien des additifs ou des surfactants lui sont ajoutés pour le fixer sur les plantes (Le Mer et *al.*, 2009).

Selon xavier remongin, (2019) ; Jean-François Monier, (2017) et Sierakowski, (2019) le glyphosate est présent dans le Roundup de Monsanto depuis 1974. C'est le pesticide le plus utilisé dans le monde. Avec une production de 620 000 tonnes en 2008. L'utilisation des herbicides au glyphosate a beaucoup augmenté dans le monde au cours des dernières décennies.

2.3.2. Propriétés physicochimiques :

Le glyphosate est très polaire, il est très soluble dans l'eau mais insoluble dans la plupart des solvants organiques. Dans les sols, il est rapidement adsorbé (Ibanez et *al.*, 2005). Tableau (4).

Tableau 4. Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate (Couture et *al.*, 1995 ; Baylis, 2000).

| Molécule | Formule | Propriétés physico-chimiques |
|------------|---|--|
| Glyphosate |  | <p>Poids moléculaire [g/mol] = 169.1</p> <p>Pression de vapeur [Pa] 1.31.10⁻⁵ (T = 25°C)</p> <p>Coefficient de dissociation (PKa)</p> <p>PKa1=2.34à 20°C (acide phosphate)</p> <p>PKa2=5.73à 20°C (acide secondaire)</p> <p>PKa3=10.2à20°C (acide carboxylique)</p> <p>Solubilité (eau) = 12g/L à 25°C</p> <p>Stabilité :</p> <p>Eau : DT50 = 2 à 91 jours (photodégradation)</p> <p>Sols : DT50=3 à 174 jours.</p> <p>KD = 61g/m³ (coefficient d'adsorption très élevé)</p> <p>Point de fusion = 200°C</p> |

Autres propriétés

- **Solubilité** : le glyphosate est modérément soluble dans l'eau (10 à 12 g/L à 20°C et pH 2) et insoluble dans la plupart des solvants organiques. Le sel d'isopropylamine est très soluble dans l'eau : 1050 g/L à 25 °C
- **Réactivité** : le glyphosate et son sel d'isopropylamine sont des produits stables, toutefois le glyphosate peut réagir vivement avec les bases fortes ; la réaction est exothermique. Il attaque le fer et l'acier galvanisé en libérant de l'hydrogène.
- **Décomposition** : par combustion, le glyphosate se décompose en dégageant des fumées toxiques contenant notamment des oxydes d'azote, des oxydes de phosphore et des oxydes de carbone. (Institut national de l'environnement industriel et des risques 2020).

2.3.3. Mode d'action :

Le glyphosate est un herbicide non sélectif, ce qui signifie qu'il tuera la plupart des plantes. Il empêche les plantes de synthétiser les protéines nécessaires à la croissance. Le glyphosate bloque la biosynthèse des acides aminés aromatiques (Fig.9).

Plus précisément, il inhibe un des enzymes impliqués dans la biosynthèse de ces acides aminés. Le glyphosate arrête une voie enzymatique spécifique, la voie de l'acide shikimique (Gauvrit, 2007).

La voie de l'acide shikimique est nécessaire pour les plantes et certains micro-organismes, il s'agit de la 5- énoypyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (EPSPS), une enzyme située majoritairement dans les chloroplastes et essentielle à la synthèse des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) (Pierre-Louis, 2013).

En absence de glyphosate la phosphoénolpyruvate synthétise l'enzyme énoyl-pyruvyl-shikimate-3-phosphate (EPSP) menant à la formation du chorismate essentiel pour la synthèse des protéines ; de lignine ; et de l'auxine (Gauvrit, 2007).

En bloquant cette étape de la voie métabolique, l'herbicide induit une accumulation d'acide shikimique. Il en résulte, une diminution du taux de synthèse protéique et de la formation de certains composés phénoliques. La cessation de la croissance qui en découle est alors suivie de la nécrose des tissus qui aboutit à la mort de la plante (Kouassi Brou et *al.*, 2012 ; Pierre-Louis, 2013).

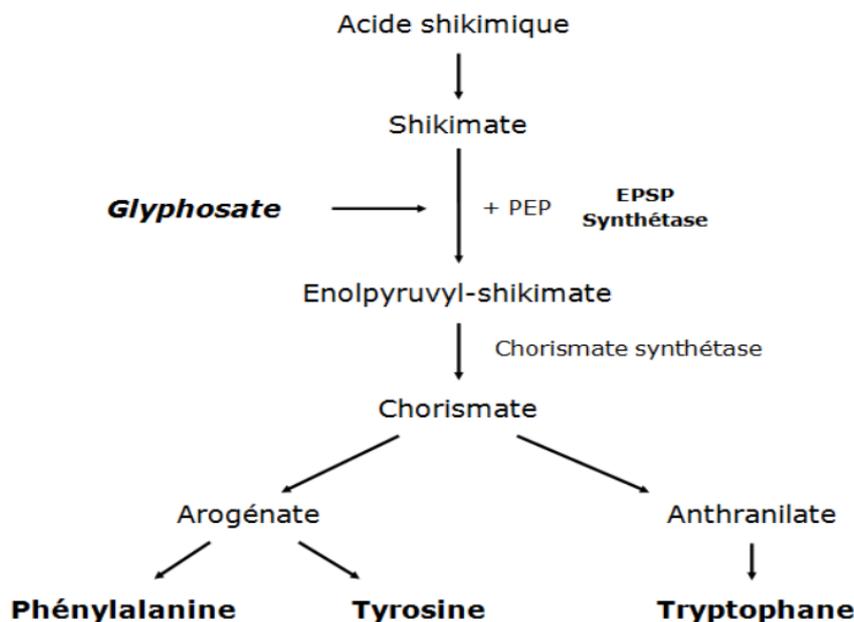


Figure 9. Inhibition de la synthèse d'acides aminés aromatiques par l'action de l'herbicide glyphosate sur la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), enzyme de la voie du shikimate (Helander *et al.*, 2012)

3. Dispositif expérimental :

3.1. Présentation du site de collecte des vers de terre :

3.1.1. Situation géographique :

La wilaya de Tébessa fait partie des hautes plaines constantinoises. Elle est située à l'extrême Nord-est de l'Algérie. Elle est délimitée au Nord par la wilaya de Souk-ahras, à l'Ouest par la wilaya d'Oum el Bouaghi et Khenchela, au Sud par la wilaya d'El Oued et à l'Est, sur 300 Km de frontières, par la Tunisie. La wilaya de Tébessa avec ses 13878 Km, se rattache naturellement à l'immense étendue steppique du pays.

3.1.1.1. Tébessa (8.11632 35° 24' 19" Nord, 8° 6' 59" Est) :

La Basilique représente le 1er site de prélèvement, est localisée au Nord-est de la commune de Tébessa, le terrain d'échantillonnage est un petit jardin dans des cultures maraichères (Fig.10).

3.1.1.2. Bekkaria (8.24215 35° 22' 20" Nord, 8° 14' 32" Est) :

Le 2ème site est situé dans la région de Bekkaria à 12 Km de la wilaya de Tébessa. Le terrain d'échantillonnage est un petit jardin à l'intérieur de l'unité de la protection civile (Fig.10).

3.1.1.3. Ain Zerga (8.26715 35° 38' 12" Nord, 8° 16' 2" Est) :

Le dernier site est situé dans la région de Ain Zerga à 29 Km de la wilaya de Tébessa (Fig.10).

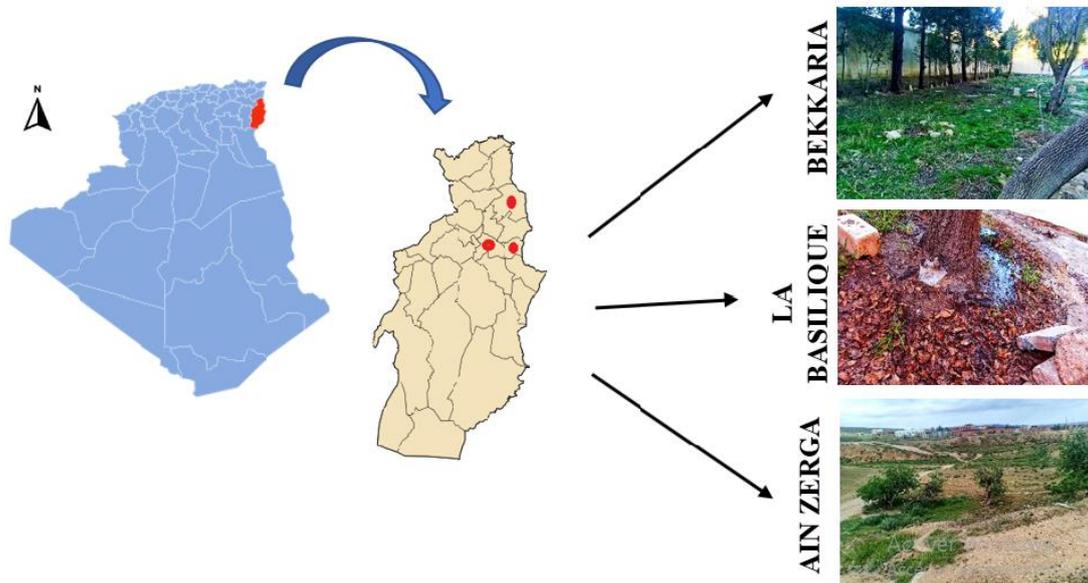


Figure 10. Carte géographique de Tébessa, avec les différents sites de collection des vers de terre.

3.2. Prélèvement des Echantillons :

La collecte s'est déroulée pendant la saison d'activité des vers de terre de janvier 2021 au cours de plusieurs sorties sur plusieurs terrains, particulièrement durant les jours pluvieux pour choisir l'espèce la plus abondante. Pour extraire les vers de terre, nous avons utilisé une méthode physique de Bouché (1972) qui consiste à :

- Désherber le sol sur le point de prélèvement.
- Remonter le sol, jusqu'à obtention d'une cavité d'une profondeur de 30 cm.
- Récolter les individus qui émergent du sol et sélectionner les individus adultes.
- Trier soigneusement le sol et collecter les vers de terre qu'il contient (Fig.11)

Ainsi une espèce abondante dans le milieu est choisie pour l'étude au laboratoire.



Figure 11. Les étapes de prélèvement des vers de terre sur le terrain (photo personnelle 2021).

3.3. Choix de l'espèce :

Notre choix s'est porté sur *Aporrectodea caliginosa* (Fig.12). Les vers de terre sont prélevés avec leur sol naturel où elles vivent ensuite conservées dans des terrariums, au laboratoire, ils sont nourris avec du terreau. Leur longueur environ de 11cm, leur largeur environ de 5mm et leur poids environ 0,890g.



Figure 12. *Aporrectodea caliginosa* (photo personnelle 2021)

3.4. Systématique de *Aporrectodea Caliginosa* :

Règne : Animalia

Embranchement : Annelida

Classe : Clitellata

Ordre : Crassiclitellata

Famille : Lumbricidae

Genre : *Aporrectodea*

Espèce : *Aporrectodea Caliginosa* (Savigny, 1826)

3.5. Travaux au laboratoire

3.5.1. Rinçage et tri des vers de terre

Récupérer puis placer les vers de terre dans un récipient contenant de l'eau pour les rincer. Certains vers sont très petits, et demandent une capacité d'observation particulière. Pour chacune des boîtes :

- Compter le nombre de vers présents : les vers adultes endommagés représentant une partie antérieure intacte (clitellum compris) sont pris en compte pour l'identification et l'abondance. Cependant, les vers endommagés avec seulement la partie postérieure sont exclus du comptage.
- Déterminer ensuite la masse totale (y compris tous les vers endommagés). Ensuite, les vers collectés sont triés et comptés selon leur stade de maturité (Fig.13) :
 - Juvéniles : Sans clitellum ni tubercules pubères.
 - Sub-adultes: Avec seulement les tubercules pubères.
 - Adultes : Ayant un clitellum ainsi que des tubercules pubères



Figure 13. Triage des vers de terre (photo personnelle 2021).

3.6. Méthode d'identification et description des espèces :

L'identification a été effectuée au niveau de laboratoire de physiologie animale à la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences exactes (Université de TEBESSA).

L'identification est effectuée selon la méthode établie par Bouché (1972), basée sur des critères morphologiques variables selon les espèces, dont plusieurs concernent les organes sexuels, d'où l'intérêt de sélectionner des adultes. Le clitellum est un critère primordial pour l'identification. En effet, sa forme (annulaire ou en selle), ainsi que sa couleur et sa position sur le corps du lombric sont propres à chaque espèce. Sur sa face ventrale, on peut observer plus au mois distinctement un puberculum de formes différentes selon les espèces. La position des pores mâles est également un bon critère d'identification, et dans une moindre mesure la position des tumescences génitale qui ne sont pas aussi facilement observables que les organes mâles.

Les animaux sont d'abord étudiés morphologiquement, à l'état vivant (avant fixation) en notant la longueur du corps, la couleur du tégument, le gradient de coloration, et le poids. Les vers de terre sont ensuite conservés dans l'alcool 70%, puis observés sous loupe binoculaire en vue d'une identification basée sur des caractéristiques externes (Fig.14).



Figure 14. Étapes d'identification des vers de terre au niveau de laboratoire A/pri des mesures du ver de terre ; B/pri de poids du ver de terre C/consevation du ver de terre dans l'Alcool 70% ; D/Observation du ver de terre sous la loupe binoculaire (photo personnelle 2021).

3.7. Conditions expérimentales :

Selon Heimbach, (1984), l'élevage est réalisé un mois avant les expériences pour une meilleure adaptation dans les terrariums qui contiennent le sol de collecte. Tous les vers de terre analysés ont préalablement été nettoyés avec de l'eau, séchés avec du papier absorbant. Ils ont ensuite été mis sur du papier filtre, dans des boites de Pétri pendant 24 heures (Fig.15). L'objectif est de vider leur estomac du sol ingéré. Les vers de terre utilisés dans cette étude étaient des adultes avec un clitellum bien développé.

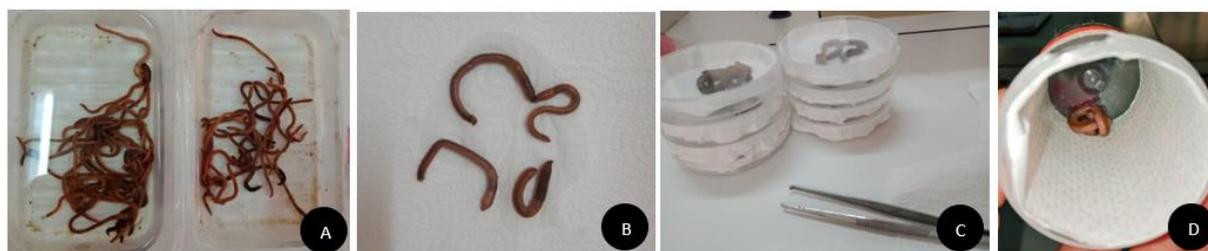


Figure 15. Les étapes du test A/rinçage du vers de terre avec l'eau de robinet ; B/Essuyage du vers de terre ; C/Mettre les vers de terre dans un boite de pétri avec un papier filtre pour vider leurs estomacs ; D/ mettre un vers dans une fiole cylindrique dont les bords intérieurs sont couverts avec du papier filtre imbibé d'herbicide Glyphon. (Photo personnelle 2021)

3.8. Test de toxicité :

Le but de ces essais est de préciser les concentrations létales 50 et 90 (CL50 et CL90) de l'herbicide Glyphon à l'égard de *A. caliginosa*. Les essais sont conduits avec 10 répétitions comportant chacune 10 individus. De plus, la mortalité des vers de terre est suivie pendant 48h.

3.8.1. Traitement :

Il est recommandé d'utiliser des fioles de verre à fond plat d'environ 8 cm de hauteur et 3 cm de diamètre. Les parois de ces fioles sont revêtues de papier filtre coupé à une dimension telle qu'il n'y ait guère de chevauchement. La substance d'essai est dissoute dans l'eau de façon à obtenir une série de concentrations connues. Un ml de solution est versé à la pipette dans chaque fiole et évaporé à sec sous un léger courant d'air comprimé filtré ; pendant qu'elle sèche, on fait tourner la fiole selon un axe horizontal. La fiole du groupe témoin doit être traitée avec 1 ml d'eau désionisée. Après séchage il faut ajouter 1/2 ml d'eau désionisée à chaque fiole afin d'humidifier le papier filtre. Chaque fiole est fermée par un couvercle ou par un film de plastique, avec un petit trou pour la ventilation.

Pour chaque dose, le minimum requis est de dix expériences identiques avec un ver par fiole. On ne doit pas utiliser plus d'un ver par fiole parce que la mort de l'un deux peut exercer une influence défavorable sur les autres vers du même récipient. Dans chaque essai, on utilise une série de doses et dix fioles témoins. Les vers doivent être gardés sur du papier filtre humide pendant 3 heures avant d'être placés dans les fioles d'essai, de façon qu'ils puissent évacuer le contenu de leur intestin. Les vers sont lavés et séchés avant l'expérience. Au cours de l'essai, les fioles sont posées sur le côté sur des plateaux. La température d'essai est de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Les essais sont réalisés dans le noir et pendant une période de 48 heures. On considère les vers comme morts quand ils ne répondent pas à un léger stimulus mécanique appliqué à leur extrémité antérieure. On doit noter tous les symptômes comportementaux ou pathologiques (SUR, E. D. T., & SANS, D. U. S. (2014)).

3.9. Méthodes de dosage :

3.9.1. Dosage des Protéines totales :

La méthode réalisée pour quantifier les protéines est celle de Bradford (1976). La lecture des absorbances est mesurée à une longueur d'onde de 595 nm d'onde par spectrophotomètre (JENWAY 3600) en utilisant l'Albumine Sérum bovine (BSA) comme standard.

3.9.2. Dosage du glutathion (GSH) :

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker et Cory. (1988).

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} \text{ /mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

ΔDo : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol ($-\text{SH}$).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

3.9.3. Dosage de l'activité GST (glutathion S-transférase) :

La mesure de l'activité glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et *al.* (1974). La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre UV/visible contre un blanc contenant 200 μl d'eau distillée à la place du surnageant.

L'activité est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / m}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} \text{ /mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

V_t : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

3.6.4. Dosage de l'activité Acétylcholine Estérase (AChE)

L'activité spécifique de l'AChE a été déterminée selon la méthode d'Ellman et *al.* (1961). La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm.

L'activité Acétylcholine Estérase est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do/min}{1,36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : nanomole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (nM/mn/mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

1,36 x 10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB.

V_t : volume total dans la cuve.

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

3.10. Analyse statistique des résultats

Dans notre étude, pour mieux visualiser les résultats obtenus, la représentation graphique choisie est celle des histogrammes en utilisant Prism. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au Prism. Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$). Une analyse de la variance à une seule critère de classification (concentration) a été effectuée en utilisant le test ANOVA à un seul facteur.

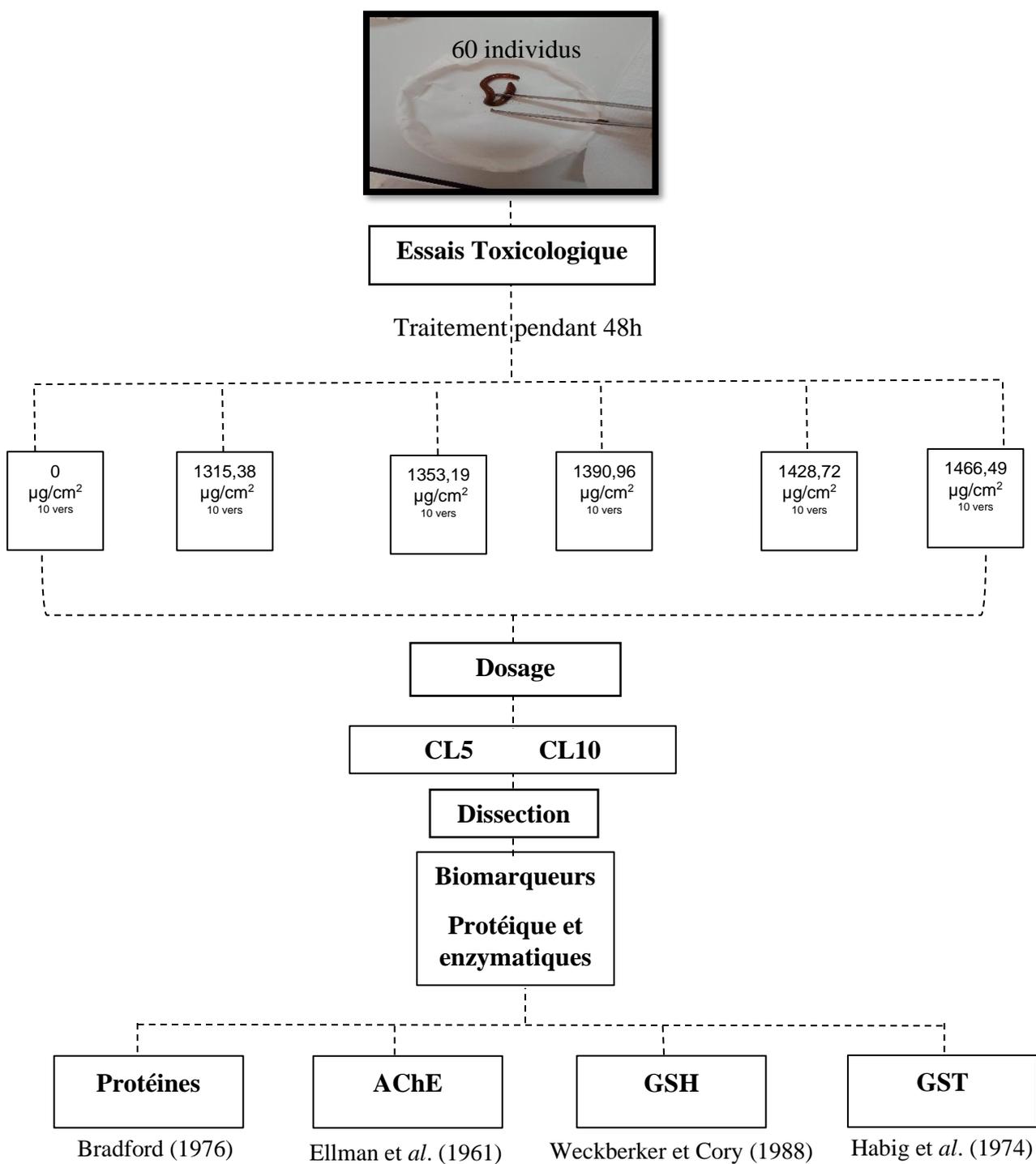


Figure16. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats

1. Identification :

Après la démarche de détermination au laboratoire, l'étude taxonomique des populations de vers de terre dans les trois sites d'échantillonnage nous a révélé l'existence de trois espèces appartenant à la classe des Oligochaeta, famille des Lumbricidae,

Les caractéristiques morphologiques des espèces de vers de terre récoltées sont représentées dans le tableau (5) :

Tableau 5. Comparaison entre les caractéristiques des différentes espèces de vers de terre.

| Espèce | <i>A.caligionsa</i> | <i>A.rosea</i> | <i>E.fetida</i> |
|-----------------------------|--|--|--|
| Caractéristique | | | |
| Le poids (g) | 0,890 | 0,570 | 0,699 |
| Longueur (cm) | 11 | 9 | 8,5 |
| Diamètre (mm) | 5 | 3 | 3 |
| Couleur | Marron avec un gradient (D/V) | Marron, avec des zones inter segmentaires jaune | Rougeâtre |
| Nombre de segments | 142 | 90 | 101 |
| Forme | Cylindrique queue plate ou trapézoïdale | Cylindrique avec Aplatissement Caudale léger | Cylindrique avec Aplatissement Clitellienne |
| Prostomium | Epilobique | Epilobique | Epilobique |
| Clitellum | Entre le 24 ^{me} et 32 ^{me} segment | Entre le 26 ^{me} et 32 ^{me} segment | Entre le 27 ^{me} et 34 ^{me} segment |
| Soies | Etroitement géminées | Etroitement géminées | Etroitement géminées |
| Tubercula pubertatis | Entre le 30 ^{me} et le 33 ^{me} segment | Entre le 28 ^{me} et le 30 ^{me} segment | Entre le 31 ^{me} et le 33 ^{me} segment |

2.Toxicité de l’herbicide Glyphosate :

L’herbicide Glyphon a été utilisé aux concentrations suivantes : 1315,38 ; 1353,19 ; 1390,96 ; 1428,72 et 1466,49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

L’étude de l’effet létal induit par l’herbicide Glyphon après son application est résumée dans le tableau (6). Les résultats montrent que la valeur de la CL50 est 205,89 fois supérieure à la dose recommandée aux agriculteurs (RAD).

Tableau 6. Concentrations létales (CL50 et CL90) en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et leurs intervalles de confiance après 48 heures d’exposition topique.

| CL50 [limite inférieure ; limite supérieure] | CL90 [limite inférieure ; limite supérieure] |
|--|--|
| 1483,71 [1399,29 ; 1479,25] | 1582,01 [1538,66 ; 1626,59] |

La courbe suivante (Fig.17) représente l’évolution des probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations.

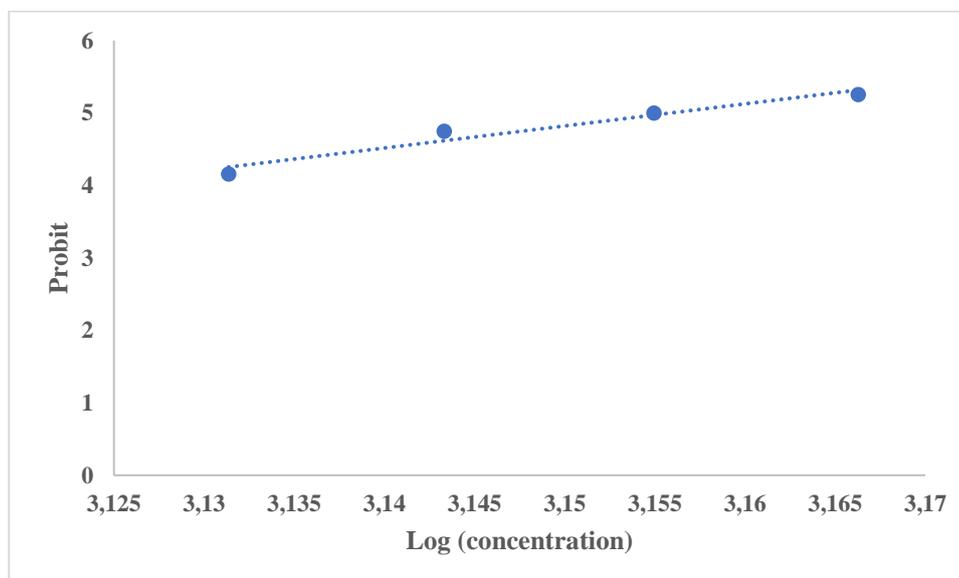


Figure 17 : Efficacité de l’herbicide Glyphon chez les adultes des vers *A. caliginosa* après 48 heures d’exposition : Analyse des probits.

Le tableau (07) résume les différents paramètres statistiques liés à l’analyse des probits. Les valeurs des coefficients de régression sont proches de 1 indiquant une forte liaison entre la concentration de l’herbicide et le taux de mortalité.

Tableau 7. Les différents paramètres statistiques relatif à l’analyse des probits.

| Temps d’exposition (heures) | Equation de régression | Slope | Coefficient de régression (R^2) |
|-----------------------------|------------------------|-------|-------------------------------------|
| 48 | $y = 30,472x - 91,167$ | 5,234 | 0,9537 |

2.1. Effet sur la morphologie

Des changements morphologiques tels que le rétrécissement, le gonflement, le changement de couleur, la lyse de la paroi et l'effilement paraissent à différentes régions du corps des vers traités avec les différentes concentrations après 48 heures d'exposition. Ces anomalies s'accroissent avec l'augmentation de la concentration (Fig.18).

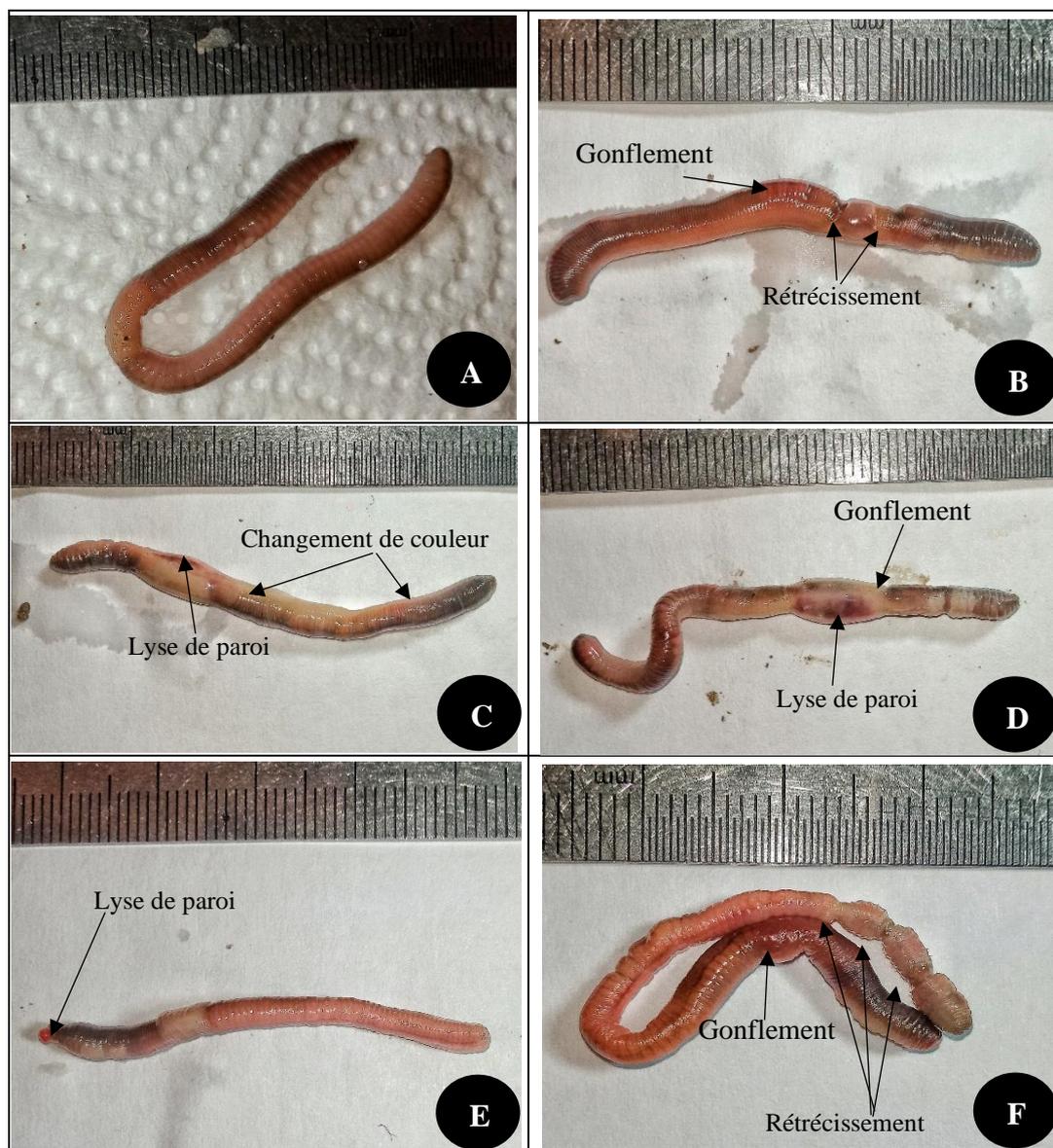


Figure 18. Les anomalies morphologiques des vers exposés à l'herbicides Glyphon à différentes concentrations ; A : Témoin ; B/C : 1353,19 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; D : 1390,96 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; E : 1428,72 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et F : 1466,49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

2.2. Effets de Glyphon sur les biomarqueurs

Les activités de l'AChE, de la GST et la quantité de GSH ont été mesurées au niveau des différentes parties du corps d'*A. caliginosa*.

2.2.1. Effet du Glyphon sur la quantité totale de protéines :

La quantification des protéines a été faite à partir d'une courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité du standard d'albumine. La droite de régression a été déterminée comme suit : $Y = ax + b$ avec un coefficient de détermination : R^2 (Fig. 19).

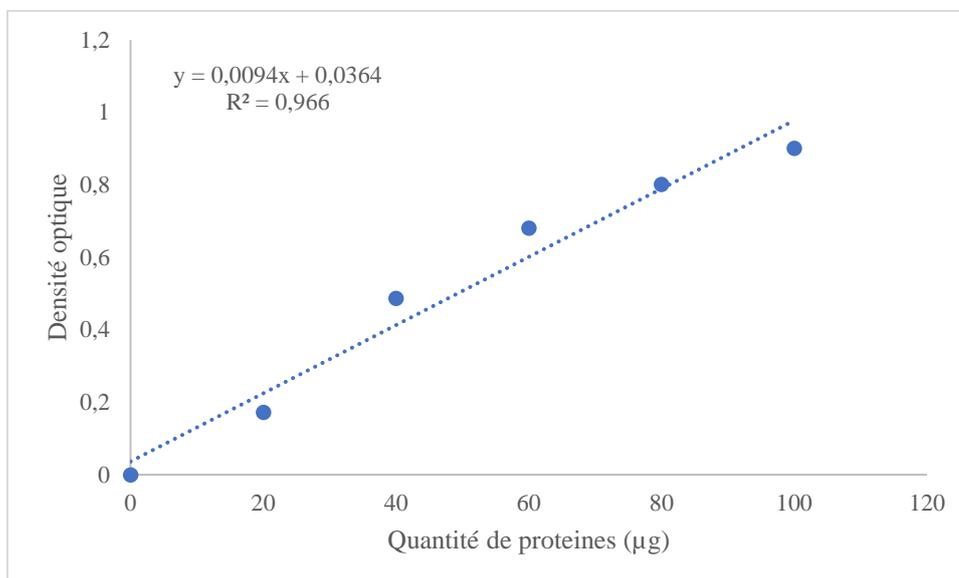


Figure 19. Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

La méthode réalisée pour quantifier les protéines est celle de Bradford (1976).

La figure (20) illustre les effets du Glyphon à 2 différentes concentrations CL5 et CL10 sur le taux des protéines totales dans les parties postérieures des vers de terre. Inversement à la concentration CL10, la concentration CL5 provoque un effet significatif ($p=0,029$) sur la quantité de protéines totale par rapport aux témoins.

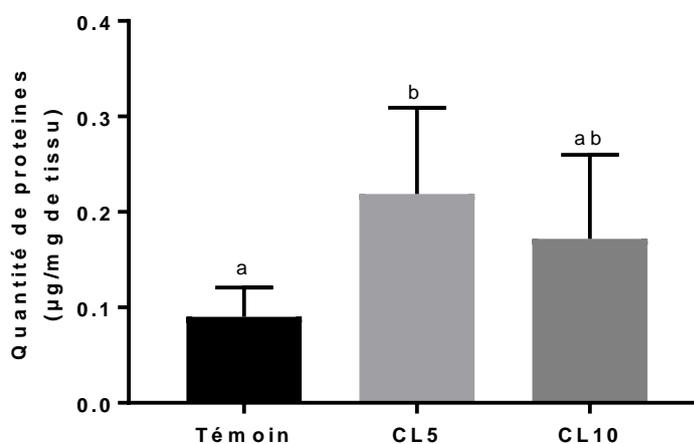


Figure 20. Effet des concentrations sub-létales de l'herbicide Glyphon sur la quantité de protéines totales après 48 heures d'exposition.

2.2.2. Effet du Glyphon sur l'activité Glutathion-S-Transférase

La mesure de l'activité glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et *al.* (1974).

L'effet du Glyphon sur l'activité de GST au niveau de la partie clitelienne des vers de terre traités et témoins est illustré dans la figure (21). L'activité de GST chez les séries traitées ne présente pas de différence significative pendant 48h ($p=0,125$) par rapport aux témoins Tableau (8).

Tableau 8. Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) au niveau de la partie clitelienne de corps d'*A.caliginosa* durant la période d'exposition au Glyphon (concentrations sub-létales) ($m \pm SD$; $n= 6$). (Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $p < 0,05$).

| Séries | Témoin | CL5 | CL10 |
|---------------|---------------|-------------|-------------|
| Temps(heures) | | | |
| 48 | 199,96±157,67 | 83,80±73,93 | 78,18±41,81 |

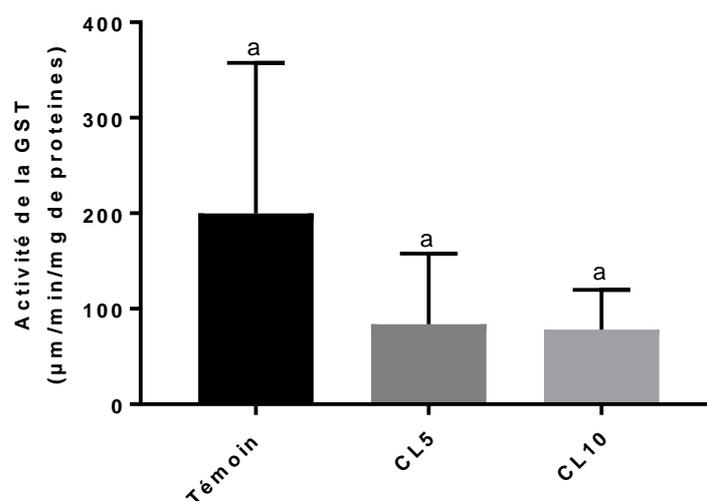


Figure 21 : Effet de concentrations sub-létales de Glyphon sur l'activité Glutathion-S-Transférase (GST) au niveau des parties clitelienne des vers de terre.

2.2.3. Effet du Glyphon sur l'activité GSH

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker et Cory. (1988). La figure (22) illustre l'effet de concentrations croissantes de Glyphon sur la quantité GSH. Nos résultats montrent que dans les deux concentrations testées, l'herbicide ne provoque aucune variation significative ($p=0,694$) de la quantité de GSH chez les vers de terre traité par rapport aux témoins Tableau (8).

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 9. Activité spécifique de la GSH (nM/mg de protéines) au niveau du partie de corps d'*A.caliginosa* durant la période d'exposition au Glyphon (concentrations sub-létales) ($m \pm SD$; $n=6$). (Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $p < 0,05$).

| Séries / Temps (heures) | Témoin | CL5 | CL10 |
|-------------------------|--------------|---------------|---------------|
| 48 | 545,68±78,08 | 613,66±112,07 | 595,61±202,37 |

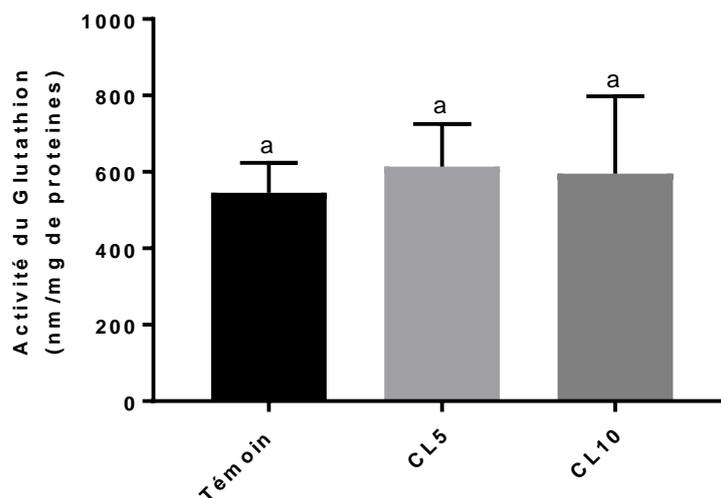


Figure 22. Effet de concentrations sub-létales de l'herbicide Glyphon sur la quantité de GSH dans la partie post-clitellienne des vers de terre.

2.2.4. Effet du Glyphon sur l'activité Acétylcholinestérase (AChE)

L'activité spécifique de l'AChE a été déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961). La figure (23) met en évidence l'effet des différentes concentrations de Glyphon sur l'activité AChE au niveau des parties antérieures des vers de terre. L'activité de l'AChE chez les séries traitées avec les concentrations CL10 et CL5 ne manifestent aucune différence significative par rapport aux séries témoins ($p=0,151$) après 48 heures d'exposition Tableau (10).

Tableau 10. Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) au niveau de la partie antérieure du corps des vers *A. Caliginosa* après 48 heures d'exposition au Glyphon ($m \pm SD$; $n= 6$). (Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$).

| Séries / Temps (heures) | Témoin | CL5 | CL10 |
|-------------------------|------------|-----------|-----------|
| 48 | 12,79±7,66 | 8,36±3,98 | 3,70±2,69 |

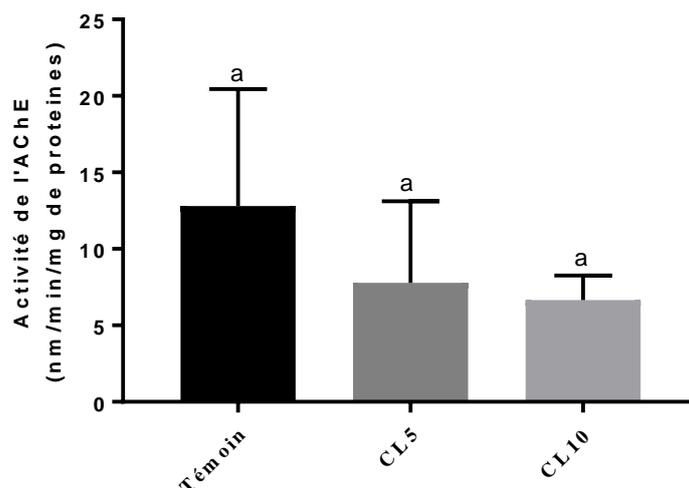


Figure 23. Effet de concentrations croissantes de l’herbicide Glyphon sur l’activité Acétylcholinestérase (AChE) dans les parties postérieures des vers de terre après 48 heures d’exposition.

2.2.5. Corrélation entre les différents paramètres :

Selon le tableau (11), on constate qu’il n’y a qu’une seule corrélation entre la quantité totale de protéines et la quantité de GSH chez les séries traitées à la CL5 de Glyphon.

Tableau 11. Corrélation entre les différents paramètres

| | | Protéines | AChE | GST | GSH |
|-------------|------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| CL5 | Protéines | | $p=0,731$ NS | $p=0,627$ NS | $p=0,024^*$ |
| | AChE | -0,181 | | $p=0,197$ NS | $p=0,695$ NS |
| | GST | 0,297 | 0,689 | | $p=0,238$ NS |
| | GSH | -0,869 | -0,205 | -0,646 | |
| CL10 | Protéines | | $p=0,179$ NS | $p=0,912$ S | $p=0,838$ NS |
| | AChE | 0,630 | | $p=0,480$ NS | $p=0,775$ NS |
| | GST | -0,058 | 0,362 | | $p=0,292$ NS |
| | GSH | -0,108 | -0,150 | -0,518 | |

Discussion

L'utilisation de bio-indicateurs en toxicologie et écotoxicologie est une pratique courante dans le monde entier. Parmi les bioindicateurs, les vers de terre, escargots et les microorganismes du sol sont largement utilisés car ils sont la cible immédiate des produits phytosanitaires. Les vers de terre sont utilisés comme bioindicateurs pour évaluer la santé du sol en raison de leur disponibilité, facilité de manipuler et leur capacité d'améliorer la structure et la fertilité du sol (Mahajan *et al.*, 2007 ; Curry *et al.*, 2008 ; Muthukaruppan et Ganasekaran, 2010).

À ce jour, un certain nombre d'essais normalisés utilisant la mortalité, la reproduction et le comportement des vers de terre sont disponibles (Little, 1990 ; Doving, 1991 ; Scherrer, 1992).

L'objectif essentiel de notre étude consiste à évaluer les effets de GLYPHON chez les vers de terre *A.caliginosa*. Ceci est basé sur des paramètres manipulés au laboratoire afin de déterminer les concentrations létales (CL50 et CL90) de l'herbicide ainsi que ses effets sur la morphologie et les biomarqueurs des vers de terre.

1. Identification

Le sol constitue l'un des plus grands réservoirs de biodiversité et de ressources génétiques de notre planète, mais malgré la richesse de la biodiversité du sol, les oligochètes manquent des études jusqu'à présent.

La pollution environnementale provoque une perte de la qualité du sol en entraînant la disparition d'espèces d'Oligochètes non encore répertoriées. En effet, la connaissance des Oligochètes apportera une meilleure contribution à la conservation des sols en les utilisant comme des bio-indicateurs de pollution (Cox *et al.*, 2004).

La synthèse bibliographique de la diversité des Lombricidae en Algérie révèle la présence de 41 espèces signalées par plusieurs auteurs. Le nombre d'espèces déterminées diffèrent dans les différentes régions du pays : 31 espèces signalées par Omodeo *et al.*, (2003), 18 espèce dans l'est algérien (Bazri *et al.*, 2013), 11 espèces dans le secteur de Metidja (Baha ,1997), 11 espèces dans le secteur constantinois (Ouahrni, 2003), 5 espèces dans la vallée de la Soummam dans la Kabylie (Kherbouche *et al.*, 2012), 4 espèces sont trouvées dans la région de Annaba (Zeriri *et al.*, 2013) et 3 espèces dans la région de Biskra (Boukria 2012).

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans notre travail, nous nous sommes basés sur la morphologie externe et la biométrie. En nous servant de ces critères, nous avons pu reconnaître les espèces décrites auparavant et définir les espèces échantillonnées.

Dans les trois sites, 385 individus ont été collectés. L'identification a révélé 3 espèces appartenant à la famille lumbricidae. Ainsi, les espèces identifiées sont : *Aporrectoda caliginosa*, *Aporrectoda Rosea* et *Eisenia fetida*. Les deux espèces *A.caliginosa* et *A.Rosea* ont été décrites ensemble dans les sites Bekkaria (292 individus) et Tébessa (53 individus). D'autre part, le site de Ain Zerga (40 individus) abritait les 2 espèces *A.caliginosa* et *E.fetida*.

A.caliginosa est une espèce d'origine paléarctique avec une distribution mondiale. Bien que typiquement est une espèce holarctique, elle a été introduite dans le monde entier grâce aux pratiques culturelles européennes et l'utilisation répandue de cette espèce comme appât de pêche de poissons (Blakemore, 2006), Elle est caractérisée par la couleur marron avec des gradients dorso-ventral et antéro-postérieur. C'est l'espèce la plus commune dans la région de Tébessa (Bouazdia et Habes, 2017). Elle est fréquente dans les sites de El Merdja (Litim&Zoughlami, 2015), Hammamet et Elma Labiod (Labchaki & Mrah, 2016) ainsi que Negrine et Gourigueur (Saadi & Menasria, 2017). Kherbouche et al., (2012) ont signalé la présence de cette espèce dans la région de Bejaia, El-Okki et al. (2013) dans l'Oued El kebir, Baha (1997) dans la plaine de Metidja, Bazri (2015), Amziane et Oudachéne (2016) dans la kabylie Tala Athmane et Mâatkas, Zeriri et al. (2013) dans la région de Annaba ainsi que Kourtel et al. (2017) dans le Nord Est de la Wilaya de Batna. Smith (1917), Stephenson (1930) et Omodeo (1948) l'ont caractérisé comme l'espèce de vers de terre la plus communément trouvée.

D'autre part, l'espèce *A. rosea* est une espèce assez commune dans le paléarctique entier. Il paraît que ses besoins écologiques sont très similaires à ceux d'*A. caliginosa* (Omodeo & Martinucci, 1987).

Elle a été trouvée dans tous les étages bioclimatiques en Algérie (Bazri et al., 2013). Cette espèce est déjà recensée dans la région de Bejaia par Kherbouche et al., (2012), Amziane et Oudachéne (2016) dans la kabylie Tala Athmane et mâatkas. Elle est fréquente dans les sites d'ElMerdja (Litim&Zoughlami, 2015), Hammamet et Elma Labiod (Labchaki & Mrah, 2016) et Negrine (Saadi & Menasria, 2017). Ce résultat est comparable à celui de Bazri, (2015) qui constatait que cette espèce fréquente les zones semi-arides et arides dans les points où il y a suffisamment d'eau.

L'espèce *E. foetida* n'a été collectée que dans le site d'Ain Zerga. C'est une espèce d'origine européenne, elle appartient au groupe des vers épigés (Bouché, 1977). Cette espèce est connue sous le nom de vers de fumier, elle a été trouvée dans le climat semi-aride inférieur (Bazri et al., 2013) et dans des endroits chauds et secs (Zeriri et al., 2013). Cette catégorie écologique vit sur ou près de la surface du sol, typiquement dans les couches de la litière des forêts ou dans les matériaux riches en matière organique (comme le compost) et ne creuse pas (Lee, 1985 ; Römbke et al., 2005). Aussi, c'est une espèce ubiquitaire avec une distribution mondiale (Domínguez & Edwards, 1997).

2. Etude éco toxicologique :

2.1. Toxicité :

Les vers de terre ont été utilisés comme animaux modèles pour étudier les effets des produits agrochimiques sur la faune du sol (Cock et al., 1980 ; Gobi et al., 2004). Les herbicides ont été rapportés comme ayant un effet négatif sur la survie des vers de terre (van Gestrel et van Dis 1988 ; Robidoux et al. 1999).

La mortalité des vers de terre est le premier paramètre abordé. Ainsi, *A. caliginosa* est exposé au Glyphon, par contact dans du papier filtre pendant 48 heures, à des concentrations croissantes 1315,38 ; 1353,19 ; 1390,96 ; 1428,72 et 1466,49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Les résultats obtenus au cours de notre étude révèlent un effet important de Glyphon sur la survie des vers de terre avec une relation dose-réponse. Ainsi, la CL50 est égale 1483,71 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, alors que la CL90 est égale à 1582,01 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Des résultats similaires ont été rapportés par Wang et al. (2012) qui ont trouvé 566,1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ comme valeur CL50 lors de l'évaluation de la toxicité aiguë du glyphosate (pureté 85%) sur *E. foetida*. Ainsi, Mohamed et al. (1995) ont exploré les impacts sur la survie et la masse corporelle du ver de terre *A. caliginosa* et ont observé des effets toxiques à des doses proches de la CL50 (100-1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dus au glyphosate.

Les résultats montrent que la valeur de la CL50 est 205,89 fois supérieure à la dose recommandée aux agriculteurs (RAD). Donc ce produit peut être utilisé à RAD sans avoir d'effets toxiques sur la survie des vers de terre. Nos résultats sont en accord avec Toualy et al. (2017) qui n'ont constaté aucune mortalité d'*E. foetida* pour tous les pesticides testés, après une exposition aux concentrations de RAD par contact sur papier filtre. Aussi Correia et Moreira

(2010) ont indiqué qu'il n'y avait pas de mortalité pour la même espèce de ver de terre exposée à 1-1000 mg/kg de glyphosate dans le sol.

Plusieurs autres études ont démontré l'activité létale des herbicides et des pesticides sur les vers de terre et des effets histopathologiques (Gupta et Sundaraman 1988 ; Sorour et Larink 2001 ; Lydy et Linck 2003 ; Gobi et *al.* 2004 ; Rombke et *al.* 2007 ; Mosieh 2009). Correia et Moreira (2010) ont rapporté qu'une mortalité de 100 % a été observée quelques heures après l'exposition des vers de terre à une dose de 1000 mg/kg de 2,4-D. Brown (1978) a également rapporté que certains herbicides sont directement toxiques pour les vers de terre. Pochron et *al.* 2019 a révélé que le glyphosate seul était plus toxique pour les vers de terre que l'une ou l'autre des deux formulations de Roundup® couramment utilisées en milieu urbain. Cette différence de résultats entre les différentes études est peut-être due aux adjuvants trouvés dans les herbicides à base de glyphosate (HBG). Ainsi, selon Defarge et *al.* (2016) et Defarge et *al.* (2018) la proportion de ces adjuvants peut atteindre 20% et les effets toxiques et l'altération endocrinienne sont surtout dus à ces adjuvants même à des concentrations inférieures à la dose recommandée aux agriculteurs. Aussi, la variation des approches méthodologiques utilisées ainsi que l'utilisation de différentes espèces de vers de terre peuvent expliquer ces résultats incohérents (Pochron et *al.*, 2019).

2.2. Effets sur la morphologie

Selon Pelosi et *al.* 2013, l'exposition des vers de terre aux pesticides peut causer des altérations morphologiques et histologiques. Ainsi, les vers traités au Glyphon aux concentrations 1353,19 ; 1390,96 ; 1428,72 et 1466,49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ pendant 48 heures, ont démontrés les altérations suivantes : rétrécissement, gonflement, changement de couleur, lyse de la paroi, fragmentation et effilement à différentes régions du corps. Nos résultats sont en accord avec ceux de Correia et Moreira (2010) qui ont révélé des anomalies morphologiques comme l'enroulement de tous les spécimens traités aux concentrations les plus élevées de glyphosate et de 2,4D après 30 jours d'exposition. Des anomalies similaires ont également été observées chez les organismes exposés pendant 50 jours à des concentrations plus faibles. (Venkateswara et *al.*, 2003, 2004) qui ont observé des symptômes morphologiques tels que l'enroulement, le gonflement anormal, la sécrétion muqueuse, les saignements et la fragmentation chez différentes espèces de vers de terre, *Perionyx excavatus* et *Eisenia andrei* traités avec différents xénobiotiques tels que le PFF, l'acétate de plomb, le plomb tétra éthyle (TEL) et le méthyl-tert-butyl éther (MTBE). De la même façon, les vers de terre exposés à 10–

50 ppm d'Aldrine, Endosulfan, Heptachlor et Lindane présentent des symptômes similaires, tels que le gonflement du clitellum et l'extrusion de fluide cœlomique (Rajendra et *al.*, 1990). Similairement, Reddy et Rao (2008) et Schreck et *al.*, (2008) ont révélé que les couches de membranes et de l'ectoderme cuticulaire ont été complètement désintégrées. Similairement, Velki & Cimovic (2015) ont évalué la toxicité d'une batterie de pesticides à différentes températures chez *E. foetida*, et ont constaté que lambda-cyhalothrine, imidaclopride, la mixture du chlorpyrifos avec cyperméthrine, azoxystrobin, cyproconazole, la mixture du difenoconazole avec propiconazole, fluazifop-p-butyl, diquat et tembotrione ont causé des altérations morphologiques chez les vers traités. Des changements morphologiques comparables sont constatés par Kumar & Singh (2017) où les vers *E. foetida* traités par le pesticide phorate montrent un enroulement, rupture de la paroi du corps, la formation d'une masse cellulaire glandulaire interne et la désintégration des muscles circulaires et longitudinaux, qui échouent à régler la pression cœlomique interne aboutissant à la fragmentation du corps.

2.3. Effet sur les biomarqueurs :

Des quantités importantes de pesticides sont rejetées dans l'environnement, induisant ainsi une contamination chronique d'un nombre croissant d'écosystèmes (Sarkaret *al.*, 2006). De ce fait l'utilisation des espèces bioindicatrices en basant sur le principe de biosurveillance écotoxicologique s'impose grâce à des biomarqueurs qui rendent compte des niveaux de pollution auxquels sont soumis ces organismes.

L'utilisation des vers de terre a été principalement concentrée sur les effets des métaux lourds (Lukkari et *al.*, 2004 ; Burgos et *al.*, 2005 ; Schleifler et *al.*, 2006 ; Bundy et *al.*, 2007). Très peu d'études ont été consacrées à l'impact des polluants organiques tels que les pesticides sur le ver de terre (Gupta et Sundararaman, 1991 ; Venkateswara Rao et *al.*, 2003 ; Gambi et *al.*, 2007).

La transformation métabolique des pesticides est l'un des facteurs qui contrôlent leurs bioaccumulations et leurs toxicités, mais l'information chez les vers de terre est limitée par rapport à d'autres espèces telles que les poissons (Toshiyuki & Keiko, 2015).

Dans notre étude, nous avons tenté d'évaluer l'effet d'un herbicide Glyphon sur un modèle biologique à savoir, le ver de terre et ce en utilisant une batterie de biomarqueurs biochimiques et enzymatiques utilisés dans le cadre de la biosurveillance.

2.3.1. Effet sur l'acétylcholinestérase :

Les acétylcholinestérases (AChE : EC 3.1.1.7) sont des enzymes essentiels dans le système nerveux des vertébrés et invertébrés, où elles sont responsables de la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur, dans la fente synaptique (Varo *et al.*, 2012) ; elles catalysent l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique (Matozzo *et al.*, 2005).

L'analyse des résultats obtenus sur l'activité de l'acétylcholinestérase mesurée chez *A.caliginosa* exposés à l'herbicide Glyphon à la concentration sub-létale (1375µg/cm²) montre que l'activité de cette enzyme reste inchangée au cours de la durée d'exposition (48h). Nos résultats sont en concordance avec (Bouazdia, 2019) qui a constaté les mêmes résultats avec l'herbicide sekator OD appliqué sur *A.caliginosa* ; similairement Mekahlia *et al* (2015) qui ont constaté que l'herbicide Sekator OD appliqué sur *L. terrestris* n'avait pas d'effet sur l'activité AchE. Aussi, chez *L. terrestris* (Calisi *et al.*, 2011) et *E. foetida* (Calisi *et al.*, 2009) l'activité de l'AchE n'était pas influencée par le sulfate de cuivre. Cependant, l'activité AChE est inhibée chez *E. fetida* exposé à l'herbicide glyphosate (Samanta *et al.*, 2014) et *typhoeus waltoni* (Michaelsen) exposé aux herbicides 2,4D et Butachlore (Vandana & Keshav, 2016). Pendant que Wang *et al.*,(2019) ont révélé que par rapport au témoin, l'activité de l'AChE chez les vers de terre exposés au glyphosate a diminué de manière significative après 14 jours.

Par ailleurs, l'activité AChE est extrêmement variable entre les espèces (Bocquené *et al.*, 1990). Par exemple, lorsque les juvéniles de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus oncorhynchus*) ont été exposés à 24 et 96 h aux différentes doses du cadmium, aucune modification n'a été observée de l'activité enzymatique de l'AChE (Beauvais *et al.*, 2001). De plus, les facteurs naturels doivent être pris en compte, car les variations environnementales peuvent avoir un effet direct ou indirect sur l'activité AChE. L'activité de l'AChE varie selon les sites et les saisons et cette variation est probablement due aux deux facteurs exogènes (variation des facteurs du milieu, disponibilité des polluants) et endogènes (état physiologique de l'animal) (Boussoufa *et al.*, 2012). D'autre part l'activité de l'AChE chez *E.fetida* exposé à la concentration CL50 (251,28 µg/cm²) d'alachlore pendant 24h révèlent qu'il est évident que l'inhibition de l'AChE n'est pas la seule cause de la mort des vers de terre, puisque 91% d'inhibition de l'AChE conduit à 50% de mortalité (Dereddy *et al*, 2021).

Les travaux de Bouhafis *et al.* (2009) ; Bouaricha (2013) ; Belhaouchet (2014) ont mis en évidence une inhibition de l'activité AChE chez respectivement des populations d'escargots, et de têtards traités par des pesticides. (Salama *et al.*, 2005) sur des escargot *Helix aspersa* exposés

au Méthomyl. L'activité d'AChe a été réduite aussi chez des poissons *Pseudorasbora parva* traités par le Méthomyl) (Li et al., 2008).

2.3.2. Effet sur la GST :

Les glutathions S-transférases (GST : E.C.2.5.1.18) sont des enzymes qui catalysent la conjugaison du glutathion (possède un groupement nucléophile-SH) à une grande variété de composés (porteurs de groupements électrophiles) et également impliquée dans le transport et l'élimination de composés réactifs qui effectuent d'autres fonctions anti oxydantes (Sies, 1993 ; Livingstone, 2003). Ce sont des isoenzymes de la phase II du processus de détoxification cellulaire (Elia et al. 2003).

Nos résultats montrent que l'activité de GST reste inchangée pendant la période d'exposition au Glyphon (48H), nos résultats est en accord avec (Booth et O'Halloran, 2001) qui a constaté que l'activité de la GST n'a pas changé chez *Aporrectodea caliginosa* exposé au diazinon et au chlorpyrifos .Cependant (Leida et al ; 2017) ont constaté que L'activité de la GST a également montré une augmentation significative pendant exposition aiguë et chronique d'*Eisenia sp* au Glyphosan SL, Des études similaires ont révélé une induction de la GST chez les vers de terre tels que *L. terrestris* suite à une exposition à l'herbicide Sekator et l'engrais triphosphate (Mekahlia et al., 2015) et *Eisenia fetida* exposé à l'herbicide acétochlore (Xiao et al. 2006) et les herbicides fenoxaprop et metolachlor (Abdel Salam & Schröder, 2008). Wang et al., 2020 révèle une induction de l'activité de la GST peut être due à l'effet nocif de l'alachlore sur *E. fetida*, qui le transforme en une forme non toxique. Une augmentation similaire des niveaux de GST a été remarquée chez *E. fetida* traitée avec l'herbicide QYR301. Cependant, une réduction importante des activités GST a été remarquée chez *E. anderi* traitée à l'imazalil (Pereira et al., 2019). La diminution des activités de la GST peut être due à l'intervention dans la biosynthèse des lipides, puisque l'apparition de l'enzyme a été trouvée dans les corps gras des invertébrés (Zhang et al., 2015). L'herbicide oxyfluorfen a également un effet sur l'activité GST comme en témoigne les investigations de Peixoto et al. 2006 sur les poissons, *Oreochromis niloticus* ainsi que les poissons téléostéen *Anabas testudineus* (Bloch) et *Heteropneustes fossilis* (Bloch) exposés au glyphosate (Samanta et al., 2014) ; Par contre, Gao et al. 2007 ont trouvé que l'herbicide albendazole inhibe l'activité GST dans le corps entier, la région antérieure, la région moyenne et la région postérieure du vers *E. foetida*.

La réponse de l'activité de la GST dépend de plusieurs facteurs comme le type de xénobiotique, la concentration, le temps d'exposition et de l'espèce (Oruç & Üner, 2000).

2.3.3. Effet sur le GSH :

Le GSH est un composé réducteur soufré le plus abondant dans le compartiment intracellulaire. En interceptant un radical hydroxyle, le glutathion génère un radical superoxyde qui doit être pris en charge par une SOD, outre son rôle essentiel d'agent réducteur, le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense antiradicalaire par son implication dans les réactions de détoxification catalysées par la glutathion-S-transférase (Barillet, 2007).

Nos résultats montrent que l'activité de GST n'a pas changé chez *A.caliginosa* exposé au Glyphon pendant (48h). Cependant, (Zeriri 2014) a constaté que le taux de GSH qui diminue d'une manière significative chez les vers de terre *Octodrilus complanatus* exposé au Méthomyl confirmant ainsi le déclenchement du processus de métabolisation / biotoxication.

Certains auteurs comme Viarengo et al. (1990) ; Cossu et al. (1997) ; Canesi et al. (1999) mettent en évidence une diminution du taux de GSH, chez les mollusques exposés à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Grara et al. (2009) et Belhaouchet et al. (2012) montrent chez des escargots *Helix aspersa* traités par des pesticides ou des métaux lourds une diminution du taux de glutathion, D'un autre côté, l'exposition de souris au Méthomyl a eu pour conséquence une diminution du taux de glutathion réduit (GSH) (Dharm Paul Garg et al., 2009).

2.3.4. Effet sur la quantité totale de protéines :

La structure des protéines ainsi que leur fonction peuvent être altérée par les ROS produites soit par le métabolisme cellulaire ou par des oxydants exogènes (Djekoun, 2012). Ainsi les travaux de Masaya et al (2002) et Grara et al. (2009) ont mis en évidence une augmentation du taux de protéines sous l'effet d'un stress chimique chez d'autres modèles biologiques bio indicateurs tels les têtards, les gastéropodes ou encore les protistes ciliés.

Les vers de terre déploient une batterie de réponses à travers l'activation de leurs mécanismes de détoxification afin de lutter, de survivre et de s'acclimater à ce nouveau paramètre (Nzengue, 2008).

Nos résultats montrent qu'il y a aucun changement significatif de la quantité de protéines n'a été enregistré pendant la période d'exposition des séries traités avec la concentration CL50. D'autre coté ; chez les séries traitées avec la concentration CL10 une diminution de la teneur en protéines est enregistrée après 48h d'exposition. Similairement Bouazdia (2019) a constaté que le teneur de protéines de séries traitées par l'herbicide Sekator OD a diminué après 4 et 14

RESULTATS ET DISCUSSION

jours d'exposition ; par contre chez les séries témoins et traitées par l'insecticide Karaté Zeon aucun changement significatif de la quantité de protéines n'a été enregistré pendant la période d'étude. Cependant Zeriri (2014) a constaté une augmentation d'une manière dose-dépendante du taux de protéines totales chez les vers de terre traités par le Méthomyl.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Dans cette étude nous nous sommes intéressés aux vers de terre, organismes connus pour leur rôle essentiel dans la formation et l'entretien des sols. Ils assurent une bonne fertilité et agissent sur le recyclage des éléments nutritifs de ces derniers tout en améliorant leur structure. En effet, les vers de terre jouent un rôle prépondérant non seulement en agriculture, mais aussi dans les milieux naturels en leur qualité de témoins de la qualité de l'environnement en général.

Plusieurs espèces de vers de terre servent d'organismes modèles dans la recherche en écotoxicologie, notamment dans l'évaluation de la contamination et de la pollution des sols par les pesticides.

Très peu de travaux se sont penchés sur le devenir des pesticides et leurs effets sur les vers de terres dans notre région. Ainsi que, par le passé, aucune étude ne s'est penchée sur l'impact des pesticides sur les vers de terres par contact dans l'université de Tébessa, Dans cette étude, nous nous sommes proposé d'évaluer la toxicité potentielle d'un Glyphon, produit phytosanitaire souvent utilisé par les agriculteurs de la région sur ces organismes qui traduisent l'ensemble des stress environnementaux de leur milieu, et apparaissent donc comme de bons indicateurs de la qualité des sols.

Le premier objectif était de déterminer les espèces de vers de terre existant dans les différents habitats en focalisant notre étude sur la période pluvieuse, trois espèces sont identifiées parmi les individus fixés, appartenant à la famille Lumbricidae, comprenant *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Eisenia foetida*

Le second objectif était l'étude toxicologique de l'herbicide Glyphon chez les vers *Aporrectodea caliginosa*. Cet axe nous a permis d'estimer les concentrations létales $CI_{50}=1483,71$ [1399,29 ; 1479,25] $\mu\text{g}/\text{kg}$ et $CI_{90}= 1582,01$ [1538,66 ; 1626,59] $\mu\text{g}/\text{kg}$ à différentes concentrations (1315,38 ; 1353,19 ; 1390,96 ; 1428,72 et 1466,49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). On a noté une augmentation nette du taux de mortalité avec l'augmentation des concentrations.

Le troisième objectif était d'évaluer l'effet de l'herbicide Glyphon sur l'activité spécifique des biomarqueurs : le GSH, et les activités enzymatiques GST, AChE. Nos résultats montrent que l'activité des biomarqueurs reste inchangée durant la période d'exposition aux différentes concentrations croissantes.

CONCLUSION

A la lumière de notre travail plusieurs questions ont surgi et qui peuvent ouvrir des perspectives intéressantes :

- Les évaluations écotoxicologiques des risques liés au pesticide devraient impliquer de multiples méthodes d'essai avec des animaux d'essai juvéniles et adultes.
- Déterminer l'impact du Glyphosate sur la reproduction, la survie et la croissance des juvéniles des vers de terre.
- Pencher sur l'aspect histologique qui rend compte sur les éventuelles altérations tissulaires chez l'organisme contaminé par le Glyphosate.
- Effectuer une étude approfondie sur les mécanismes de défense anti-radicalaire par le dosage d'autres marqueurs du stress oxydatif (GPX, LDH, SOD).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Abdel Salam Aly M, Schröder P. (2008). Effect of Herbicides on Glutathione-S-transferases in the Earthworm, *Eisenia fetida*. *Env Sci Pollut Res*, 15 (2) 143–149.

Aly, M. A. S., & Schröder, P. (2008). Effect of herbicides on glutathione S-transferases in the earthworm, *Eisenia fetida*. *Environmental Science and Pollution Research*, 15(2), 143-149.

Amziane D, Oudachène A (2016). Contribution à l'inventaire des vers de terre dans deux stations en Kabylie (Tala athmane et Mâatkas) et la mise en évidence de l'impact des pratiques agricoles et du type de sol sur leur diversité. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 54p.

Antoniou, M., Brack, P., Carrasco, A., Fagan, J., Habib, M., Kageyama, P., ... & Pengue, W. (2010). Le soja OGM.

Araújo, A. D., Monteiro, R. T. R., & Abarkeli, R. B. (2003). Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 52(5), 799-804.

B

Bachelier G. (1978). La Faune des Sols : Son Ecologie et Son Action, Orstom, Paris, pp 391.

Baha, M. (1997). The earthworm fauna of Mitidja, Algeria. *Tropical Zoology*, 10(2), 247-254.

Baha M. (2008). Etude bioécologique des oligochètes du nord de l'Algérie. Thèse de doctorat d'état en sciences agronomiques. Institut National Agronomique (El-Harrach, Algeria).

Bouhafs, N., Berrebbah, H., Devaux, A., Rouabhi, R., Djebbar, M.R., 2009. Micronucleus Induction in Erythrocytes of Tadpole *Ranasaharica* (Green Frog of North Africa) Exposed to Artea 330EC. *American-Eurasian Journal of Toxicologic Sciences*, 1 (1), 07-12.

Booth, L.H., Heppelthwaite, V.J., O'Halloran, K., 2000. Growth, development and fecundity of the earthworm *Aporrectodeacaliginosa* after exposure to two organophosphates, *New Zealand Plant Protection*, 53, 221–225.

Batch D. (2011) : L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy, 165p.

Bazri, K ; Ouahrani, G ; Gheribi-Aoulmi Z; Diaz Cosin, D., 2013. La diversité des Lombriciens dans l'Est algérien depuis la côte jusqu'au désert. *Ecologia mediterranea*. Vol. 39.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bazri Kamel Eddine. (2015).** Etude de la biodiversité des lombriciens et leurs relations avec les propriétés du sol dans différents étages bioclimatiques, dans l'est algérien. Thèse de doctorat Aménagement des Milieux Naturels. Université Constantine 1. 188 pages.
- Barillet, S., Adam, C., Palluel, O., & Devaux, A. (2007).** Bioaccumulation, oxidative stress, and neurotoxicity in *Danio rerio* exposed to different isotopic compositions of uranium. *Environmental Toxicology and Chemistry : An International Journal*, 26(3), 497-505.
- Belhaouchet, N., Djebbar, M.R., Meksem, L., Grara, N., Zeriri, I., Berrebbah, H., 2012.** Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide: The Spinosad on an alternate model: *Helix aspersa*. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(8), 4199-4206.
- Belhaouchet, N., 2014.** Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba .90p.
- Benbrook, C. M. (2016).** Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1-15.
- Blakemore, R. J., Chang, C. H., Chuang, S. C., Ito, M. T., James, S., & Chen, J. H. (2006).** Biodiversity of earthworms in Taiwan: a species checklist with the confirmation and new records of the exotic lumbricids *Eisenia fetida* and *Eiseniella tetraedra*. *Taiwania*, 51(3), 226-236.
- Bocquené, G., Galgani, F., & Truquet, P. (1990).** Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. *Marine Environmental Research*, 30(2), 75-89.
- BOUARICHA, H. (2013).** *Evaluation du stress oxydatif induit par le Proclaim: Essai comparatif sur deux modèles biologiques (Helix aspersa et Paramecium sp.)* (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Bouazdia, K., & Habes, D. (2017).** Earthworm species identified in the region of Tebessa (Eastern Algeria). *Int. J. Zool. Res*, 13, 38-44.
- BOUAZDIA, K. (2019).** Exploration des Oligochètes dans une zone semi-aride et évaluation de l'impact de xénobiotiques sur des espèces non visées : les lombriciens (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Boussoufa, D., Ghazali, N., Masmoudi, W., & M'hamed, E. L. (2012). Suivi saisonnier de l'activité acétylcholinestérase et de quelques métaux traces chez le bivalve *Donax trunculus* du golfe de Tunis. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 14, 83-94.

Bouché M.B. (1972). Lombriciens de France, Ecologie et systématique. Inst. Nat.Rech. Agronomique, Paris, pp 671.

Boukria, Z., Perrotin, P., Bennani, A., Dupray, F., & Limam, A. (2012). Structural monitoring: identification and location of an impact on a structurally dissipating rock-shed structure using the inverse method. *European journal of environmental and civil engineering*, 16(1), 20-42.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Burgos, M.G., Winters, C., Stürzenbaum, S.R., Randerson, P.F., Kille, P., Morgan, A.J., 2005. Cu and Cd effects on the earthworm *Lumbricus rubellus* in the laboratory: multivariate statistical analysis of relationships between exposure, biomarkers, and ecologically relevant parameters. *Environmental Science & Technology*, 39, 1757-63.

C

Calisi, A., Lionetto, M. G., & Schettino, T. (2009). Pollutant-induced alterations of granulocyte morphology in the earthworm *Eisenia foetida*. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72(5), 1369-1377.

Calisi, A., Lionetto, M. G., & Schettino, T. (2011). Biomarker response in the earthworm *Lumbricus terrestris* exposed to chemical pollutants. *Science of the Total Environment*, 409(20), 4456-4464.

Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., & Gallo, G. (1999). Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46(1), 67-76.

Carakostas, M. C., Curry, L. L., Boileau, A. C., & Brusick, D. J. (2008). Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), S1-S10.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Couture G., Legris J. et Langevin R., 1995-** Évaluation des impacts du glyphosate utilisé dans le milieu forestier. Direction de l'environnement forestier, Service du suivi environnemental, Ministère des Ressources naturelles, gouvernement du Québec, Québec, 199 p.
- Cox, S., Jones, B., & Rycraft, H. (2004).** Behavioural approaches to safety management within UK reactor plants. *Safety Science*, 42(9), 825-839.
- Correia, F. V., & Moreira, J. C. (2010).** Effects of glyphosate and 2, 4-D on earthworms (*Eisenia foetida*) in laboratory tests. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85(3), 264-268.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C., Babut, M., Exinger, A., & Vasseur, P. (1997).** Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicology and environmental safety*, 38(2), 122-131.
- Cuhra, M. (2015).** Review of GMO safety assessment studies: glyphosate residues in Roundup Ready crops are an ignored issue. *Environmental Sciences Europe*, 27(1), 1-14.
- Curry, J. P., & Schmidt, O. (2007).** The feeding ecology of earthworms—a review. *Pedobiologia*, 50(6), 463-477.

D

- Dajoz R. (2006) :** Précis d'écologie. 8ème édition, Dunod, France, pp 57.
- Dennis Holley. (2017).** General Biology II: Organisms and Ecology. Dog Ear Publishing, 1016 pages.
- Delabays, N., & Bohren, C. (2007).** Glyphosate: worldwide situation and consequences for Switzerland. *Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture (Switzerland)*.
- Defarge, N., Takács, E., Lozano, V. L., Mesnage, R., Spiroux de Vendômois, J., Séralini, G. E., & Székács, A. (2016).** Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase
- Dharm Paul, G., Punita, B., Ravi, K., Anil, B., Dhawan, D. K., 2009.** Vitamin E-mediated protection on methomyl-induced alterations in rat liver. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 91(4), 685-698. activity in human cells below toxic levels. *International journal of environmental research and public health*, 13(3), 264.
- Defarge, N., De Vendômois, J. S., & Séralini, G. E. (2018).** Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology reports*, 5, 156-163.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Djekoun, M., 2012.** Évaluation de l'effet du stress oxydatif généré par le Cadmium à l'échelle cellulaire : Cas de *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 192p.
- Druille, M., Omacini, M., Golluscio, R. A., & Cabello, M. N. (2013).** Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application. *Applied Soil Ecology*, 72, 143-149.
- Druart, C., Delhomme, O., De Vaufleury, A., Ntcho, E., & Millet, M. (2011).** Optimization of extraction procedure and chromatographic separation of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in soil. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399(4), 1725-1732.
- Dominguez, J., & Edwards, C. A. (1997).** Effects of stocking rate and moisture content on the growth and maturation of *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in pig manure. *Soil biology and biochemistry*, 29(3-4), 743-746.

E

- Edwards, C.A. and P.J. Bohlen. (1996).** Biology and Ecology of Earthworms. 3rd Edn., Chapman and Hall, London, ISBN: 0412561603, pp: 426.
- Edwards C A (2004).** Earthworm Ecology. 456 p.
- Edwards C A, Lofty J R (1972).** Biology of earthworms. Chapman and Hall, LTD London. 283p.
- Edwards C A, Lofty J R (2013).** Biology of Earthworms. Springer. 283 p.
- Edwards W N (2012).** Biology of Earthworms. Science & Business Media, .334 p.
- El-Okki, M-EL ; Sahli, L ; Rached, O., 2013.** Conference: 6th International Oligochaete Taxonomy Meeting, Palmeira de Faro (Portugal), 22th to 25th April.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

Elia, A. C., Galarini, R., Taticchi, M. I., Dörr, A. J. M., & Mantilacci, L. (2003). Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(2), 162-167

E. Schreck, F. Geret, L. Gontier, M. Treilhou. (2008). Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* nocturna. *Chemosphere* 71 1832–1839.

F

Foubert A. (2012) : Biodiversité : Victimes silencieuses des pesticides, Section française de l'organisation mondiale de protection de la nature WWF, 80 P.

Freitas R P (2013). Effet du ver de terre *Aporrectodea caliginosa* sur la croissance des plantes, leur développement et leur résistance aux pathogènes : réponse physiologique et moléculaire de la plante à l'émission de molécules-signal. Thèse de doctorat en Sciences de l'Univers et de l'Environnement, Université Paris Est-Creteil Val De Marne, France, 188 p.

FAO., 1987- Résidus de pesticides dans les produits alimentaires. Rapport de la réunion conjointe FAO/OMS, Rome Italie, p 14.

G

Gauvrit, C., Müller, T., Milius, A., & Trouvé, G. (2007). Ethoxylated rapeseed oil derivatives as non-ionic adjuvants for glyphosate. *Pest Management Science : Formerly Pesticide Science*, 63(7), 707-713.

Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. G. (2015). Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific reports*, 5(1), 1-9.

Gambi, N., Pasteris, A., & Fabbri, E. (2007). Acetylcholinesterase activity in the earthworm *Eisenia andrei* at different conditions of carbaryl exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Toxicology & Pharmacology*, 145(4), 678-685.

Gao, Y., Sun, Z., Sun, X., Sun, Y., & Shi, W. (2007). Toxic effects of albendazole on adenosine triphosphatase activity and ultrastructure in *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(3), 378-384.

Gupta, S.K., Sundararaman, V., 1991. Correlation between burrowing capability and AChE activity in the earthworm, *Pheretima posthuma*, on exposure to carbaryl. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 859-65.

H

Han Y, Zhu L, Wang J, Wang J, Xie H, Zhang S. (2014). Integrated assessment of oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to azoxystrobin. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 107 : 214-219.

Heimbach, F. (1984). Correlations between three methods for determining the toxicity of chemicals to earthworms. *Pesticide science*, 15(6), 605-611.

Hu J.Y., Chen C.L and Li J.Z., 2008- A Simple Method for the Determination of Glyphosate Residues in Soil by Capillary Gas Chromatography with Nitrogen Phosphorus. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing China, *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 63, N° 4, p 371–375.

Hipp A., 2005. *The Life Cycle of an Earthworm.* Rosen Classroom, 24p.

Holmstrup, M., & Zachariassen, K. E. (1996). Physiology of cold hardiness in earthworms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology*, 115(2), 91-101.

K

Kouassi, Brou G., Denezon Dogbo, O., N'Zué, B., Akhanovna, J; Yves –Alain Békro, Y., 2012. Effet du glyphosate sur la biosynthèse des constituants phénoliques de *Manihot esculenta* Crantz. *Revue de génie industriel, Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales (LBAPV), Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Abidjan, Cote d'Ivoire*, p32-43.

L

Lakhani, K. H., & Satchell, J. E. (1970). Production by *Lumbricus terrestris* (L.). *The Journal of Animal Ecology*, 473-492.

Lavelle, P., Maury, M. and Serrano. V. (1981). Estudio cuantitativo de la fauna del suelo en la región de Laguna Verde, Veracruz. Época de lluvias. In: Reyes-Castillo, P. (ed.) *Estudios Ecológicos en el Trópico Mexicano.* Institute of Ecology Publication 6, 65-100.

Lavelle, P., & Spain, A. V. (2001). *Soil ecology.* Springer Science & Business Media.

Lee, K. E. (1985). *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use.* Academic Press London.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Le Mer Ch., Roy R., Pellerin j. et Maltais D., 2009-** Effects of chronic exposures to the herbicides atrazine and glyphosate to larvae of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Université du Québec à Rimouski, Quebec, Canada, p6.
- Leida, M., Juanny, H., Edgar, Z.-V., & Analia, L. (2017).** *Effects of contaminated natural soil by Glyphosan® SL on biochemical responses of the earthworm Eisenia sp. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 9(10), 92–97.*
- Lukkari, T., Taavitsainen, M., Soimasuo, M., Oikari, A., & Haimi, J. (2004).** Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure: differences between populations with and without earlier metal exposure. *Environmental Pollution, 129(3), 377-386.*
- Li, H., Jiang, H., Gao, X., Wang, X., Qu, W., Lin, R., & Chen, J. (2008).** Acute toxicity of the pesticide methomyl on the topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*): mortality and effects on four biomarkers. *Fish physiology and biochemistry, 34(3), 209-216.*
- Livingstone D.R. (2003).** Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Rev Med Vet., 154 : 427–430.*
- Lydy, M. J., & Linck, S. L. (2003).** Assessing the impact of triazine herbicides on organophosphate insecticide toxicity to the earthworm *Eisenia fetida*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 45(3), 343-349.*

M

- Marín-Benito, J. M., Pot, V., Alletto, L., Mamy, L., Bedos, C., Barriuso, E., & Benoit, P. (2014).** Comparison of three pesticide fate models with respect to the leaching of two herbicides under field conditions in an irrigated maize cropping system. *Science of the Total Environment, 499, 533-545.*
- Matozzo, V., Tomei, A., & Marin, M. G. (2005).** Acetylcholinesterase as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds in the clam *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Marine pollution bulletin, 50(12), 1686-1693.*
- Mahajan, S., Kanwar, S.S., Sharma, S.P., 2007.** Long-term effect of mineral fertilizers and amendements on microbial dynamics in an alfisol of western Himalayas. *Indian Journal of Microbiology, 47(1), 86-89.*
- Masaya, M., Yoshinobu, H., Ai, Y., Maki, K., Yasuo, O., 2002.** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlation with susceptibility to mercury. *Journal of Phycology, 38, 983-990.*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mazzella N., Tran-Thi Nhu-T., Delest B. et Delmas F., 2009- Développement et validation d'une méthode permettant le dosage du glyphosate et de l'AMPA dans les eaux surface par HPLC-ESI-MS/MS. XXIXème congrès du Groupe Français des Pesticides, Toulouse, France, 4 p.

Mekahlia, M. N., Tine, S., Menasria, T., Amieur, H., & Salhi, H. (2016). In vitro biomarker responses of earthworm *Lumbricus terrestris* exposed to herbicide sekator and phosphate fertilizer. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(1), 15.

Ming Y., Beach J., Jonathan W.M., Ambikaipakan S. (2013): Occupational pesticide exposure and respiratory health .International journal of environmental research and public health, 43p.

Mijangos, I., Becerril, J. M., Albizu, I., Epelde, L., & Garbisu, C. (2009). Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and-independent methodologies. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), 505-513.

Muthukaruppan, G., Ganasekaran, P., 2010. Effect of Butachlor herbicide on earthworm *Eisenia fetida* – its histological perspicuity. *Applied and Environmental Soil Science*, 1-5

Myers, J. P., Antoniou, M. N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L. G. ... & Benbrook, C. M. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environmental Health*, 15(1), 1-13.

N

Nzengue, Y.,2008. Comparaison des mécanismes de toxicité redox du Cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallo thionines et de P53. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier–Grenoble 1, France.299 p.

O

Omodeo, P., Rota, E.Baha, M., 2003.The megadrile fauna (Annelida: Oligocgaeta) of Maghreb: a biogeographical and ecological characterization. *Pedobiologia*,47, 458-465.

Oruç, E. Ö., & Üner, N. (2000). Combined effects of 2, 4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus* *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 127(3), 291-296.

P

Palas Samanta, Sandipan Pal, Alope Kumar Mukherjee et Apurba Ratan Ghosh. (2014). Biochemical effects of glyphosate based herbicide, Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 107, 120-125.

Pereira, P. C. G., Soares, L. O. S., Júnior, S. F. S., Saggiaro, E. M., & Correia, F. V. (2020). Sub-lethal effects of the pesticide imazalil on the earthworm *Eisenia andrei*: reproduction, cytotoxicity, and oxidative stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(27), 33474-33485.

Pierre-Louis R., 2013 -Evaluation des risques à long terme des herbicides a base de glyphosate sur la santé humaine, Thèse de doctorat, Université de Limoges, p 39-45.

Peixoto F, Alves-Fernandes D, Santos D, Fontainhas-Fernandes A. (2006). Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85, 91-96.

Pérès, G., Vandenbulcke, F., Guernion, M., Hedde, M., Beguiristain, T., Douay, F., ... & Cluzeau, D. (2011). Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, 54, S77-S87.

Pelosi, C., Bertrand, M., Capowiez, Y., Boizard, H., & Roger-Estrade, J. (2009). Earthworm collection from agricultural fields: comparisons of selected expellants in presence/absence of hand-sorting. *European Journal of Soil Biology*, 45(2), 176-183.

Pochron, S., Simon, L., Mirza, A., Littleton, A., Sahebzada, F., & Yudell, M. (2019). *Glyphosate but not Roundup® harms earthworms (Eisenia fetida)*. *Chemosphere*, 125017.

Potvin, L. R., & Lilleskov, E. A. (2017). Introduced earthworm species exhibited unique patterns of seasonal activity and vertical distribution, and *Lumbricus terrestris* burrows remained usable for at least 7 years in hardwood and pine stands. *Biology and Fertility of Soils*, 53(2), 187-198.

R

- Razafindrakoto, M., 2012.** Etude des Annélides Oligochètes de Madagascar : Taxonomie, Distribution et Ecologie. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. 174p.
- Regnault-Roger, C. (2005).** New insecticides of plant origin for the third millennium. *Biopesticides of plant origin*, 17-35.
- Ramade, F. (2005).** Eléments d'écologie : écologie appliquée.
- Reddy, S. P., Britto, R., Vinnakota, K., Aparna, H., Sreepathi, H. K., Thota, B., ... & Rao, M. S. (2008).** Novel glioblastoma markers with diagnostic and prognostic value identified through transcriptome analysis. *Clinical Cancer Research*, 14(10), 2978-2987.
- Rao, J. V., Pavan, Y. S., & Madhavendra, S. S. (2003).** Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia foetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 296-301.
- Römbke, J., S. Jänsch & W. Didden. (2005).** The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. – *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62: 249-265.

S

- Salama, A.K., Osman, K.A., Saber, N.A., Soliman, S.A., 2005.** Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pak. J. Biol. Sci*, 8, 92-96.
- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., & Sarker, S. (2006).** Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15(4), 333-340.
- Séralini, G. E. (2015).** Why glyphosate is not the issue with Roundup. *Journal of Biological Physics and Chemistry*, 15(3), 111-119.
- Schleifler, R., Coeurdassier, M., Morilhat, C., Bernard, N., Faivre, B., Flicoteaux, P., 2006.** Lead concentrations in feathers and blood of common blackbirds (*Turdus merula*) and in earthworms inhabiting unpolluted and moderately polluted urban areas. *The Science of Total Environment*, 371, 197–205.
- Shuster, W. D., Shipitalo, M. J., Bohlen, P. J., Subler, S., & Edwards, C. A. (2003).** Population dynamics of ambient and altered earthworm communities in row-crop agroecosystems in the Midwestern US: The 7th international symposium on earthworm ecology. Cardiff. Wales. 2002. *Pedobiologia*, 47(5-6), 825-829

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Silva E D (2013). Interactions « sol - vers de terre » et dynamique du mercure en Guyane française. Thèse de doctorat en Sciences de l'Univers et de l'Environnement, Université Paris est, France, 276 p.

SUR, E. D. T., & SANS, D. U. S. (2014). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques.

Starr C (2014). Biology: Concepts and Applications without Physiology. 592 p.

Suneel Kumar and S.M. Singh. (2017). Morpho-Histopathological Response of Phorate- An Organo-Phosphorous Pesticide on the Integumentary Musculature of an Epigeic Earthworm, *Eisenia fetida*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6(4): 2048-2053

Sies H. (1993). Strategies of antioxidant defenses. *Eur J Bio-chem.*, 215 : 213–219

Sims, R. W. & Gerard, B. M. (1985). Earthworms: Keys and Notes for the Identification and Study of the Species. In: Barnes, R. S. K. & Crothers, J. H. (Eds.), *Synopses of the British Fauna* (New Series) No. 31, London: E. J., 171 pp.

Sims, R. W. & Gerard, B. M. (1999). Earthworms. In: Barnes, R. S. K. & Crothers, J. H. (Eds.), *Synopses of the British Fauna* (New Series) No. 31 (Revised), London: E. J., 167 pp.

Stockdill, S. M. J. (1982). Effects of introduced earthworms on the productivity of New Zealand pastures. *Pedobiologia*, 24(1), 29-35.

Svendsen, T. S., Hansen, P. E., Sommer, C., Martinussen, T., Grønvold, J. et Holter, P. (2005). Life history characteristics of *Lumbricus terrestris* and effects of the veterinary antiparasitic compounds ivermectin and fenbendazole. *Soil Biol. Biochem.* 37, 927-936.

Sviridov, A. V., Shushkova, T. V., Ermakova, I. T., Ivanova, E. V., Epiktetov, D. O., & Leontievsky, A. A. (2015). Microbial degradation of glyphosates herbicides. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 51(2), 188-195.

T

Toualy, S. O., Jean-Michel, P., Marina, K., & Tia, J. G. (2017). *Effect of pesticides and micro-organisms on earthworm Eisenia fetida (Savigny, 1826).* *African Journal of Agricultural Research*, 12(9), 706–715.

Toshiyuki Katagi and Keiko Ose. (2015). Toxicity, bioaccumulation and metabolism of pesticides in the earthworm. *J. Pestic. Sci.* 40(3), 69–81

Tomlin, A.D, 1980. La biologie du ver de terre, 10 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tsui, M. T., & Chu, L. M. (2003). Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, 52(7), 1189-1197.

V

Vandana Singh Keshav Singh. (2016). Effect of sublethal exposure of herbicides on the biochemical parameters of earthworm *eutyphoeus waltoni* Michaelson (oligochaeta: octochaetidae). *IIOABJ*, Vol 7(10), 55–62.

Varo I., Pastor A., Ramo J. & Torreblanca A., (2012). Long-term effect of temperature on bioaccumulation of dietary metals and metallothionein induction in *Sparus aurata*. *Chemosphere*, 87: 1215–1221.

Venkateswara Rao, J., Surya Pavan, Y., Madhavendra, S.S., 2003. Toxic effects of chlorpyrifos on survival, morphology and acetylcholinesterase activity of the earthworm *Eisenia foetida*. *Ecotoxicol. Environ. Saf*, 54, 296–301.

Vigot M. & Cluzeau D., 2014. Les vers de terre. Chambre d'Agriculture de la Vienne. Vienne, 10p

W

World Health Organization. (2015). *World health statistics 2015*. World Health Organization.

X

Xiao N, Jing B, Ge F, Liu X, (2006). The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions. *Chemosphere* 62, 1366-1373.

Z

Zobiolo, L. H. S., Kremer, R. J., Oliveira Jr, R. S., & Constantin, J. (2011). Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *Journal of applied microbiology*, 110(1), 118-127.

Zaller, J. G., Weber, M., Maderthaner, M., Gruber, E., Takács, E., Mörtl, M., ... & Székács, A. (2021). Effects of glyphosate-based herbicides and

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

their active ingredients on earthworms, water infiltration and glyphosate leaching are influenced by soil properties. *Environmental Sciences Europe*, 33(1), 1-16

Zeriri, I., Tadjine, A., Belhaouchet, N., Berrebbah, H., Djebbar, M. R., & Baha, M. (2013). Contribution to the identification of Oligochaeta: Lumbricidae in the region of Annaba in eastern Algeria. *European Journal of Experimental Biology*, 3(6), 229-232.

ZERIRI, I. (2014). *Toxicité potentielle d'un insecticide sur un invertébré de la famille des coelomates* (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).