



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 Etres Vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Santé et Environnement

Thème:

**Effet de Sekator sur l'espèce dominante de ver
de terre dans la région de Tébessa
(*Aporrectodea caliginosa*)**

Présenté par:

GOUADRIA Leila

GUEBLI Warda

Devant le jury:

Mme H. BOUABIDA	MCB	Université de Larbi Tébessi –Tébessa-	Président
M K. BOUAZDIA	MAA	Université de Larbi Tébessi –Tébessa-	Rapporteur
Mme H. YAHIA	MAA	Université de Larbi Tébessi –Tébessa-	Examineur

Date de soutenance: 31/05/2016

Note :

Mention :

Remerciement

Avant tout, je remercie le bon Dieu tout puissant qui m'a donné la force et de m'avoir permis d'arriver à ce stade-là.

*Ma premier pensé va tout naturellement à mon encadreur "**Bouazdia Karim**" qui suit fidèlement mon travail. Je tiens à la remercie pour son encadrement, son honnêteté, sa rigueur, sa générosité, , son aide précieuse, ses critiques constructives pour la confiance qu'il m'a témoignée en me confiant ce travail et pour m'avoir donné les moyens d'arriver au bout de ce projet. J'ai apprécié sa grande chaleur humaine et sa disponibilité quotidienne.*

*J'adresse mes sincère remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail. Je voudrais remercie "**Mem Bouabida.h**" qui m'a honoré d'avoir accepté de présider le jury. Je remercie également "**Mem Yahia.h**" qui ont accepté d'examiner ce travail.*

J'adresse aussi mes sincères remerciements à tous les enseignants du département des êtres vivants.

Je tiens particulièrement à remercier les membres de laboratoire de Biologie de l'université de science exacte et de science de nature et de la vie.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Tout en m'excusant auprès de ceux que je ne cite pas, je leur exprime ma vive reconnaissance.

Dédicace

*À l'aide d'Allah , le tout puissant , je dédie ce
modeste travail :*

*À mon cœur à mon père ALI qui a toujours espéré
me avoir grande parmi les meilleurs et qui n'a
jamais hésité de faire les plus grands sacrifices pour
me arriver omon but " je t'aime beaucoup papa".*

*À ma mère ,ma plus grande supportrice pour son
amour, Son réconfort.*

À mes frères et ma sœur

À mon amis et mon binôme LEILA.

*À tous mes amis et collègues Asma, Latifa, Amel,
Linda, Ali.*

À tout le groupe de ma promotion.

À toute la promotion de master sans exception.

*La réalisation de cette travail n'aurait jamais été
possible, sans la contribution de toutes les personnes
qui de près ou de loin m'ont supporté, encouragé et
aidé d'une manière ou d'une autre. Merci à toutes et
à tous.*



Dédicace

*À l'aide d'Allah , le tout puissant , je dédie
ce modeste travail :*

*À mon cœur à mon père "Mohammed" qui a
toujours espéré me voir grande parmi les
meilleurs et qui n'a jamais hésité de faire
les plus grands sacrifices pour me arriver
à mon but " je t'aime beaucoup papa".*

*À ma mère "zakia" , ma plus grande
supportrice pour son amour, Son réconfort.*

*À mes frères "Darradji , Rachid , Issam" et
ma sœur Hakima et ces fils Motie, Akeram,
Acheraf, Anisse.*

À mon amis et mon binôme "Warda".

À tous mes amis et collègues

À tout le groupe de ma promotion.

*À toute la promotion de master sans
exception.*

*La réalisation de cette travail n'aurait
jamais été possible, sans la contribution de
toutes les personnes qui de près ou de loin
m'ont supporté, encouragé et aidé d'une
manière ou d'une autre. Merci à toutes et à
tous.*

Résumé

Ce travail consiste à étudier l'impact d'un herbicide utilisé couramment en Algérie le Sekator sur un organisme bioindicateur de pollution, le vers de terre *Aporrectodea Caliginosa*.

Dans notre travail, nous nous sommes concentrés sur les effets du Sekator sur les vers de terre à l'aide des tests toxicologiques où les critères d'évaluation suivants : la mortalité, la croissance et le taux de reproduction ainsi que la morphologie.

L'herbicide Sekator manifeste une relation dose-effet lors des deux premières semaines. Le nombre de mortalité est réduit le long de la période d'étude, ce qui a conduit à des valeurs de $DI_{50}=14,04(12,58\pm 15,67)$ et $DI_{90}=31,61(27,83\pm 34,67)$ nettement supérieures par rapport aux doses utilisées.

D'un autre côté, nous nous sommes intéressés à une batterie de biomarqueurs tels que : Activité GST, Activité CAT, Activité AChE, et leur évolution en présence du xénobiotique chez *A. Caliginosa*. Nos résultats mettent en évidence une toxicité confirmée par le déclenchement d'un système de détoxification (GST) et la stimulation de l'activité enzymatique anti-oxydante : la Catalase ainsi qu'une inhibition de l'activité AChE.

Mots clés : Sekator, *A. Caliginosa*, Biomarqueurs, Toxicité, Morphologie, Reproduction, Croissance.

Abstract

This work consists in studying the impact of a weedkiller used usually in Algeria Sekator on an organism bioindicator of pollution, the earthworms *Aporrectodea Caliginosa*.

In our work, we concentrated on the effects of Sekator on the earthworms using the toxicological tests where following criteria of evaluation: mortality, growth and the rate of reproduction as well as morphology.

The weedkiller sekator proclaim a Dose-effect relation after two first weeks. The number of mortality is tiny room along the period of study, which led to values of $D_{150}=14,04(12,58\pm 15,67)$ and $D_{190}=31,61(27,83\pm 34,67)$ definitely higher compared to the amounts used.

On another side, we were interested in a battery of biomarkers such as: GST Activity, CAT Activity, and AChE Activity, and their evolution in the presence of xenobiotic. Our results highlight a toxicity confirmed by the release of a system of detoxification (GST) and the stimulation of the antioxidant enzymatic activity: the Catalase as well as an inhibition of the AChE activity.

Key words: Sekator, A, *Caliginosa*, Biomarkers, Toxicity, Morphology, Reproduction, Growth.

Résumé

ملخص

هذا العمل هو دراسة تأثير المبيدات التي تستخدم عادة في الجزائر Sekator تلوث الحي مؤشرات بيولوجية، وديدان الأرض *Aporrectodea caliginosa*.

وركزنا في عملنا هذا على آثار Sekator على ديدان الأرض باستخدام اختبارات السمية حيث معايير التقييم التالية: معدل الوفيات، النمو ومعدلات الإنجاب والتشكل.

مبيدات الأعشاب Sekator واضحة العلاقة بين الجرعة والاستجابة في الأسبوعين الأولين. يتم تخفيض عدد

الوفيات على طول فترة الدراسة، مما أدى إلى قيم $DI_{50}=14,04(12,58\pm 15,67)$ أعلى بكثير بالمقارنة مع الجرعات المستخدمة. $DI_{90}=31,61(27,83\pm 34,67)$

من ناحية أخرى، ونحن مهتمون في بطارية من المؤشرات الحيوية مثل النشاط أستيلكولينستراز، و *Gst*

Catalase في *A. caliginosa*.

نتائجنا تظهر سمية أكدت عن طريق إحداث نظام إزالة السموم (*GST*) وتحفيز نشاط إنزيم مضاد للأكسدة:

الكاتالاز وتثبيط النشاط الألم.

كلمات البحث : Sekator، *A. caliginosa*، المؤشرات الحيوية، سمية والصرف، التكاثر والنمو.

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

ملخص

Abstract

Table de matière

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviation

Introduction

Chapitre 1: Analyse bibliographique

I. Les oligochètes.....	01
1. Généralité.....	01
2. Morphologie.....	02
3. Ecologie.....	03
4. Distribution des vers de terre.....	03
5. Catégories écologiques des vers de terre.....	04
5.1. Les épigés.....	04
5.2. Les endogés.....	04
5.3. Les anéciques.....	04
6. Reproduction.....	06
7. Anatomie.....	07
8. Locomotion.....	09
9. Cycle de vie des vers de terre.....	09
10. L'alimentation.....	11
11. Importance et caractéristique des vers de terre.....	11
11.1. Création des galeries.....	11

11.2. Drilosphère.....	12
11.3. Formation des turricules.....	12
12. Utilisation du ver de terre comme bio-indicateur.....	12

II. Pesticides

1. Histoire de pesticides.....	13
2. Définitions de pesticides.....	14
3. Action de pesticides et classification.....	14
4. Les grandes classes de pesticides.....	15
4.1. Les insecticide.....	15
4.2. Les fongicides.....	15
4.3. Les herbicides.....	15
4.3.1. Composition et formulation.....	15
4.3.2. Classification des herbicides.....	16
4.3.2.1. Selon le but poursuivi.....	16
4.3.2.1.1. Herbicides totaux.....	16
4.3.2.1.2. Herbicides sélectifs.....	16
4.3.2.1.3. Herbicides utilisés pour des usages particulier.....	16
4.3.2.2. Selon le moment d'application.....	16
4.3.2.2.1. Traitements préventifs.....	16
4.3.2.2.2. Traitements curatifs.....	17
4.3.2.3. Selon le mode de pénétration dans la plante.....	17
4.3.2.3.1. Pénétration dans les tissus méristématiques.....	17
4.3.2.3.2. Pénétration au niveau des racines.....	17
4.3.2.3.3. Pénétration au niveau des feuilles.....	17
4.3.2.3.4. Selon leur sélectivité.....	17
4.3.2.3.5. Selon la famille chimique.....	17
4.3.3. Mode d'actions des herbicides.....	17
4.3.4. Impact sur l'environnement.....	17
4.3.5. Toxicité de herbicides.....	18

Chapitre 2: Matériel et méthodes

1. Présentation générale de la région d'étude	20
1.1. Situation géographique de l'Algérie.....	20
1.2. Situation géographique de la région d'étude « Tébessa ».....	20

1.3. Situation géographique du site d'EL-Merdja.....	21
2. Matérielle biologique	21
2.1. L'intérêt du choix du ver de terre.....	22
2.2. Matériel Chimique.....	22
3.1. Présentation de la molécule utilisée	23
3.1.1.Fiche d'identité.....	23
3.1.2.Avantages de produit	24
4.Traitement.....	24
5.Conditions expérimentales:.....	24
6.Préparation du sol artificiel.....	25
7.Protocole expérimental :.....	25
7.1.Essais toxicologiques	26
7.1.1.Essai de toxicité aigue:.....	26
7.1.1.1.Suivi du pourcentage de Mortalité	26
7.1.1.2. Inhibition de Croissance.....	26
7.1.1.3. Tests de toxicité.....	26
7.1.1.3.1. Mortalité observée.....	26
7.1.1.3.2. Mortalité corrigée.....	27
7.1.1.3.3. Transformation angulaire.....	27
7.1.1.3.4. Analyse des probits.....	27
7.2.Essai de toxicité chronique.....	27
7.2.1.Suivie de reproduction:.....	27
7.2.2.Dosage des biomarqueurs.....	28
7.2.2.1.dosages des activités enzymatiques:.....	28
7.2.2.1.dosages des activités enzymatiques.....	28
7.2.2.1.1.Dosage de l'activité Acétylcholine Estérase (Ach E).....	28
7.2.2.1.2. Dosage de l'activité GST (glutathion S-transférase).....	30

7.2.2.1.3. Dosage de la catalase.....	32
7.2.2.1.3. Dosage des Protéines totales.....	32
CHAPITRE III. RESULTATS	
1. Essais toxicologiques :.....	35
1.1. Effet du Sekator sur le taux de mortalité après 14 jours d'exposition	35
1.2- Evaluation du taux de croissance :.....	38
1.3. Evaluation du taux d'éclosion.....	39
1.4.Effet sur la morphologie des vers :.....	40
2. Effet du Sekator sur les biomarqueurs biochimiques	41
2.1. La gamme d'étalonnage.....	41
2.2. Activité de l'acétylcholinestérase.....	41
2.3. Activité de la glutathion S-transférase.....	43
2.4. Activité de la catalase.....	44
Chapitre Discussion.....	46
1.Toxicité de Sekator	46
2.Effet de Sekator sur la croissance.....	46
3.Effet sur la morphologie.....	47
4.Effet sur la reproduction	47
5.Effet sur les biomarqueurs	48
5.1.Effet sur l'acétylcholinestérase.....	48
5.2.Effet sur la GST	49
5.3.Effet sur la catalase	49
Annexe	
I. Effet du sekator sur le taux de mortalité après 7 jour d'exposition.....	51
II. Effet du sekator sur le taux de mortalité après 14 jour d'exposition...	54
III. Effet du sekator sur le taux de mortalité après 28 jour d'exposition...	58

Tables des matières

Conclusion

Références bibliographique

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre	pages
1	Principales caractéristiques des trois catégories écologiques de vers de terre décrites par Bouché (1972 ; 1977) .	5
2	Dosage de la catalase.	32
3	Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage	34
4	Toxicité du Sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d' <i>A. Caliginosa</i> après 14 jours d'exposition	35
5	Toxicité du Sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d' <i>A. Caliginosa</i> après 14 jours d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	36
6	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 14 jour d'exposition	36
7	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d' <i>A. Caliginosa</i> après 14 jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; $n=4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	37
8	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d' <i>A. Caliginosa</i> après 14 jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	37
9	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 14 jour d'exposition : transformation en probits des mortalités corrigées .	37
10	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 14 jours de <i>A. Caliginosa</i> : détermination des DL50 et DL90 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) et leurs intervalles de confiance.	38
11	les doses létales à différents temps (jours).	38
12	Effet du sekator sur le taux d'éclosion des vers <i>A. caliginosa</i> .	38

Liste des tableaux

13	dosage des protéine; réalisation de la gamme d'étalonnage	39
14	Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines)	42
15	Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines)	43
16	Activité spécifique de la CAT (nM/mn/mg de protéines)	45
17	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07eme jour d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	51
18	Toxicité du sekatoe ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07eme jour d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	51
19	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07 jour d'exposition: transformation angulaire ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus)	52
20	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07 ^{eme} jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; n=4 répétitions comportant chacune 10 individus).	52
21	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07 ^{eme} jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	50
22	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 07 ^{eme} jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	53
23	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 07 ^{eme} jour de <i>A. Caliginosa</i> : détermination des CL50 et CL90 (μ/kg) et leurs intervalles de confiance	53

Liste des tableaux

24	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 ^{ème} jour d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	54
25	Toxicité du sekatoe ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 ^{ème} jour d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	55
26	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 jour d'exposition: transformation angulaire ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus)	55
27	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 ^{ème} jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; n=4 répétitions comportant chacune 10 individus).	56
28	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 ^{ème} jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	56
29	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 21 ^{ème} jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant	57
30	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 21 ^{ème} jour de <i>A. Caliginosa</i> : détermination des CL50 et CL90 (μ/kg) et leurs intervalles de confiancechacune 10 individus).	57
31	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 28eme jour d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	58
32	Toxicité du sekatoe ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>A. Caliginosa</i> après 28eme jour d'exposition: mortalité corrigée	58

Liste des tableaux

(%) ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

33	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de A. Caliginosa après 28 jour d'exposition: transformation angulaire ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individu	59
34	Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de A. Caliginosa après 28eme jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; $n=4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	59
35	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de A. Caliginosa après 28eme jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	69
36	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de A. Caliginosa après 28eme jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	60
37	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 28eme jour de A. Caliginosa: détermination des CL50 et CL90 (μ/kg) et leurs intervalles de confiance	60

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	pages
1	Morphologie générale du ver de terre (Source : futura-science.com).	3
2	Localisation des catégories écologiques des vers de terre (Marion et Daniel., 2014).	4
3	Reproduction des vers de terre (Marion et Daniel, 2014)	4
4	Les cocons des vers de terre (photo personnel)	6
5	ver de terre sortant de son cocon (Frick., 2013)	7
6	Anatomie d'un ver de terre (Jon., 2003)	8
7	Système reproducteur d'un annélide (Jon., 2003)	9
8	Déplacement du ver de terre. A : allongement, R : raccourcissement (Tavernier R., sd).	9
9	Cycle de vie des vers de terre (Pelosi. C., 2008)	10
10	Structures construites par des vers de terre (a) galeries, (b) déjection dans les galeries (fèces) et (c) à la surface (turricules) (DARWIN.,).	12
11	Situation géographique de l'Algérie (Google Earth).	20
12	Situation de la région d'étude « Tébessa » (https://fr.wikipedia.org/wiki/Communes_de_la_wilaya_de_T%C3%A9bessa).	21
13	Situation géographique de site d'El Merdja (google earth)	21

LISTE DES FIGURES

14	<i>Aporrectodea Caliginosa</i> (photo personnelle).	22
15	le produit utilisé (Sekator OD) (photos personnel)	23
16	préparation de sol artificiel (photos personnel).	25
17	Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après 14 jours d'exposition d' <i>A. Caliginosa</i> : Analyse des probits.	38
18	Effet de concentrations croissantes de Sekator sur le taux de croissance des vers de terre <i>A. Caliginosa</i> en fonction du temps.	39
19	Effet du sekator sur le taux d'éclosion des vers de terre.	40
20	(A, B, C), les anomalies morphologiques des vers exposés à l'insecticide Karaté dans sol artificiel	40
21	Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination)	41
22	Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d' <i>A. Caliginosa</i> durant la période d'exposition au Sekator ($m \pm SD$; $n= 4$).	42
23	Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier du vers <i>A. Caliginosa</i> durant l'exposition au Sekator (Dose subletale) ($m \pm SD$; $n=4$).	44
24	Activité spécifique de la CAT (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d' <i>A. Caliginosa</i> durant l'exposition au Sekator (dose subletale) ($m \pm SD$; $n=4$).	45

LISTE DES FIGURES

25	Toxicité du sekator après 07 jour d'exposition de A. Caligénosa analyse des probit	54
26	Toxicité du sekator après 21 d'exposition de A. caligénosa Analyse des probits	57
27	Toxicité du sekator $\mu\text{g}/\text{kg}$ après 28 jour D'exposition de A. caligénosa A. Caligénosa Analyse de probit	61

LES ABREVIATIONS

Asch: Acétylthiocholine

AchE: Acétylcholinesterase

ALS: Acétolactase Synthétase

BBC: Bleu Brillant de Coomassie

BSA: Albumine de Sérum de Bœuf

CDNB:

CaCO₃: Carbonate de Calcium

CAT: Catalase

Cm: Centimètre

CO₃HNa: Bicarbonate de Sodium

DL50: Dose Létale 50

DL90: Dose Létale 90

DTNB. Acide 5-5-Dithio-Bis-2-Nitroenzoïque

E: Est

EGTA: Ethylène Glucol tris beta

g/l: Gramme par Litre

GST: Glutathion –S-Transphérase

GSH: Glutathion Réduit

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène

IC: Intervalle de Confiance

KM: kilomètre

l/ha: Litre par Hectare

M: Mole

µg/kg: Microgramme par kilogramme

ml/l: Millilitre par Litre

min: Minute

Liste des abréviations

nM: Nanomole

N: Nord

NaCl:

NaH₂PO₄: Monosodiumphosphate

Na₂HPO₄: Disodium Phosphate

-NH₂: Groupements Amines

pH: Potentielle d'Hydrogène

RAD: Dose Recommandé par l'Agriculture

S: Slop

SCh: Thiocholine

UV: Ultra-violet

Introduction

Le terme ‘‘pesticide’’ est utilisé pour désigner les produits chimiques agricoles utilisés à des fins phytosanitaires. Un pesticide est une substance qui est sensée prévenir, détruire, repousser ou contrôler tout ravageur animal et toute maladie causée par des micro-organismes ou encore des mauvaises herbes indésirables (BOLAND *et al.*, 2004). Les pesticides représentent, de loin, les composés xénobiotiques les plus systématiquement introduits dans l'environnement et les plus largement utilisés sur les cultures les plus variées (AMIARD., 2011). Les pesticides agricoles contribuent à augmenter la productivité agricole, mais posent dans le même temps des risques potentiels pour la santé humaine et l'environnement (OECD., 2008). L'Algérie est classée parmi les pays qui utilisent plus grandes quantités de pesticides, dont l'Association Algérienne pour la protection de l'environnement tire la sonnette d'alarme «L'Algérie est un grand consommateur de pesticides: 30000 tonnes sont épandues chaque année » (CHIALI., 2013).

Par ailleurs, le sol est un milieu vivant. Il semble alors possible qu'une pratique agricole et/ou l'utilisation de pesticides puissent avoir un effet sur les populations présentes. Parmi les principaux acteurs biologiques des sols, deux indicateurs sont retenus de part leurs rôles majeurs : les microorganismes et les lombriciens correspondant au groupe de macroorganismes du sol le plus important en termes de biomasse et d'activité.(Eva SCHRECK .,2008)

D'innombrables travaux ont été publiés sur l'emploi de bioindicateurs tels que les espèces bioaccumulatrices destinées à évaluer la qualité des milieux naturels. En effet, l'accumulation de certains polluants par les organismes bioaccumulateurs facilite leur mise en évidence et leur quantification par des méthodes chimiques et/ou physiques. De plus, les espèces bioaccumulatrices retenues comme bioindicatrices sont en général des espèces abondantes, relativement résistantes aux toxiques et d'une durée de vie suffisante qui leur confère une capacité d'intégration des variations de la qualité du milieu (Amiard *et al.*, 1989). Parmi les organismes de la faune terrestre, les invertébrés sont utilisés comme bioindicateurs de pollution. Il en est ainsi des mollusques bivalves et des gastéropodes terrestres et aquatiques, certains arthropodes (les crustacés), et les annélides (Polychètes, Achètes) et surtout les oligochètes (Beeby, 2001) objet de notre étude.

Introduction

Les vers de terre sont souvent appelés « ingénieurs du sol » en référence aux nombreuses fonctions du sol qu'ils influencent, aussi bien vis-à-vis de l'état physique, chimique que biologique. Ils agissent par deux moyens : une activité fouisseuse qui crée des galeries et logettes d'estivation dans le sol et la production de déjections en surface (*turricules*) ou dans le sol. Ils sont donc acteurs de la qualité des sols.

Ils sont par ailleurs très sensibles aux modifications de leur environnement ce qui permet de les utiliser comme bio-indicateurs de l'état et l'usage des sols, c'est-à-dire que le suivi de leurs populations permet de caractériser l'état de l'écosystème sol et de mettre en évidence l'impact des conditions pédoclimatiques et/ou des activités humaines sur la vie du sol.

La réponse biologique de ces bioindicateurs à la pollution se manifeste par une analyse de biomarqueurs spécifiques qui mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental. L'inhibition ou l'induction de ces biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme (Varo *et al.*, 2001)

L'objectif de ce travail est l'évaluation de la toxicité et l'effet des pesticides sur la reproduction la biomasse et la mortalité chez l'espèce dominante de ver de terre dans la région de Tébessa *Approctodea caligénosa* et en utilisant des marqueurs biochimiques, A cette fin ,nous étudierons tout d'abord le sekatore choisis comme modèle des pesticides.

I. Les oligochètes

1. Généralité

Depuis plusieurs décennies, l'étude du monde vivant du sol a pris de plus en plus d'importance, car plusieurs centaines d'années en arrière le philosophe grec Aristote respectait les vers de terre en tant qu'améliorateurs et garants de la fertilité du sol et les avait surnommé "intestins de la terre" (Charles Darwin., 1809-1882).

Les lombriciens font partie des animaux terrestres les plus anciens. Ils sont omniprésents dans tous les sols capables de soutenir les plantes. Ils se reproduisent partout, mais rarement dans les déserts, lieux constamment enneigés, les sommets des montagnes et les zones manquant presque ou entièrement en sol et végétation. Ils constituent un composant important de la communauté invertébrée dans la plupart des sols, où ils peuvent dominer l'ensemble de la macrofaune du sol sur le plan densité et biomasse souterraine globale. Ils peuvent atteindre respectivement 1 million d'individus à l'hectare et 2 tonnes par hectare (Lavelle., 1983). Dans les forêts tropicales, les lombriciens représentent environ 50% de la biomasse de la macrofaune du sol (Fragoso et Lavelle., 1992).

Les vers de terre sont des organismes communs dans le sol et jouent un rôle important au niveau de l'écosystème terrestre en tant que décomposeurs (Edwards et Bohlen., 1996). Ils jouent en effet un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique du sol mais également dans la structuration (agrégats) et dans l'aération du sol en creusant des galeries (Bartlett et *al.*, 2010). Ils ont un rôle important dans la chaîne alimentaire car ils sont une source d'alimentation pour les niveaux trophiques supérieurs.

En 1994, plus de 3600 espèces de vers de terre avaient été recensées dans le monde, auxquelles s'ajoutaient plus de soixante nouvelles espèces chaque année (Pelosi., 2008). Mais, L'inventaire systématique et la répartition des vers de terre en Algérie sont encore mal connus (Baha et *al.*, 2001 ; Omodeo et *al.*, 2003 ; Kherbouche et *al.*, 2012 ; Zeriri et *al.*, 2013). Par contre, dans la plupart des pays du pourtour méditerranéen, ce travail de base a déjà été effectué.

Les vers de terre sont les premiers récepteurs touchés par la contamination, soit par voie cutanée soit par ingestion. Ils sont plus sensibles aux polluants environnementaux, tels que les métaux lourds et les pesticides que d'autres groupes d'invertébrés (Stürzenbaum et *al.*, 1998 ; Xiao et *al.*, 2006). Ils sont la proie commune de beaucoup d'espèces vertébrées telles que des oiseaux et des musaraignes et par conséquent, la bioaccumulation de contaminants chimiques par les vers de terre implique le risque de transfert des polluants

vers les niveaux trophiques supérieurs (Marino et *al.*, 1992). Ils jouent donc un rôle principal dans le processus de biomagnification de plusieurs polluants du sol et en l'occurrence des effets indirects sur les vertébrés terrestres (Dell'Omo et *al.*, 1999). Même si la bioaccumulation des pesticides dans les vers de terre ne peut conduire à des effets significatifs sur l'animal lui-même, elle peut produire des dommages graves à des niveaux trophiques. Les vers de terre ont fait l'objet de nombreuses études tant sur un plan écologique (dénombrement, reproduction, taux de survie...) (Capowiez et *al.*, 2003 ; Mosleh et *al.*, 2003 ; Ammer et *al.*, 2006) qu'en tant que bioindicateurs de la qualité d'un sol (Pattison et *al.*, 2008 ; Suthar et *al.*, 2008). Enfin, les oligochètes terrestres s'avèrent être également un groupe largement utilisé pour le suivi écotoxicologique de la pollution d'un sol par l'analyse de biomarqueurs enzymatiques et des perturbations de leur état physiologique (Reinecke et *al.*, 2007 ; Brulle et *al.*, 2008a ; Bonnard et *al.*, 2009).

2.Morphologie

Les vers de terre ont un corps mou, composé d'une succession d'anneaux. Chaque anneau possède 8 petits poils (*soies*) qui permettent au ver de se déplacer sur et dans le sol. La présence d'une bague protubérante (*Clitellum*) chez les adultes permet de les distinguer des juvéniles. Cette bague, les puberculum et le pore mâle sont impliqués dans la reproduction (Marion et Daniel., 2014). La longueur du corps varie de quelques millimètres à 3 mètres comme certaines espèces d'Amérique du Sud. et d'Australie. 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 pour le dernier segment ou pygidium. Ces trois segments ont des rôles particuliers: pointe sensorielle pour le premier, bouche pour le deuxième et anus pour le dernier. 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, notamment chez certains Trigaster (Octochaetidae) d'Amérique centrale (James., 1991). Le caractère le plus frappant de l'anatomie externe est la présence, chez les adultes, d'un bourrelet tégumentaire, le clitellum, qui apparaît à la maturité génitale. Affectant selon les genres un nombre variable de segments, situé en diverses positions, connaissant un développement plus ou moins important, le clitellum est un caractère tout à fait général des Oligochètes (qui appartiennent au groupe des Annélides

clitellates) et d'une grande importance pour l'identification des espèces. La figure suivante montre la morphologie générale d'un ver de terre (Marino *et al.*, 1992).

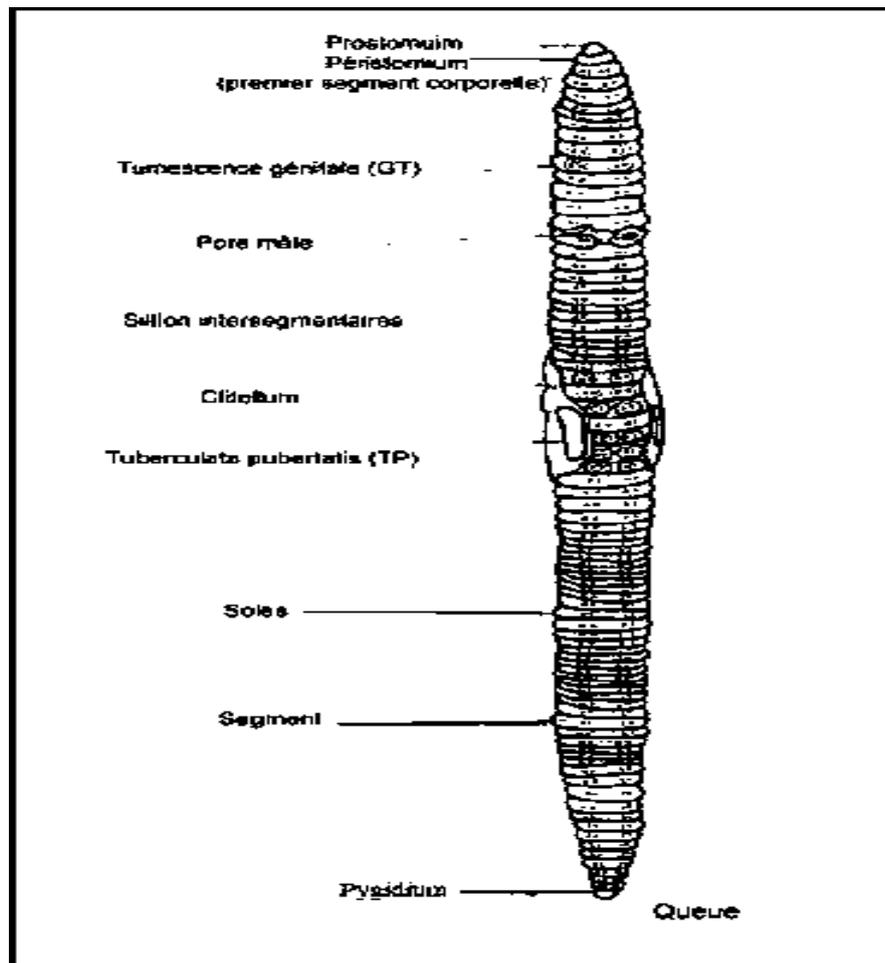


Figure 01: Morphologie générale du ver de terre (Source : futura-science.com).

3.Écologie

Les vers de terre sont sensibles à la lumière, ils sont photophobes et sortent guère de leurs glaires que la nuit, ils creusent ces galeries dans le sol soit en s'y enfonçant directement si la terre est meuble et humide, soit en régurgitant des sécrétions salivaires ramollissant la terre que les vers avalent ensuite progressivement, ils peuvent ainsi s'enfoncer jusqu'à une profondeur de 1.5 à 2 m (Beaumont et Cassier., 1981).

4.Distribution des vers de terre

Les sols présentant beaucoup de matière organique, ou du moins une couche d'humus à la surface, contiennent la plus grande faune de vers. Cependant d'autres facteurs physiques des sols sont importants quant à la distribution de ces espèces terrestres. Une section longitudinale à travers un sol révèle une stratification verticale des vers de terre. Si les plus gros vers peuvent s'enfouir à plusieurs mètres sous la surface, La distribution des jeunes vers et des petites espèces est réduite à quelques centimètres de la couche d'humus.

O observe ainsi une distribution limitée au niveau le plus élevé du sol qui contient le plus de matière organique (Ruppert et Barnes., 1994).

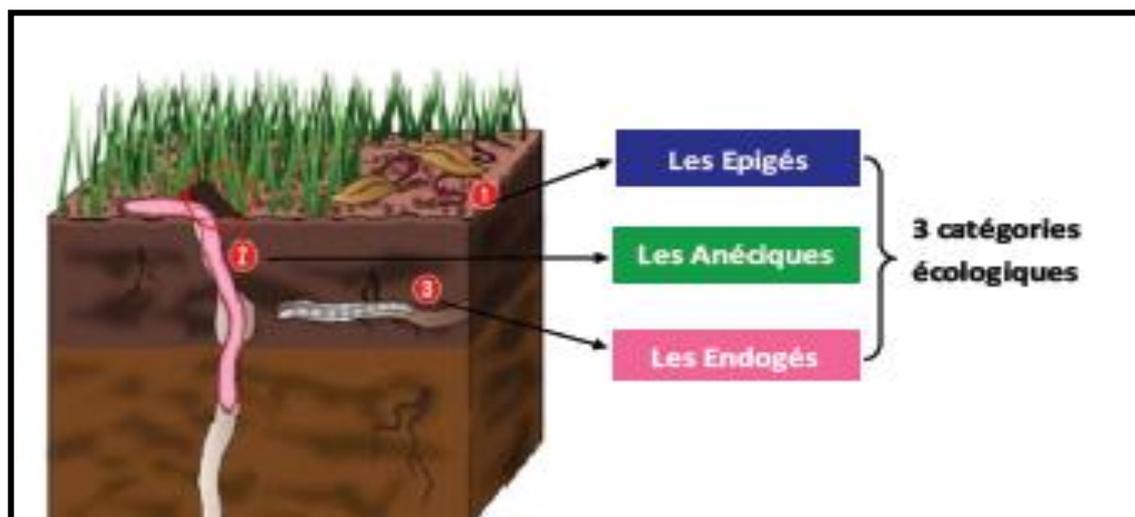


Figure 02: Localisation des catégories écologiques des vers de terre
(Marion et Daniel., 2014).

5. Catégories écologiques des vers de terre

En France, (Bouché., 1972) a recensé environ 180 espèces de lombriciens. Cet auteur a proposé de classer les vers de terre en trois catégories écologiques, basées sur des critères morphologiques (pigmentation, taille), comportementaux (alimentation, construction de galeries, mobilité) et écologiques (longévité, temps de génération, prédation, survie à la sécheresse). Toujours selon (Bouché., 1977; Edwards et Lofty., 1977; et Lee., 1985), on distingue 3 grands groupes écologiques de lombriciens.

5.1 Les épigés : qui 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).

5.2 Les endogés : qui sont des vers dépigmentés, sans couleurs ou très pâles, de taille variable (1 à 20 cm), vivant généralement dans les premiers centimètres de sol où ils construisent des galeries d'orientation quelconque (Bouché., 1977).

5.3 Les anéciques : qui sont de couleur brune, de taille moyenne à géante (10 à 110 cm), ce sont ceux qu'on appelle les "lombrics". Ils creusent des galeries verticales profondes à 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) (Tableau 1).

Tableau 01 : Principales caractéristiques des trois catégories écologiques de vers de terre décrites par (Bouché, 1972-1977).

	Espèce épigée	Espèce anécique	Espèce endogée
Alimentation	Litière décomposée à la surface du sol ; peu ou pas d'ingestion de sol	M.O décomposée à la surface du sol, dont une part est emmenée dans les galeries ; un peu d'ingestion de sol	Sol minéral avec préférence pour matériau riche en M.O
Pigmentation	Sombre, souvent ventrale et dorsale	Moyennement sombre, souvent uniquement dorsale	Peu ou pas pigmenté
Taille adultes	Petite à moyenne (10-30 mm)	Grande (10-110 cm)	Moyenne (1-20 cm) ou grands
Galeries	Pas ; quelques galeries dans 1ers cm de sol par espèces intermédiaires	Grandes galeries verticales et permanentes dans horizon minéral	Galeries continues, extensives, subhorizontales, souvent dans les 15 premiers cm de sol
Mobilité	Mouvements rapides en réponse à perturbation	Retrait rapide dans galerie mais plus lents que les épigés	Généralement lents
Longévité	Relativement courte	Relativement longue	Intermédiaire
Temps de Génération	Court	Long	Court
Survie à Sécheresse	Sous forme de Cocons	Quiescence	Diapause
Prédation	Très importante, surtout par oiseaux, mammifères et arthropodes prédateurs	Importante, surtout quand ils sont en surface, un peu protégés dans leur galerie	Faible ; un peu par oiseaux qui creusant le sol et arthropodes prédateurs
Représentants			

6.Reproduction

La majorité des espèces se reproduisent sexuellement en étant hermaphrodites protandres (les vers sont mâle avant de devenir femelle). Lors de l'accouplement, les vers de terre échangent des spermatozoïdes (fécondation croisée). (Marion et Daniel, 2014), c.-à-d. l'autofécondation est impossible et la fécondation nécessite la participation d'un partenaire sexuel. (Beaumont et Cassier, 1981).



Figure 03 : Reproduction des vers de terre (Marion et Daniel., 2014).



Figure 04 : Les cocons des vers de terre (photo personnelle).

Les vers adultes *Lumbricus castaneus* produisent plusieurs cocons par an, en fonction de leur âge (Svendsen et *al.*, 2005) et les conditions dans lesquelles ils se trouvent (Lee, 1985). Une synthèse de plusieurs études par (Satchell, 1967) montre qu'*Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea longa* et *Octolasion cyaneum*, qui sont des espèces anéciques ou endogées, produisent entre 3 à 13 cocons par an alors que les épigés *L. rubellus*, et *Dendrobaena rubidus* sont capables d'en produire entre 42 à 106 par an. L'espèce *L. terrestris* peut produire entre 10 à 25 cocons par an en fonction des conditions de température (Butt, 1993).



Figure 05 : Ver de terre sortant de son cocon (Frick., 2013).

7. Anatomie

En ce qui concerne l'anatomie du ver de terre, elle est caractérisée par la présence d'organes axiaux, s'étendant sur toute la longueur du corps de l'animal (appareil circulatoire, appareil digestif et chaîne nerveuse), d'organes métamériques pairs se répétant dans chaque segment (néphridies, cavités cœlomiques, ganglions nerveux) et d'organes à localisation stricte comme les structures génitales (Bazri., 2015).

- **Le système nerveux** est formé d'une chaîne nerveuse ventrale et d'un simple ganglion cérébroïde qui produit des neurosécrétions fondamentales pour la reproduction (Bouché., 1972).
- **Le système circulatoire** Les vers de terre présentent un système circulatoire fermé, et comporte deux vaisseaux: un ventral et un dorsal et des capillaires qui irriguent les différents organes (Bouché., 1972).
- **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-. Ces différentes spécialisations peuvent faire défaut-. Cet ensemble est suivi d'un long intestin comportant le plus souvent un repli interne, dorsal, le typhlosolis (Bouché., 1972).
- **Le système respiratoire** cutanée, les vers de terre ne possèdent pas de poumons, le corps doit rester humide pour permettre la respiration, ainsi que des (coeurs) latéraux jouant le rôle de pompes (Bouché., 1972).
- **Les néphridies** des vers de terre sont les organes de l'excrétion et de l'osmorégulation, elles jouent un rôle important dans l'élimination. Une néphridie comporte un néphrostome

prolongé par un long tube ayant une morphologie très variable qui débouche à l'extérieur par un néphridiopore. En général, il existe une paire de néphridies par segment (Bouché., 1972).

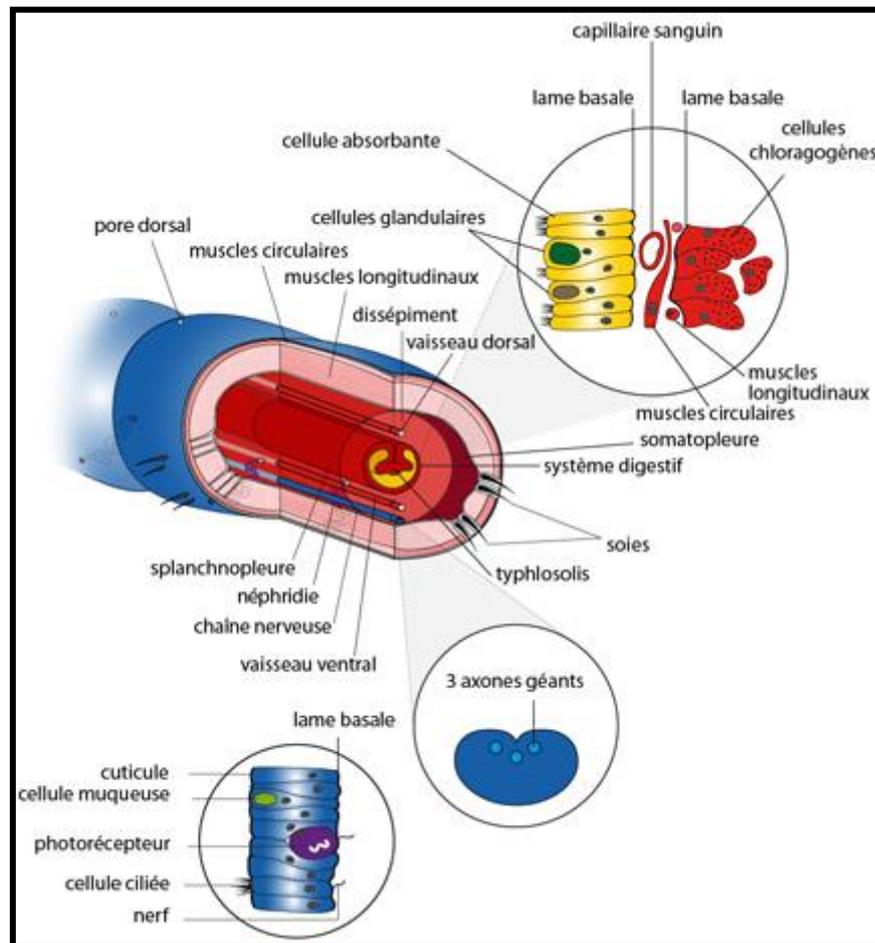


Figure 06: Anatomie d'un ver de terre (Jon., 2003).

- **Le système génital** est complexe (Figure 07):
 - ✓ **Spermathèques**: 2 paires, en arrière des métamères 9 et 10. Ce sont des poches où seront entreposés les spermatozoïdes du partenaire.
 - ✓ **Testicules**: 2 paires, sur les dissépiments antérieurs des métamères 10 et 11. Ils produisent des spermatogonies et les libèrent dans le coelome.
 - ✓ **Vésicules séminales**: 3 paires dans les métamères 10 et 11. Les spermatogonies y poursuivent la spermatogenèse et les spermatozoïdes sont déversés dans le coelome.
 - ✓ **Spermiductes**: 4 néphridies modifiées. Elles recueillent les spermatozoïdes et les véhiculent jusqu'aux 2 orifices génitaux mâles, sur le métamère 15.
 - ✓ **Ovaires**: 1 paire sur la cloison antérieure du métamère 13. Ils produisent les ovogonies et les déversent dans le coelome.

- ✓ **Ovisacs:** 1 paire sur la cloison postérieure du métamère 13. L'ovogenèse s'y poursuit et les oeufs sont libérés dans le coelome .
- ✓ **Oviductes:** 2 néphridies modifiées. Elles recueillent les oeufs et les véhiculent jusqu'aux 2 orifices génitaux femelles, sur le métamère 14 (Jon., 2003).

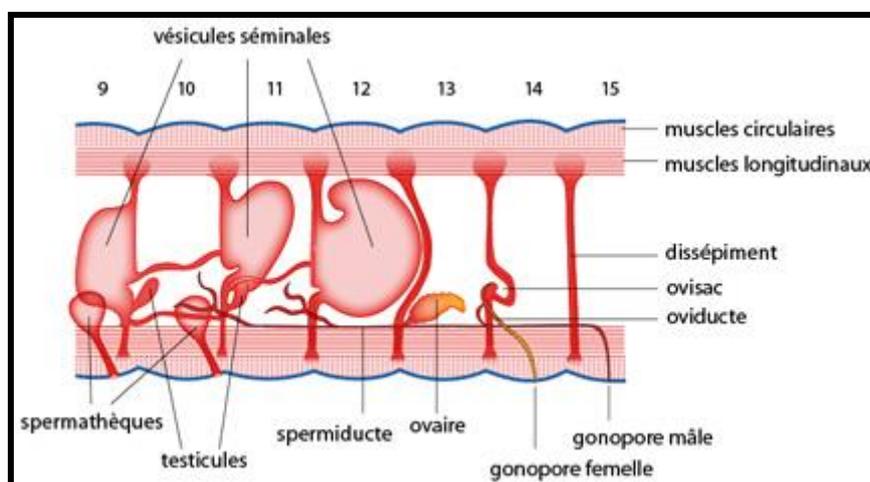


Figure 07: Système reproducteur d'un annélide (Jon., 2003).

8.Locomotion

Le lombric se déplace grâce à la contraction de nombreux muscles contenus dans chaque anneau, il rampe c'est le rampement. Ce mode de déplacement est à différencier de la reptation qui correspond à l'ondulation du corps de certains vertébrés. Il s'accroche aux aspérités du sol par les soies de la face ventrale. (Tavernier R., sd).

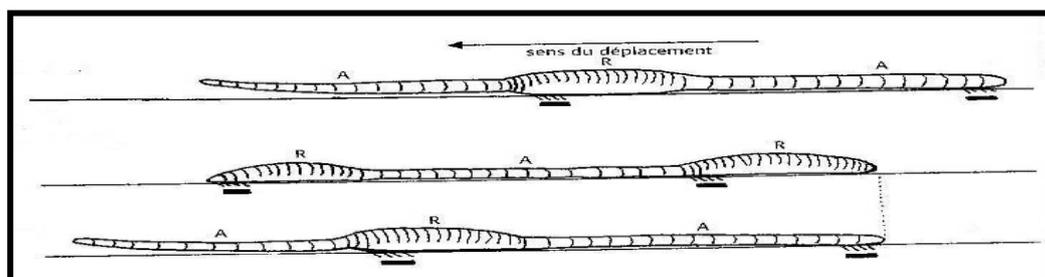


Figure 08 : Déplacement du vers de terre. **A** : allongement, **R** : raccourcissement (Tavernier R., sd).

9.Cycle de vie des vers de terre

Tous les vers de terre sont originellement hermaphrodites (Díaz Cosín., 2011). Certaines espèces sont obligatoirement biparentales, comme *L. terrestris* alors que d'autres peuvent se reproduire sans accouplement, par autofertilisation ou parthénogénèse « La parthénogénèse est une reproduction monoparentale à partir d'un seul gamète » (Sims et Gerard., 1999 ; Diaz Cosín., et al., 2011; Fernandz et al., 2012).

Un échange de spermatozoïdes a lieu lors d'un accouplement lorsque les conditions sont favorables. 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. Les cocons sont résistants aux conditions défavorables comme la sécheresse ou une modification de la température (Edwards et Bohlen., 1996). (Parmelee et Crossley., 1988; et Edwards et *al.*, 1995) suggèrent qu'ils peuvent être, pour certaines espèces comme *L. rubellus*, les seules formes de vie existantes pendant les mauvaises périodes. Le dessèchement du sol provoque la déshydratation du cocon, ce qui peut retarder le développement embryonnaire (Evans et Guild., 1948b ; Gerard., 1967).

Les vers adultes produisent plusieurs cocons par an, en fonction de leur âge (Svendsen et *al.*, 2005) et les conditions dans lesquelles ils se trouvent (Lee., 1985). Une synthèse de plusieurs études par (Satchell.,1967) montre qu'*Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea longa* et *Octalasion cyaneum*, qui sont des espèces anéciques ou endogées, produisent entre 3 à 13 cocons par an alors que les épigés *L. rubellus*, *Lumbricus castaneus* et *Dendrobaena rubidus* sont capables d'en produire entre 42 à 106 par an. L'espèce *L. terrestris* peut produire entre 10 à 25 cocons par an en fonction des conditions de température (Butt, 1993). Un ou plusieurs individus immatures, appelés juvéniles, éclosent quelques temps plus tard. (Butt., 1993).

Le ver de terre juvénile va progressivement acquérir des caractères sexuels secondaires externes liés à l'accouplement comme le puberculum tuberculeux ou les pores sexuels, il sera alors au stade sub-adulte. Un clitellum, organe lié au processus de ponte, va ensuite se former et permettre au ver de terre de devenir sexuellement mature pour pouvoir se reproduire à son tour ; il devient alors adulte (Boström et Lofs., 1996).

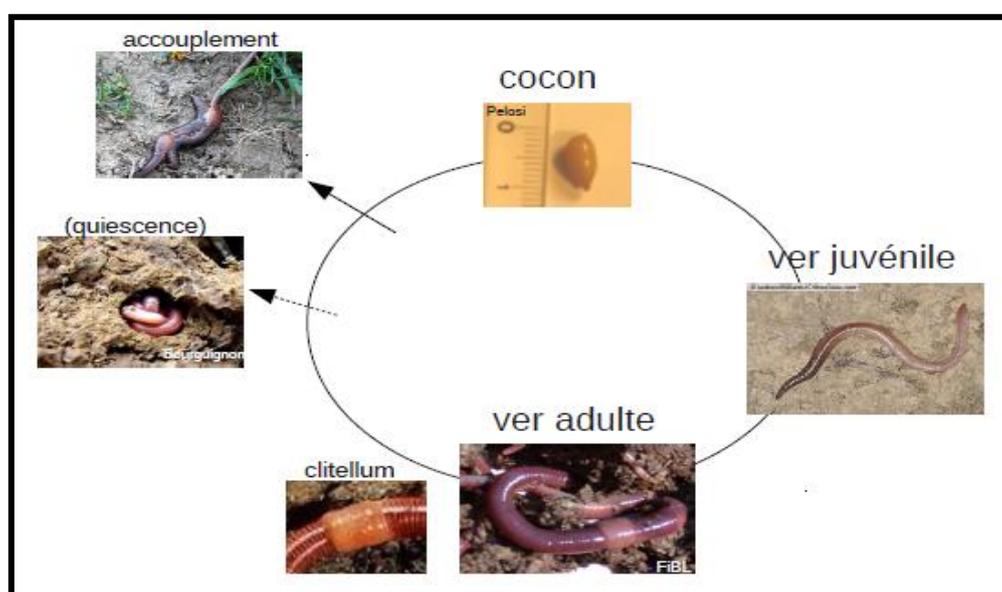


Figure 09 : Cycle de vie des vers de terre(Pelosi. C., 2008).

10.L'alimentation

Les vers de terre sont omnivores (Edwards et Bohlen., 1996 ; Sims et Gerard., 1999) car, s'ils se nourrissent principalement des fragments de matériel végétal plus ou moins dégradés et incorporés dans le sol, ils ingèrent également des microorganismes vivants, des champignons, de la micro- et de la mésofaune vivante ou morte. On distingue deux régimes alimentaires chez les vers de terre : d'une part, les détritivores, qui se nourrissent de litière végétale et de racines mortes situés à la surface ou dans les horizons de surface, riches en matières organiques. Il s'agit principalement des anéciques et des épigés. D'autre part, les vers de terre géophages qui ingèrent de grandes quantités de sol au niveau des horizons plus profonds. Ce sont essentiellement des endogés. (Perel., 1977) distinguait ainsi les vers de terre qui « fabriquent » l'humus de ceux qui le consomment.

A court terme, les matières organiques (mortes ou vivantes) ingérées par les lombriciens sont dégradées et mélangées à la fraction minérale du sol durant le transit intestinal. Au cours de ce processus, dans lequel interviennent activement les microorganismes du tube digestif, les propriétés physiques et chimiques du sol sont modifiées. En excréant les matières ingérées, les vers de terre modifient alors localement le sol. Les rejets sont enrichis en nutriments utilisables par les microorganismes et les plantes. La biomasse et l'activité microbienne sont ainsi localement favorisées (Tiunov et Scheu., 1999) car les rejets sont généralement plus riche en azote, en phosphore et en matières organiques humifiées que le sol environnant (Cluzeau et *al.*, 1994).

11.Importance et caractéristique des vers de terre

Les vers de terre font probablement partie des organismes terrestres les plus anciens. En termes de biomasse, ils dominent la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres (Girard et *al.*, 2005). En tant qu'ingénieur de l'écosystème, au sens décrit par (Jones et *al.*, 1994), ils modifient directement ou indirectement la disponibilité des ressources pour d'autres organismes de la biocénose. Ils ont un rôle important au sein des agrosystèmes car ils participent à la dynamique physique, chimique et biologique du sol, à travers trois principales fonctions (Pelosi. C., 2008).

11.1. Création des galeries

A cause de la forte contribution aux taux de renouvellement du sol, les vers de terre sont d'importance spéciale pour le cycle des nutriments, la structure du sol et les processus de transfert de matières (Buck et *al.*, 1999). Les vers de terre créent des structures qui favorisent,

dans le sol, une nette amélioration de la porosité, de l'aération, du régime hydrique et de la stabilité structurale en forant un réseau permanent plus ou moins profond. Le réseau de galeries sera différent selon la catégorie écologique des lombriciens. Les galeries vont former des voies de pénétration préférentielles pour les racines.

11.2. Drilosphère

Le système drilosphère qui est la zone du sol influencée par les vers de terre tandis que la fraction de la terre qui est passée par le tube digestif des vers de terre et qui constitue la paroi des galeries, d'où ensemble du volume de terre sous l'influence des vers de terre, (Brown et *al.*, 2000).

11.3. Formation des turricules

On appelle turricules les rejets présents à la surface du sol et déjections ceux qui sont déposées sur les parois des galeries. La taille des turricules varie de quelques millimètres à quelques centimètres et dépend de celle des espèces (Darwin., 1881). Les turricules remontées à la surface par les vers de terre représentent un poids de 40 à 120 tonnes par an et ont une valeur fertilisante considérable. De plus, même si les vers de terre n'augmentent pas les quantités d'éléments nutritifs, ils les rendent plus assimilables tout en stabilisant le pH (Manfred., 2008). Cependant, la production et l'abondance des turricules de vers de terre apparaissent très variables en fonction du milieu des espèces de vers présentes ainsi que du couvert végétal. La disparition des turricules est de 70% en saison des pluies, et de 20% en période sèche. Les turricules sont donc intégrés plus lentement à la matrice du sol en période sèche (Binet et Le Bayon., 1999 ; citée par Huynh., 2009).

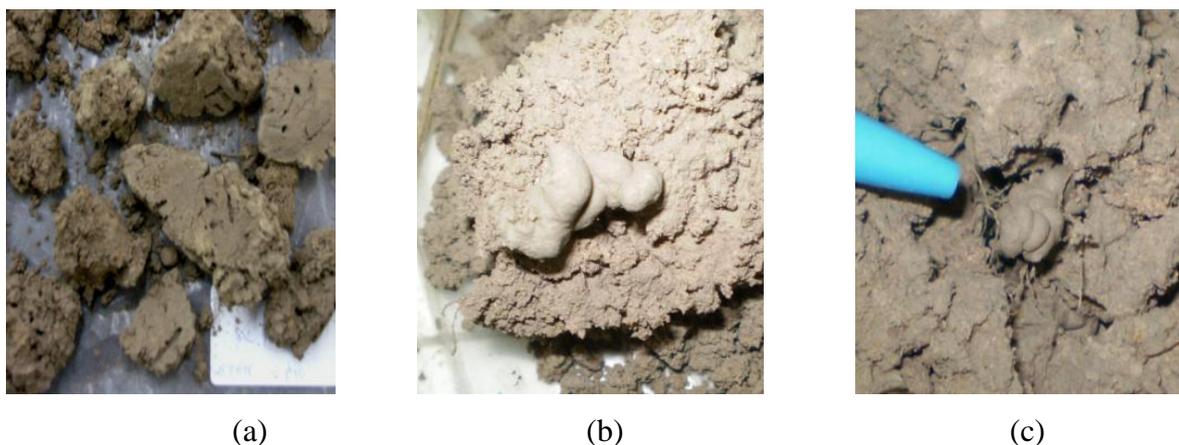


Figure 10 : Structures construites par des vers de terre :

(a) galeries, (b) déjection dans les galeries (fèces) et (c) à la surface (turricules)(Darwin., 1881).

12. Utilisation du ver de terre comme bio-indicateur

En plus de leur vaste distribution et de leur importance écologique, plusieurs éléments font du ver de terre un bon candidat pour l'étude de la contamination de l'écosystème terrestre. Cet organisme est en effet en contact direct et constant avec le sol. La surface externe de son épiderme est très vascularisée, ce qui permet une entrée directe des contaminants présents dans le milieu, lors d'un processus très semblable à l'absorption pulmonaire chez les organismes supérieurs. Son mode alimentaire fournit également une autre porte d'entrée aux contaminants via l'ingestion de particules de sol (Lanno et *al.*, 2004). Ces animaux peuvent donc être contaminés par des éléments exogènes suite à une exposition cutanée ou par ingestion (Vijver et *al.*, 2003). Plusieurs études ont démontré que les vers bioaccumulent et bioconcentrent les contaminants (Hopkin., 1989).

II. Pesticides

1. Histoire de pesticides

La lutte contre les organismes nuisibles aux cultures a été de tous temps une préoccupation de l'agriculteur. Pendant longtemps, l'essentiel des moyens était de nature physique ramassage des larves, des insectes adultes, destruction des plantes malades par le feu, désherbage manuel puis mécanique. L'utilisation de produits chimiques est malgré assez ancienne comme l'indique l'emploi du soufre cité par Homère et celle de l'arsenic signalé par Pline l'Ancien (Calvet et *al.*, 2005). Au cours du XIXe siècle, les traitements insecticides, fongicides et herbicides apparaissent et prennent une grande importance en raison du développement de graves épidémies qui atteignent des productions agricoles vitales. Deux périodes peuvent être distinguées pour décrire le développement très important des pesticides. Ce sont la première et la deuxième moitié du XXe siècle séparées par la deuxième guerre mondiale. L'utilisation des produits phytopharmaceutiques s'est beaucoup développée au cours de la deuxième moitié du XXe siècle (Flogeac., 2004). Il existe aujourd'hui une pharmacopée très importante offrant aux divers utilisateurs une gamme variée de produits aux diverses activités sensées pouvoir répondre aux problèmes de protection des plantes et d'une façon générale aux problèmes posés par les organismes vivants nuisibles. Signalons, d'ailleurs, que à côté des insecticides, fongicides et des herbicides, il existe bien d'autres catégories de pesticides destinés à lutter contre d'autres organismes tels que les acariens, les nématodes, les mollusques, les rongeurs....etc (Ndao., 2008).

2. Définitions de pesticides

Le terme de pesticide dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement. Les pesticides, dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles (Alain P., 2004).

Selon la définition de la FAO, un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles. Les pesticides sont le plus souvent commercialisés sous formes de préparations constituées d'une ou plusieurs substances actives (FAO., 2004).

L'article 2 de la loi algérienne du journal officiel N° 87-17 du 1 Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire désigne par pesticides :

"Toute substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétales" (Loi algérienne N°87-17 relative à la protection phytosanitaire).

Plusieurs autres termes et expressions définissent les pesticides. Ainsi, produits phytosanitaires, produits antiparasitaires à usage agricole, produits agri sanitaires, produits agro pharmaceutiques, produits phytopharmaceutiques sont les autres dénominations de ce terme (Aubertot J. N., et al 2005).

3. Action de pesticides et classification

L'action des pesticides peut être directe - par destruction de l'élément nuisible - ou indirecte, par réduction des capacités de reproduction des insectes par exemple, ou en pénétrant d'abord la plante-hôte, qui élimine ensuite les bactéries nuisibles. Ces pesticides à action indirecte sont dits aussi systémiques.

- ✓ **Les pesticides sont classés selon leur cible :** en plus des herbicides, insecticides et fongicides, bien connus, il existe les acaricides (contre les acariens), les corvicides (contre les oiseaux), les molluscicides (contre les limaces), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), etc (Record., 1965; Gunsolus et Curran., 1999).
- ✓ **Les pesticides peuvent être également regroupés selon les usages** auxquels ils sont destinés : cultures végétales, entretiens d'espaces verts, plantes ornementales, voiries,

traitement du bois, élevage... Selon leur structure moléculaire et leurs propriétés, ils appartiennent à différentes familles chimiques (Isabelle B. et *al.*, 2013).

4. Les grandes classes de pesticides

4.1. Les insecticide: sont toutes les substances qui tuent les insectes, empêchent l'éclosion des œufs, altèrent le développement normal des larves ou la maturation sexuelle (feurie c, et *al.*, 2003). C'est le plus important groupe de pesticides qui englobe plusieurs familles: les insecticides organochlorés, les insecticides carbamates, les insecticides organophosphorés, les insecticides végétaux et autres produites (Belmonte. V, et *al.*, 2005).

4.2. Les fongicides: servant à combattre la prolifération des champignons phytopathogènes. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Il existe plusieurs familles de fongicides, les plus importantes sont : carbamates (Carbendazine, Mancozèbe,...), triazoles (Bromuconazole, Triticonazole,...), dérivés du benzène (Chlorothalonil, Quintozène), dicarboximides (Folpel, Iprodione,...) (Zeriri I., 2014).

4.3. Les herbicides : les plus utilisés des pesticides en tonnages et en surfaces traitées, ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures (Zeriri I., 2014).

4.3.1. Composition et formulation

Un herbicide correspond au nom commercial du produit commercialisé par un distributeur ou un fabricant (R Cox., 2003). Ce produit se compose de deux types de constituants :

- **Les matières actives** qui lui confèrent son activité herbicide et
- **Les formulants qui complètent la formulation.** Cette dernière correspond à la forme physique sous laquelle le pesticide est mis sous le marché, les plus répandues sont les suivantes :
 - **Pour les formulations solides :** les granulés solubles, les poudres mouillables.
 - **Pour les formulations liquides :** les concentrés solubles, les concentrés émulsionnables, les suspensions concentrées (Boschetto., 2013).

Les formulants sont des produits qui améliorent la préparation pour sa qualité : la stabilité (émulsifiant), la présentation (colorant, répulsif) ou pour son comportement physique lors de la pulvérisation : mouillant, adhésif, etc.... (Rocher., 2004).

La teneur en matière active s'exprime en (g/l) pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides (Boschetto., 2013).

4.3.2. Classification des herbicides:

Il existe aujourd'hui de nombreux herbicides à la disposition des agriculteurs. On peut les classer selon différents critères.

4.3.2.1. Selon le but poursuivi:

4.3.2.1.1. Herbicides totaux: Ces herbicides visent la destruction de toutes les espèces présentes. Ils peuvent avoir une rémanence (persistance de l'effet du produit après son utilisation) très courte ou très longue.

4.3.2.1.2. Herbicides sélectifs: Ils visent à détruire les adventices sans endommager la prairie ou la culture.

- **sélectivité de nature physiologique :** la plante cultivée est capable de se débarrasser de l'herbicide.
- **sélectivité de position :** certains herbicides ne descendent pas dans le sol.
- **sélectivité liée aux caractères morphologiques des plantes :** forte pilosité, cuticule imperméable au produit, méristème protégé, ...
- **sélectivité liée au stade de développement des plantes :** adventices jeunes et faibles alors que les plantes cultivées sont fortes.
- **sélectivité artificielle :** certains produits contiennent des phytoprotecteurs ou "safeneurs" qui stimule la décomposition de l'herbicide chez la plante cultivée.

4.3.2.1.3 Herbicides utilisés pour des usages particuliers

- défanage des pommes de terre
- dévitalisation des souches
- inhibiteur de croissance

4.3.2.2. Selon le moment d'application

4.3.2.2.1. Traitements préventifs

- **Herbicides pour traitement en présemis ou préplantation :** éradication en période de non culture, nettoyage d'un sol resali par les adventices
- **Herbicides pour traitement de prélevée ou de postsemis :** longue rémanence pour empêcher la germination des graines d'adventices
- **Herbicides résiduels :** destinés à tenir un sol propre. L'épandage est donc réalisé avant la levée des adventices.

4.3.2.2.2. Traitements curatifs

- **Herbicides pour traitement de post levée** : souvent des herbicides foliaires appliqués après la levée des plantes considérées. Ils doivent donc être très sélectifs. La majorité des produits utilisés en prairie se retrouve dans cette catégorie.

4.3.2.3. Selon le mode de pénétration dans la plante

4.3.2.3.1. Pénétration dans les tissus méristématiques

Pénètre au moment de la levée. Ce sont des herbicides résiduels appelés aussi herbicide de germination.

4.3.2.3.2. Pénétration au niveau des racines

Ils sont dits radiculaires ou racinaires. Ils sont systémiques.

4.3.2.3.3. Pénétration au niveau des feuilles

- **foliaire de contact** : pénétrants ou translaminaires.
- **foliaire systémique de translocation** : pénètre par la feuille puis est véhiculée dans la plante.

4.3.2.3.4. Selon leur sélectivité

- antidicotylées.
- Antigaminées.
- défoliants pour le feuillage avant récolte.
- débroussaillants pour éliminer les plantes ligneuses ou pour la dévitalisation des souches.

4.3.2.3.5. Selon la famille chimique

Dérivés de l'urée, des sulfonilurées, de l'atrazine, ... (Record., 1965)

4.3.3. Mode d'actions des herbicides:

Les herbicides peuvent agir sur :

- la photosyn
- thèse
- les membranes cellulaires
- la synthèse des pigments, d'acides aminés ou d'enzymes.
- perméabilisation des parois cellulaires (Record., 1965)

4.3.4. Impact sur l'environnement

La part des herbicides qui entre en contact avec les organismes cibles, ou qu'ils ingèrent, est minime. Elle est évaluée à 0.3% ce qui veut dire que 99.7 % des substances déversées s'en vont "ailleurs" dans l'environnement, principalement dans les sols et les eaux

(Tissu *et al.*, 2006). Comparée à la toxicité humaine, la nocivité pour l'environnement passe souvent au second plan. Or, de l'utilisation accumulée de l'herbicide résulte une dégradation progressive de la biodiversité des sols agricoles qui peuvent ainsi être assimilés plus à des systèmes artificialisés dévolus à une culture intensive qu'à des écosystèmes terrestres naturels (CCME., 2012). Ainsi, les herbicides parviennent jusqu'au sol et touchent bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes. Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol. Les vers de terre, sont particulièrement atteints par les herbicides via l'eau polluée qui imbibe le sol (Mamy *et al.*, 2011). Les morts de mammifères imputables aux herbicides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Comme par exemple les oiseaux après ingestion directe d'insectes ayant ingéré des toxiques (Marc., 2004 ; Fortier *et al.*, 2005). Pour les poissons, la plupart des herbicides sont classés dans les catégories des produits non ou légèrement toxiques, sauf certains qui sont classés dans les catégories modérément à hautement toxiques, dont le 2,4-D, dichlobénil, glyphosate.... (Jerry Lee., 2002). Dans notre étude, nous nous intéressons à l'herbicide Sekator.

4.3.5. Toxicité de herbicides

On distingue, la toxicité pour l'homme (applicateur, public, personnels assurant la fabrication du produit, voire le consommateur), pour les animaux domestiques et l'écotoxicité pour le milieu : faune sauvage, micro-organismes, champignons, flore non-cible. Les risques pour la santé humaine en cas d'exposition aiguë à des doses élevées de pesticides, sont connus de longue date et ont conduit à la publication de recommandations aux utilisateurs de manière à éviter ces risques (Kersanté., 2003).

De fait, les pesticides peuvent être absorbés par inhalation, par ingestion via l'alimentation et par contact cutané. Les effets liés à une intoxication aiguë se produisent généralement tout de suite ou peu de temps après une exposition significative à de pesticides (Tellier., 2006).

La toxicité chronique est, quant à elle, nettement moins bien connue et beaucoup plus difficile à mettre en évidence. Elle peut être associée à une absorption de faibles quantités de pesticides présents dans différents milieux sur une longue période de temps. Elle peut provoquer différents problèmes de santé : cancers, problèmes de reproduction, troubles neurologiques (dont la maladie de Parkinson), affaiblissement du système immunitaire, troubles hormonaux...etc (Camard et Franconi., 2004).

La dose recommandée pour l'utilisation des sulfonilurées est relativement faible (approximativement 2-75 g/ha) et les résidus dans le sol varient entre 0,01-0,07 ng/g peuvent réduire la croissance des plantes (Moyer *et al.*, 1990).

Ces herbicides peuvent finir à la surface des eaux et représentent un risque potentiel pour les plantes aquatiques, les algues et les invertébrés. En général, leur toxicité est d'habitude évaluée chez les plantes et il est supposé que ces herbicides ont relativement une faible toxicité aigue et chronique pour les animaux (J. Zaltauskaite et V. Brazaityte., 2011).

1-Présentation générale de la région d'étude :

1.1. Situation géographique de l'Algérie :

L'Algérie est un pays d'Afrique du nord faisant partie du Maghreb. Avec une superficie de 2381741 Km² l'Algérie est la plus vaste nation en méditerranée, bordée au nord par la mer méditerranée sur une distance de 1280 Km. Elle partage également sept frontières terrestres avec les pays suivants : la Tunisie au Nord-Est, la Libye à l'Est, le Niger au Sud-Est, le territoire du Sahara occidentale, la Mauritanie, le Mali au Sud-Ouest, et enfin le Maroc à l'Ouest.

- **Coordonnées lambert** : 28° 00 N, 3° 00 E.



Figure 11 : Situation géographique de l'Algérie (Google Earth).

1.2. Situation géographique de la région d'étude « Tébessa » :

La wilaya de Tébessa est située au Nord-Est de l'Algérie, avec ses 13878 Km² elle se rattache naturellement à l'immense étendue steppique du pays dont la superficie des parcours représente plus de la moitié de la superficie totale de la wilaya. Elle est limitée au Nord par la wilaya de Souk-Ahras, à l'Ouest par les wilayas d'Oum el Bouaghi et Khenchela, au Sud par la wilaya d'Oued et à l'Est, sur 300 Km de frontières, par le territoire Tunisien (Djenna., 2014).

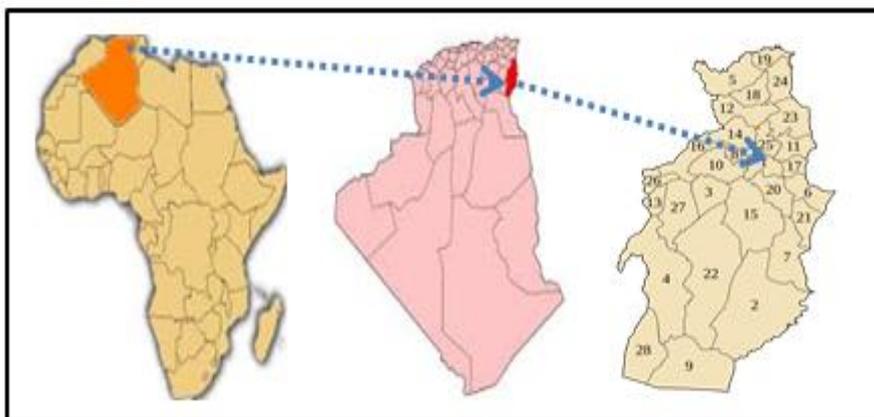


Figure 12 : Situation de la région d'étude « Tébessa »

(https://fr.wikipedia.org/wiki/Communes_de_la_wilaya_de_T%C3%A9bessa).

La wilaya de Tébessa englobe 28 communes, dont dix (10) frontalières, encadrées par 12 dairas

- **Coordonnées Lambert :** 35° 29 N, 08° 08 E.

1.3. Situation géographique du site d'EL-Merdja :

Notre étude est réalisée sur des vers collectés à El Merdja, celle-ci est localisée au Nord-Est de la ville de Tébessa, elle est limitée, à l'Est par la route départementale (Tébessa, El Kouif) à l'Ouest par l'aéroport de Tébessa et au Nord par le Djebel El-Dyr.

- **Coordonnées Lambert :** 35° 29 N, 08° 08 E.

D'après les coordonnées Lambert, la région d'El-Mardja est située dans les hautes plaines et fait partie de l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais.

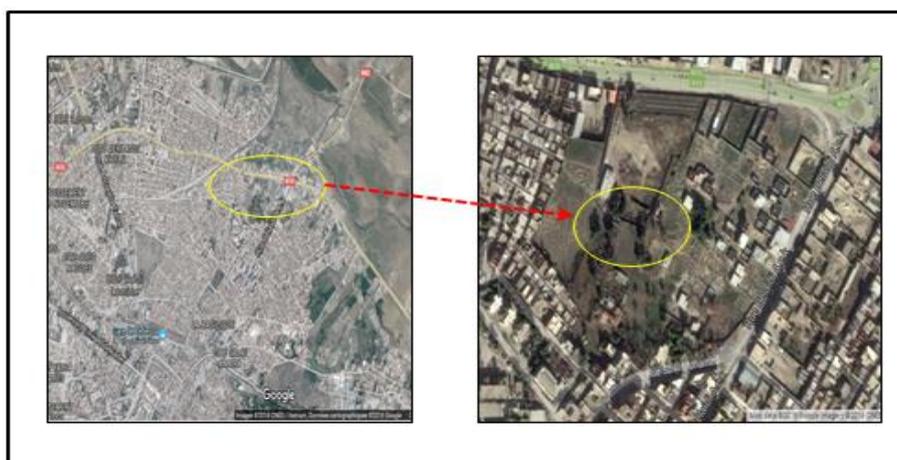


Figure 13 : Situation du site d'EL-Merdja (Google Earth).

2. Matérielle biologique :

Les lombriciens représentent une composante majeure de la macrofaune du sol puisque, dans la plupart des écosystèmes terrestres, ils dominent en biomasse (Pélosi., 2008). Le régime alimentaire de ver de terre fondé sur la consommation de terre riche en matière organique ou de litière en décomposition en fait d'excellents bioindicateurs de pollution des sols (François. R., 2000).

Les vers de terre utilisés dans cette étude appartiennent à l'espèce généralement trouvée à Tébessa et spécifiquement dans le site d'El Mardja (*Aporrectodea caliginosa*). La classification de cette espèce est la suivante :

- + Règne : *Animalia*
- + Phylum : *Annelida*
- + Classe : *Clitellata*
- + Sous-classe : *Oligochaeta* (Oligochètes)
- + Ordre : *Opisthopora*
- + Sous-ordre : *Lumbricina*
- + Superfamille : *Lumbricidae*
- + Famille : *Lumbricidae*
- + Genre : *Aporrectodea*
- + Espèce : *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826).



Figure14: *Aporrectodea Caliginosa* (photo personnelle).

2.1. L'intérêt du choix du ver de terre:

Les vers de terre demandent peu d'entretien et sont peu coûteux. Ces caractéristiques ainsi que les contributions écologiques majeures de ces organismes en font un bon modèle pour la recherche de biomarqueurs (P. Emilien et al., 2004).

3. Matériel Chimique

3.1. Présentation de la molécule utilisée

Sekator OD : est un herbicide à base de deux sulfolynurées : l'Amidosulfuron et Iodosulfuron méthyl (Matières actives : 100 g/l Amidosulfuron méthyl + 25 g/l Iodosulfuron méthyl + 250 g/l Mefenpyr diethyl). L'association de ces deux matières actives assure le contrôle des dicotylédones permettant ainsi un bon développement de la culture des blés. Il est sélectif et bien toléré par les blés traités. Sekator OD se caractérise aussi par une adhésion optimale, une résistance au lessivage et un potentiel de pénétration renforcé grâce à la nouvelle formulation OD.

SEKATOR OD un anti-dicotylédones complet caractérisé par :

- ✚ Une excellente sélectivité au blé.
- ✚ Une formulation innovante qui améliore les performances du produit.



Figure 15: le produit utilisé (Sekator OD)(photos personnelle).

3.1.1. Fiche d'identité

- **Matière active:** 100 g/l Amidosulfuron + 25g/l iodosulfuron +250 g/l Safner.
- **Formulation:** Huile dispersible dans l'eau (OD) (<http://www.cropscience.bayer.ma>).
- **Dose homologuée:** 150ml/ha sur les adventices dicotylédones du blé dur et blé tendre.
- **Mode d'action :** Inhibiteur d'ALS (Acétolactase synthétase), activité foliaire prédominante avec double système descendante et ascendante.

- **Large spectre d'action** : Sekator® OD assure une efficacité remarquable sur plus de 30 espèces dicotylédones notamment les plus difficiles à détruire telles que : gaillet, chardon...etc.
- **Conseil d'utilisation** :
 - La bouillie conseillée est de 300 à 400 l/ha.
 - Bien agiter Sekator avant de le verser dans le pulvérisateur.

3.1.2. Avantages de produit :

- ✓ Contrôle d'un spectre complet de dicotylédones comprenant le gaillet et le chardon, la moutarde et la fumeterre.
- ✓ Efficacité de haut niveau grâce aux 2 substances actives ALS de nouvelle génération.
- ✓ Excellente sélectivité sur blé grâce au phytoprotecteur.
- ✓ Performance maximale à faible dose avec la nouvelle technologie de formulation.
- ✓ Une forte pluie qui apparaît 2 heures après l'application n'affecte en rien l'efficacité du produit.
- ✓ Flexibilité d'emploi (www.algeria.bayercropscience.com).

4.Traitement: L'herbicide Sekator a été appliqué dans un sol artificiel durant 08 semaine à différente dose sur des vers *A. caliginosa* : (1; 2,5; 5; 7,5 et 10 µg/kg) plus le témoin (avec seulement l'eau distillé).

- La première partie de ce travail consacrée à l'étude des effets aigus et chroniques à l'égard des vers de terre.
- La deuxième partie a pour but le dosage de 03 biomarqueurs enzymatique(AchE, GST et catalase), après 01, 02, 04, 07et 14jour d'exposition. La dose utilisé dans cette partie est 1ml /l correspondant à la dose sub-létale.

5.Conditions expérimentales: Tous les essais ont été effectués sur des vers de terre appartenant à l'espèce *A. caliginosa*, adultes avec une clitellum bien développé, dans les conditions suivantes :

- ✚ **Photopériodes** : 12 h de lumière / 12 h d'obscurité
- ✚ **Température** 20 ± 2° C ;
- ✚ **Le pH** : ajusté sur 6,0±0,5
- ✚ **L'humidité** : de 35%
- ✚ **Boîtes en plastique** : de dimension (26×16,5×12cm) (Haimbach., 1984).

6. Préparation du sol artificiel

Dans cet essai, on utilise un sol artificiel composé comme suit :

- 70% de sable (selon la quantité de CaCO_3 nécessaire) séché à l'air, composé en majorité de sable fin (plus de 50% des particules mesurent entre 50 et 200 μm).
- 20% d'argile (taux de kaolinite de préférence supérieur à 30%) .
- 10% de tourbe (pH aussi proche que possible de 5,5-6,0, pas de résidus visibles de plantes, finement broyée, séchée jusqu'à atteindre un taux d'humidité donné).
- 0,3 à 1,0% de carbonate de calcium pour obtenir un pH initial de $6,0 \pm 0,5$. (SETAC., 1998; ISO., 1996).
- $\leq 1\%$ de fumier (OCDE., 2010).



Figure16 : préparation de sol artificiel (photos personnelle).

7. Protocole expérimental :

Les adultes ont été enlevés du sol artificiel 24 h avant l'utilisation .en suit, les vers de terre sont rincés avec de l'eau, séchés avec du papier absorbant. Ils ont ensuite été mis sur du papier filtre, dans des boîtes de Pétri pendant 24 heures. Après les 24 heures, on pèse les vers de terres un par un et on dépose chaque 10 vers de terre de poids proche dans un boîte.

Ces étapes ont été répétées de la même manière sans vider l'estomac. Chaque semaine on pèse les terrariums afin de remplacer l'humidité perdue en ajoutant de l'eau distillée. La mortalité a été comptée chaque semaine en enlevant le sol artificiel, La durée d'exposition est de:- les 4 premières semaines pour l'évaluation de la toxicité et

- les 4 semaine supplémentaires pour tester l'effet sur la reproduction.

7.1. Essais toxicologiques

7.1.1. Essai de toxicité aigue: Les vers de terre sont exposés à différentes doses de Sekator (1; 2,5; 5; 7,5; 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) calculés selon RAD.

7.1.1.1. Suivi du pourcentage de Mortalité

Le taux de mortalité a été déterminé en comptant le nombre de vers de terre morts. La mortalité des individus dans chaque boîte est calculée chaque semaine pendant 4 semaines, les vers de terre sont considérés morts s'ils ne réagissent pas à la stimulation mécanique au niveau de la région antérieure de leur corps (Abbott, W. S., 1925).

7.1.1.2. Inhibition de Croissance :

Chaque semaine et pendant 4 semaines on compte le nombre de vers vivants et on les pèse après leur rinçage et séchage.

Le taux de croissance est déterminé en utilisant l'équation de (Martin., 1986) :

$$G_{ln} = W_0 - W_t / W_0 \times 100$$

G_{ln}: inhibition de croissance.

w₀: est le poids moyen des vers de terre au début de l'exposition.

w_t : est le poids moyen des vers de terre après la durée d'exposition.

7.1.1.3. Tests de toxicité

Ces tests ont pour but d'estimer les doses létales 50 et 90 (DL 50 et DL 90) de Sekator vis-à-vis de *A. caliginosa*. Ils sont conduits avec 5 répétitions comportant chacune 10 individus.

7.1.1.3.1. Mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les vers de terre traités par Sekator à différentes doses ainsi que chez les témoins est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre des vers de terre morts après traitement}}{\text{Nombre total des vers de terre traités}} \times 100$$

7.1.1.3.2. Mortalité corrigée

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule (d'Abbott., 1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

7.1.1.3.3. Transformation angulaire

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon (Bliss., 1938), cité par (Fisher et Yates., 1957). Les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification suivie par le classement des concentrations par le test Tuckey.

7.1.1.3.4. Analyse des probits

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probit (Fisher et Yates., 1957). Le logarithme décimal des concentrations en fonction du probit nous permet de déterminer la droite de régression à partir de laquelle les CL50 et CL90 sont précisées (Finney., 1971).

- **Intervalle de confiance**

La méthode de (Swaroop et *al.*, 1966) précise l'intervalle de confiance (IC) avec une probabilité de 95% (Limite supérieure = CL50 × FCL50 ; Limite inférieure = CL50 / FCL50).

Aussi deux paramètres sont nécessaires :

- Le 1er paramètre est le S (Sloppe), donné par la formule suivante :

$$S = (CL84 / CL50 + CL50 / CL16) / 2$$

- Le 2ème paramètre est la CL50 donné par la formule suivante :

$$FCL50 = \text{Anti log}$$

$$C = 2,77 / \log S$$

N : Nombre total des individus testés (CL16 – CL84).

7.2. Essai de toxicité chronique

7.2.1. Suivre de reproduction: A 8 semaine: l'effet sur la reproduction est mesuré en comptant le nombre des cocons et juvéniles éclos.

7.2.2. Dosage des biomarqueurs

Les dosages biochimiques ont été effectués sur des vers de terre adultes ayant un clitellium évident. Le dosage de l'acétylcholinestérase, de la glutathion S-transférase et de la catalase a été déterminé sur des vers entier témoins et traités au Sekator OD (Dose sub létale) avec 2 répétition pour chaque enzymes à différents temps d'exposition (1, 2, 4, 7 et 14 jours).

7.2.2.1. dosages des activités enzymatiques: Les protocoles de dosage des activités enzymatiques ont été établis à partir de méthodologies décrites dans la littérature sur des invertébrés marins (Bocquené et *al.*, 1990 ; Geret et *al.*, 2002 ; Roméo et *al.*, 2006) ou des lombrics (Saint-Denis et *al.*, 1998 ; Ribera et *al.*, 2001 Brown et *al.*, 2004).

- **Mise au point du protocole d'extraction protéique**

La première étape du dosage nécessite un broyage individuel des lombrics dans un tampon d'extraction des protéines. Puis homogénéisation dans un homogénéisateur à ultrasons durant 1 min environ dans la glace. Toute l'expérimentation doit se dérouler dans la glace afin de ne pas dénaturer les enzymes. En suite l'étape de centrifugation de chaque enzyme : AChE centrifugés à 9000 tours/mn pendant 15 mn, GST centrifugés à 14000 tours/mn pendant 30 mn et CAT centrifugés à 15000 tours/mn pendant 10 mn, En fin, cette étape permet la récupération des surnageant de chaque fraction.

7.2.2.1.1. Dosage de l'activité Acétylcholine Estérase (ACh E)

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman et *al.*, 1961) décrite précédemment (Sifi et *al.*, 2007 ; Amira et *al.*, 2011 ; Zaidi et Soltani, 2010). Elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée, libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine en présence de DTNB (acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune.

Le dosage de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de ; 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (39,6 g de DTNB, 15 mg CO₃HNa, dans 10 ml de tampon tris 0,1 M, pH 7) et 1 ml du tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 mn de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques, s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (100 µl).

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante:

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{1.36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

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.

M g de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

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

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig et al (1974); celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenus dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDNB) à une température de 37°C et à un pH de 6.5. la variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm (HABIG *et al.*, 1974)

Le dosage de l'activité spécifique de la GST consiste à faire réagir: une fraction aliquote de 0,2 ml est ajoutée à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM) - GSH (5 mM); (20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml tampon phosphate 0,1 M, pH 6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant.

La lecture des absorbances s'effectue toutes les 1nm pendant 5 nm à 340nm

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

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

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (μM/mn/mg de protéines).

Δ Do: 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.

7.2.2.1.3. Dosage de la catalase

L'activité de la catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Claiborne (1985). Elle est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7).

Le dosage est réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 02 : Dosage de la catalase.

	Volume de surnagent (µl)	Volume du tampon phosphate (µl)	Solution H ₂ O ₂ (µl)
Blanc	0	1000	500
Echantillon	10	990	500

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO}/\text{mn}}{0,040} / \text{mg de protéines}$$

ΔDO : $\Delta\text{DO}/\text{mn}$ (blanc) - $\Delta\text{DO}/\text{mn}$ (Echantillon)

0,040 : coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

7.2.2.1.3. Dosage des Protéines totales

La méthode réalisée pour quantifier les protéines est celle de **Bradford (1976)**, qui utilise le bleu de Coomassie BBC comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines) (BRADFORD., 1976).

- Préparation de la solution de travail

La solution de BBC se prépare comme suit : dissoudre 50 mg de BBC dans 25 ml d'éthanol 95°. Après une agitation de 2 heures, on ajoute 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500 ml avec de l'eau distillée.

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma, France) titrant 1mg/ml, est réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 03: Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Albumine de sérum de bœuf BAS (μ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (μ l)	4	4	4	4	4	4

L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm.

III. RESULTATS

Cette partie est consacrée à l'évaluation de la toxicité potentielle de l'herbicide testé (Sekator) à travers le suivi du pourcentage de mortalité et le taux de croissance des vers de terre ainsi que la reproduction.

1. Essais toxicologiques :

1.1. Effet du Sekator sur le taux de mortalité après 14 jours d'exposition

Après traitement avec le Sekator à différentes doses (1 ; 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 μ g/kg), nous avons mentionné dans le tableau 4 le taux observé de mortalité après 14 jour d'exposition.

Il est de l'ordre de $2,5 \pm 5$ % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à $15,00 \pm 5,77$ % pour la dose la plus élevée (10 μ g/kg). Les mortalités observées sont par la suite corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes doses (Tableau04).

Tableau 04: Toxicité du Sekator (μ g/kg) administré à différentes doses à l'égard d'*A. Caliginosa* après 14 jours d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Dose Répétitions	Témoin	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	10	10	10	20
R02	0	0	0	10	20	10
R03	0	0	10	10	10	20
R04	10	10	0	0	10	10
M \pm SD	2.5 \pm 5	2.5 \pm 5	5 \pm 5.77	7.5 \pm 5	12.5 \pm 5	15 \pm 5.77

Tableau 05: Toxicité du Sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d'*A. Caliginosa* après 14 jours d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Dose \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R1	0	10	10	10	20
R2	0	0	10	20	10
R3	0	0	0	10	20
R4	0	10	10	10	10
M \pm SD	0.00 \pm 0,00	5 \pm 5.77	7.5 \pm 5	12.5 \pm 5	15 \pm 5.77

Les taux corrigés font l'objet d'une transformation angulaire (Tableau 06) et d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 07). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significatif ($p < 0,001$). Le classement des concentrations par le test de Tukey révèle trois groupes: le premier (A) renferme la concentration 5 mg/L, le second groupe (B) la concentration 7,6 mg/L et le troisième (C) la concentration 10 mg/L (Tableau 8, Fig. 10).

Tableau 6: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 14 jour d'exposition: transformation angulaire ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Dose \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	18.43	18.43	18.43	26.57
R02	0	0	18.43	26.57	18.43
R03	0	0	0	18.43	26.57
R04	0	18.43	18.43	18.43	18.43
M+-Sd	0 \pm 0	9.21 \pm 10.64	13.82 \pm 9.21.	20.46 \pm 4.07	22.5 \pm 4.69

Tableau 07: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d'*A. Caliginosa* après 14 jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm \text{SD}$; $n=4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Dose	4	1317.2	329.3	6.95	0.002
Résiduelle	15	710.9	47.4		
totale	19	2028.1			

* significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($p < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 08: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes doses à l'égard d'*A. Caliginosa* après 14 jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	classement
1	0	0	A
2.5	5	9.21	AB
5	7.5	13.82	AB
7.5	12.5	20.46	B
10	15	22.5	B

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 9) en fonction du logarithme décimal des concentrations avec un coefficient de détermination $R^2 = 84.9\%$, révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les doses létales 50 (DL50) et 90 (DL90) déterminées à partir de la droite de régression avec leur intervalle de confiance sont respectivement : $15.85 \mu\text{g}/\text{kg}$ (14.17-17.72) et $35.54 \mu\text{g}/\text{kg}$ (31.79-39.75) (Tableau 10, Fig. 11).

Tableau 09 : Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 14 jour d'exposition : transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Doses ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1	2.5	5	7.5	10
Mortalités corrigées	0	5	7.5	12.5	15
Probits	0	3.36	3.56	3.85	3.96

Tableau 10: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 14 jours de *A. Caliginosa*: détermination des DL50 et DL90 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) et leurs intervalles de confiance.

traitement	Droite de régression	Slope	DL ₅₀ (IC)	DL ₉₀ (IC)
Sekator	$Y=3.7129X+0.7391$	1.84	14.04(12.58 \pm 15.67)	31.06(27.83 \pm 34.67)

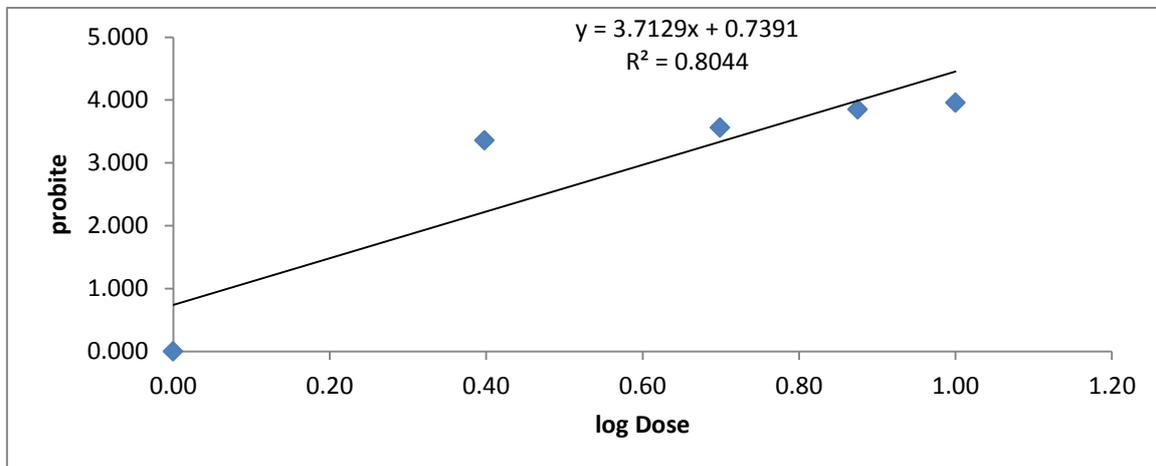


Figure 17. Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après 14 jours d'exposition d'*A. Caliginosa* : Analyse des probits.

Tableau11: les doses létales à différents temps(jours).

Jour \ dose	DL50	DL90
7	66.62	213.68
14	15.85	35.54
21	148	332.62
28	107.09	220.94

1.2- Evaluation du taux de croissance :

La figure (18) met en évidence l'évolution du taux de croissance des vers de terre en fonction du temps et en présence de doses croissantes de sekator. Ainsi, nous remarquons que chez les vers de terre témoins et traités avec la plus faible dose (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$), il n'y avait pas d'inhibition du taux de croissance au cours de la période d'exposition. En revanche, les doses (2.5; 7.5 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) manifestent une inhibition de la croissance des individus d'*A. caliginosa* après 28 jours d'exposition.

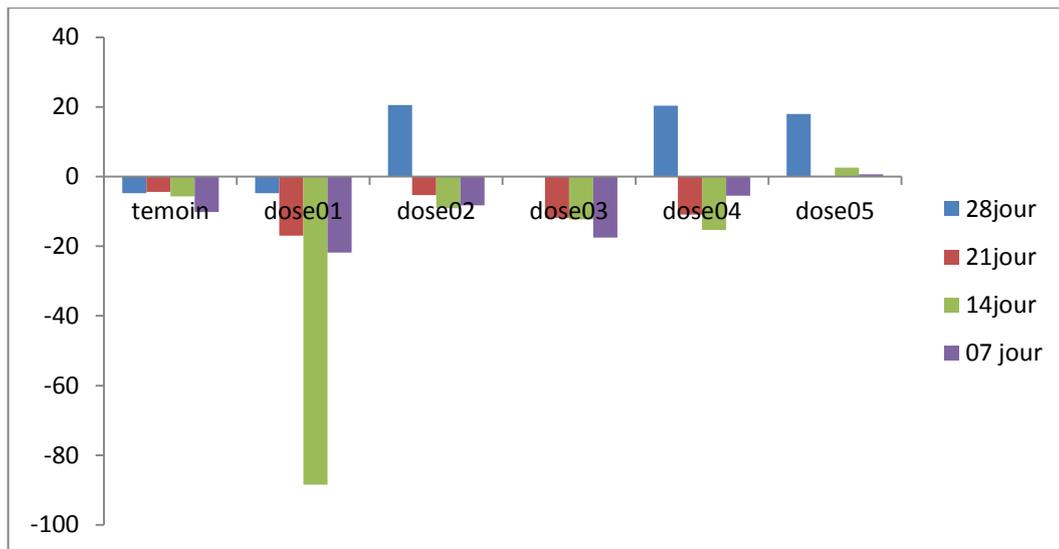


Figure 18: Effet de concentrations croissantes de Sekator sur le taux de croissance des vers de terre *A. Caliginosa* en fonction du temps.

1.3. Evaluation du taux d'éclosion

Le taux d'éclosion chez *A. caliginosa* est réduit sous l'effet des différentes doses utilisées. Cette réduction n'est significative que sous l'effet des deux plus hautes doses (7,5 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) par rapport aux séries témoin ($p < 0,05$).

Tableaux 12: Effet du sekator sur le taux d'éclosion des vers *A. caliginosa*

	Taux (%)	écart
Témoin	75	50
Dose 1	25	0
Dose 2	25	28.87
Dose 3	20.83	25
Dose 4	0	0
Dose 5	0	0

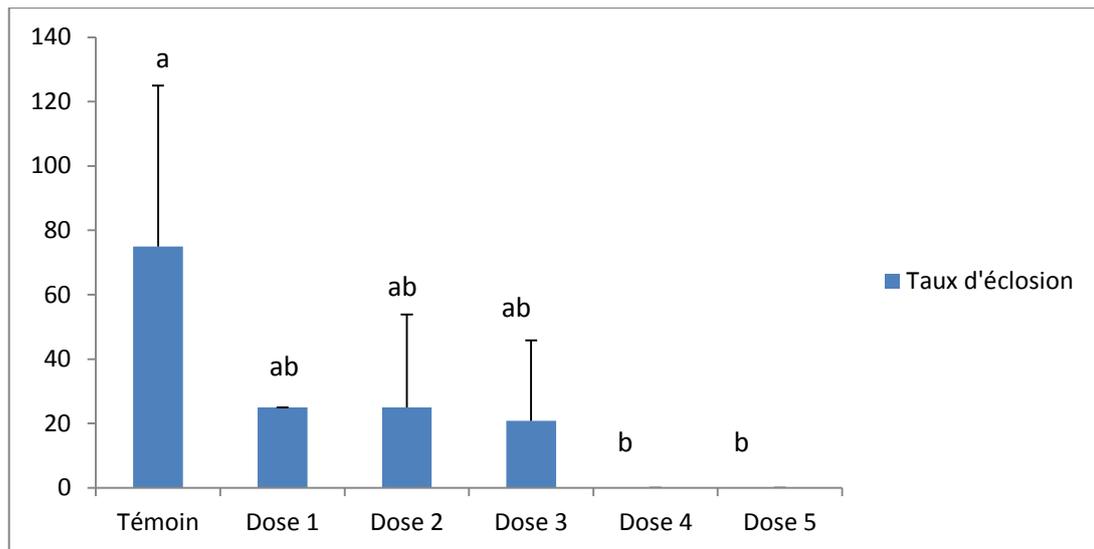


Figure 19: Effet du sekator sur le taux d'éclosion des vers de terre.

1.4.Effet sur la morphologie des vers :

Des changements morphologiques tels que constriction et gonflement paraissent à la région antérieure des vers traités à la plus haute dose (10 μ g/kg) après 4 semaines d'exposition. En plus, une dégénérescence accentuée de la partie postérieure est remarquée conduisant à une fragmentation du corps de l'animal (figure A, B, C).



Figure 20: (A, B,C), les anomalies morphologiques des vers exposés à l'herbicide Sekator dans sol artificiel.

2. Effet du Sekator sur les biomarqueurs biochimiques

2.1. La gamme d'étalonnage

La gamme d'étalonnage exprimée par l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (Figure 21) permet de calculer les quantités de protéines d'*A. Caliginosa* des séries témoins et traitées.

Tableau 13 : dosage des protéine; réalisation de la gamme d'étalonnage

Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1	2	3	4	5	6
Absorbance	0.175	0.326	0.457	0.476	0.62	0.723

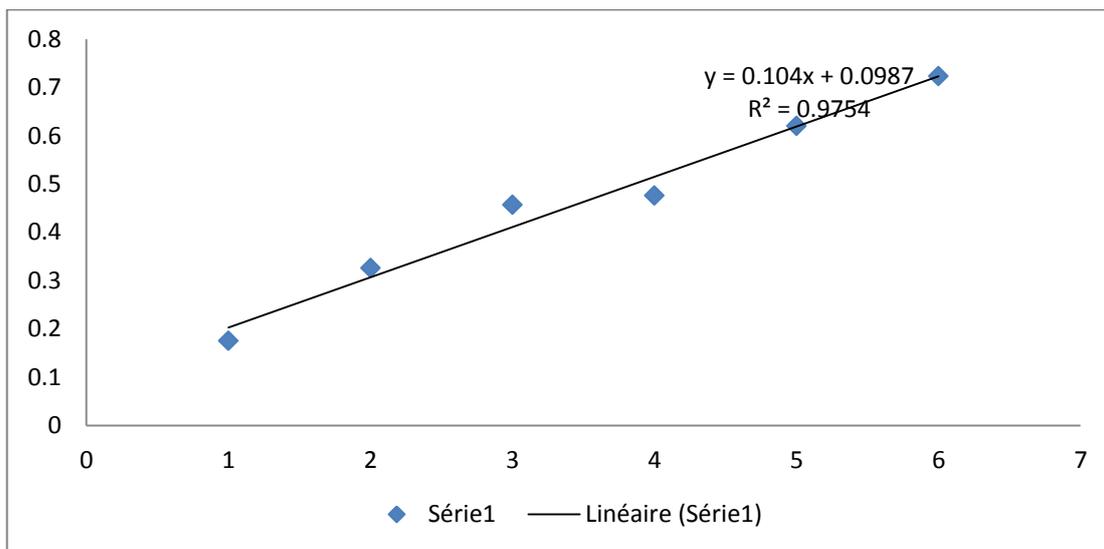


Figure 21: Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination)

2.2. Activité de l'acétylcholinestérase

L'activité enzymatique de l'AChE est déterminée selon la méthode d'Ellman et *al.* (1961) au niveau du vers entier *A. Caliginosa*. Cette activité est exprimée en nM/mn/mg de protéines. L'activité de l'AChE a été mesurée durant la période d'exposition au Sekator (01, 02, 04, 07, et 14 jour). Au cours de la période d'exposition, les individus de *A. Caliginosa* traités avec le Sekator, Chez les témoins, les valeurs observées ne varient pas significativement ($p > 0,05$) en fonction du temps, et aussi dans le traitement dans les jour 01, 07, et 14 mai il y a une différence significative après 2 jours d'exposition. En comparant les série témoin et traitée, on observe qu'il y a une variation significative ($p < 0,05$) de l'activité enzymatique d'Ache après 2 jours de traitement (tableau 14).

Tableau 14. Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier de *A. Caliginosa* durant la période d'exposition au Sekator (dose subletale) ($m \pm SD$; $n= 4$).

Les moyennes d'un même traitement suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que celles d'un même temps suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$

Séries	Témoin	Dose
Temps (jours)		
1	76,62±4,17 A a	99,65±3.44 A a
2	74,86±19.17 A a	17,85±20.54 B b
4	104,52±28.08 A a	88,45±3.42 A a
7	78,69±34.33 A a	125,15±54.93 A a
14	81,37±12.34 A a	70,33±4.33 AB a

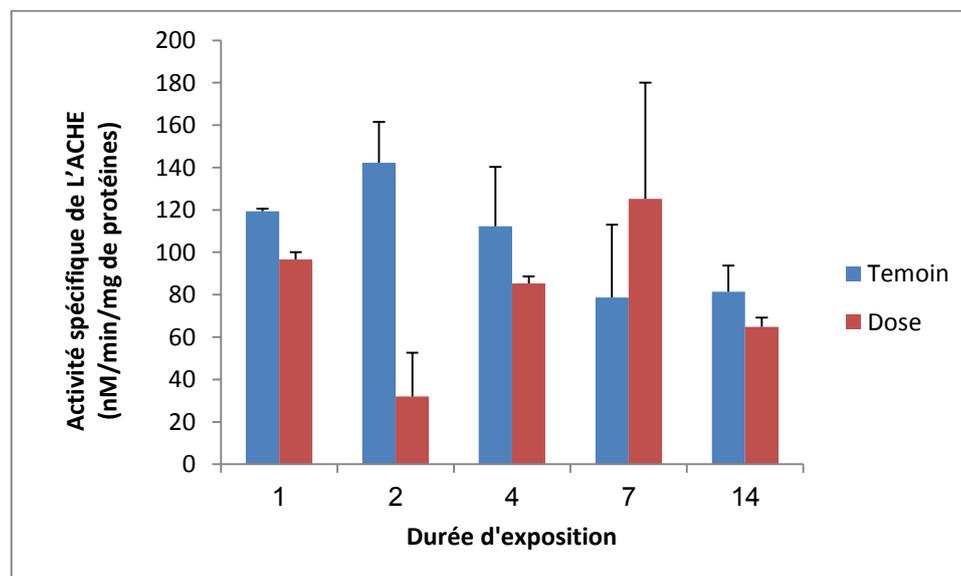


Figure 22 : Activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa* durant la période d'exposition au Sekator ($m \pm SD$; $n= 4$).

2.3. Activité de la glutathion S-transférase

La détermination de l'activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) est estimée par application de la formule de Habig et *al.* (1974) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa*. Le traitement des individus de *A. Caliginosa* avec le Sekator provoque une augmentation statistiquement non significative de l'activité spécifique de la GST au cours de la période d'étude d'exposition. Cette augmentation de l'activité de la GST finit par une chute hautement significative ($p < 0,01$) au dernier jour d'exposition (14 jours). D'autre part, en comparant les séries traitées avec celles témoins on constate qu'il y'a une diminution hautement significative après 14 jours de traitement (tableau 37).

Tableau 15. Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa* durant la période d'exposition au Sekator (dose subletale) ($m \pm SD$; $n=4$).

Les moyennes d'un même traitement suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que celles d'un même temps suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$.

Séries Temps (jours)	Témoin	Dose
1	823,12±442,04 A a	785,09±233,92 AB a
2	1330,96±200,96 A a	1085,61±393,74A a
4	1153,80±28,82 A a	1051,43±340,00 A a
7	908,39±358,99 A a	1047,39±124,00 A a
14	1545,50±289,21 A a	206,97±149,90 B b

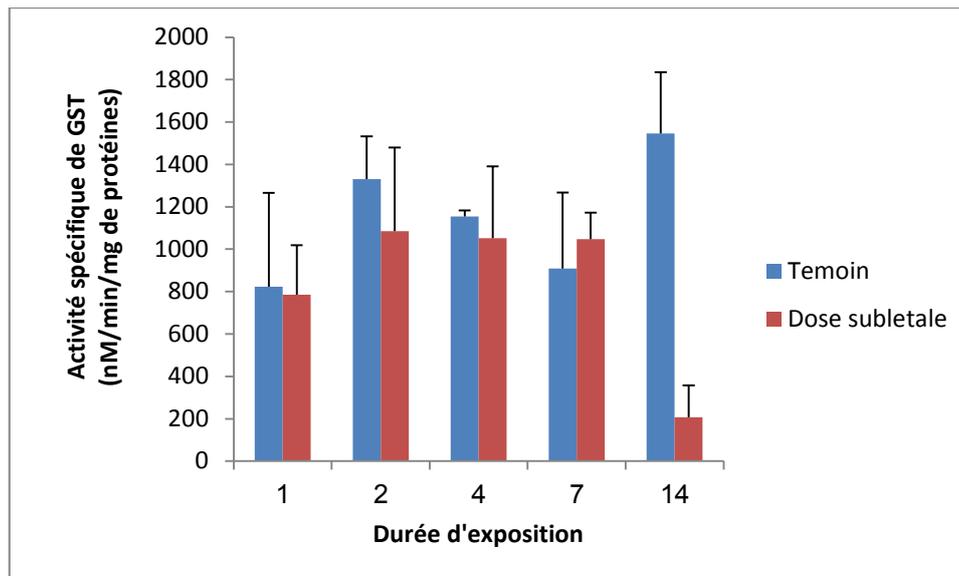


Figure 23. Activité spécifique de la GST (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier du vers *A. Caliginosa* durant l'exposition au Sekator (Dose subletale) ($m \pm SD$; $n=4$).

2.4. Activité de la catalase

La détermination de l'activité enzymatique de la CAT (nM/mn/mg de protéines) est réalisée selon Claiborne (1985) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa*. Comme réponse au traitement avec le Sekator, les individus d'*A. Caliginosa* présentent des variations de l'activité spécifique de la CAT au cours du temps d'exposition. Chez les témoins, l'activité de la CAT varie de $3499,45 \pm 998,65$ nM/mn/mg de protéines au début de l'expérience à $3834,84 \pm 695,92$ nM/mn/mg de protéines après 4 jours du traitement. Les résultats obtenus présentent après comparaison des moyennes chez les traités comparativement aux témoins une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité de la CAT à 2 jours d'exposition (Tableau 40, Fig. 22). Un effet traitement significatif ($p < 0,05$), un effet temps significatif ($p < 0,05$) sont enregistrés.

Tableau 16. Activité spécifique de la CAT (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa* durant la période d'exposition au Sekator (dose subletale) ($m \pm SD$; $n= 4$).

Les moyennes d'un même traitement suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que celles d'un même temps suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$.

Séries Temps (jour)	Témoin	Dose
1	3499,45±998,65 A a	2979,57±335,65 A a
2	3373,46±72,41 A a	1139,48±325,82 B b
4	3834,84±695,92 A a	2340,00±593,1 AB a

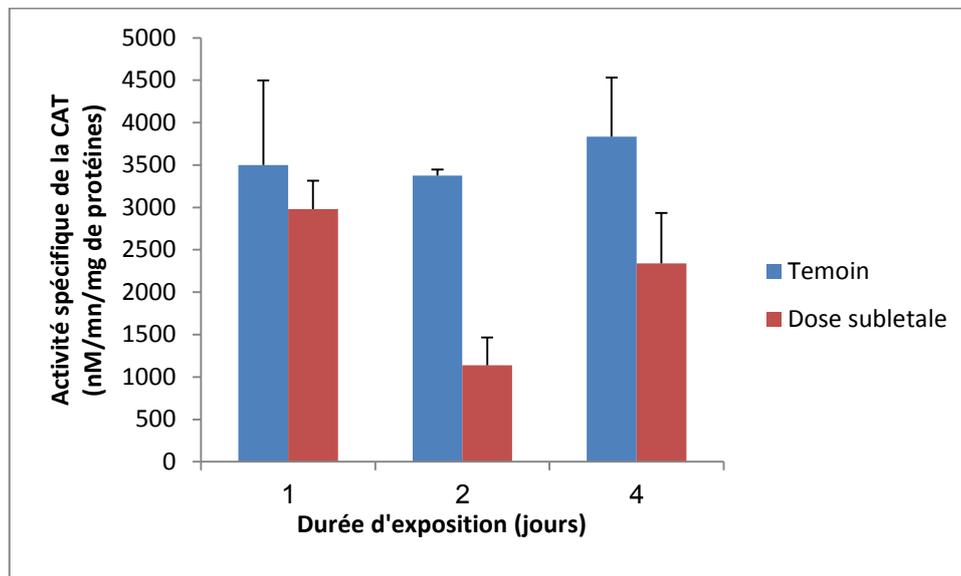


Figure 24: Activité spécifique de la CAT (nM/mn/mg de protéines) au niveau du corps entier d'*A. Caliginosa* durant l'exposition au Sekator (dose subletale) ($m \pm SD$; $n=4$).

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).

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur les effets du Sekator sur les vers de terre à l'aide d'une approche des sols enrichis en laboratoire où les critères d'évaluation, la mortalité et la croissance ont été mesurés.

1.Toxicité de Sekator

Des essais de toxicité sur des individus adultes d'*A caliginosa* exposés au Sekator à différentes doses (1 ; 2.5 ; 5 ; 7.5 et 10 µg/kg) ont été effectués afin d'estimer les doses létales 50 (DL50) et 90 (DL90) ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% à différents temps d'exposition (1, 2, 3, et 4 semaines). Les doses létales exprimées en µg/kg sont de l'ordre de 66.62 ; 15.85 ; 148 ; 107.09 à 1, 2, 3, et 4 semaines respectivement pour les DL50 alors que celles des DL90 correspondent à 213.68; 35.54 ; 332.62 et 220.94 respectivement. On note que les valeurs de DL50 et DL90 sont beaucoup plus grandes par rapport aux valeurs utilisées suggérant ainsi que les valeurs des résidus de cet herbicide dans le sol 0,01-0,07ng/g (J Zaltauskaite et V Brazaityte., 2011) n'ont pas d'effet remarquable sur la mortalité des vers de terre.

D'autre part, on constate que Sekator manifeste une toxicité dose-effet lors des deux premières semaines. Nos résultats sont similaires à ceux signalés par (J Zaltauskaite et V Brazaityte., 2011) où ils ont constaté que les micro-invertébrés *Daphnia magna* sont très sensibles et l'application de cet herbicide cause 50-100% de mortalité.

2.Effet de Sekator sur la croissance

La mesure de la mortalité et du changement de la biomasse d'un organisme sont des tests couramment utilisés pour déterminer l'impact des substances écotoxiques sur les vers de terre. Le changement de biomasse est la différence entre la masse initiale du ver de terre et sa masse à la fin de la période d'exposition au

contaminant. Elle est exprimée en pourcentage de la masse initiale et est comparée à un témoin (M. Leveque., 2014).

Le second paramètre mesuré dans notre étude est le taux de croissance des vers de terre. Il ressort de nos résultats que le Sekator réduit le taux de croissance aux plus fortes concentrations (2,5 ; 5 ; 7,5 et 10 μ g/kg). Ce résultat est en accord avec les travaux de (Mostert et *al.*, 2000) qui a testé l'effet du cinq pesticides (le Cyfluthrine, le Carbaryl, le Chlorpyrifos, le Fipronil et l'Imidaclopride) sur le ver de terre ou encore ceux de (Gomez-Eyles et *al.*, 2009) qui a testé la toxicité d'une mixture de pesticide. Aussi, les travaux de (M E. I. Badawy et *al.*, 2013) constatent que les pesticides buprofezin, lufenuron, and triflumuron inhibent la croissance des vers *A caliginosa*. D'autre part, une décroissance de la croissance des vers *Eiseni fetida* est observée sous l'effet de concentrations subletales de la dieldrin.

3.Effet sur la morphologie:

Des changements morphologiques tels que constriction et gonflement paraissent à la région antérieure des vers traités à la plus haute dose (3,27 μ g/kg) après 4 semaines d'exposition. En plus, une dégénérescence accentuée de la partie postérieure est remarquée conduisant à une fragmentation du corps de l'animal.

Ce type de dégénérescence est peut être dû aux hauts niveaux d'utilisation des réserves énergétiques. En conséquence, une autolyse des tissus a lieu. Nos résultats sont en concordance avec ceux de (J. Venkateswara Rao et P. Kavitha, 2008), où ils constataient des changements morphologiques chez les vers *eisenia fetida* traités avec l'insecticide Azodrin à la concentration 0.46 mg/cm² sur du papier filtre après 12 et 48 heures. Des changements similaires sont signalés chez cette espèce exposée au même insecticide (>150 mg/kg) dans un sol artificiel.

4.Effet sur la reproduction :

Le taux d'éclosion chez *A. caliginosa* est réduit sous l'effet des différentes doses utilisées. Cette réduction n'est significative que sous l'effet des deux plus hautes doses (7,5 et 10 μ g/kg) par rapport aux séries témoin. Nos résultats sont similaires avec les travaux de (M G Berghausen et *al.*, 2015) qui ont constaté que le taux d'éclosion des vers *L. terrestris* et *A. caliginosa* est réduit sous l'effet de l'herbicide sekator. Le pourcentage de cocons éclos chez *L. terrestris* décroît de 43% à 17% et de 71% à 32% chez *A. caliginosa*.

En revanche, le taux d'éclosion des juvéniles n'est pas affecté sous l'effet de diméthoate and lambda cyhalothrin (J K. Whalen *et al.*, 2012).

5.Effet sur les biomarqueurs :

5.1.Effet sur l'acétylcholinestérase

Les acétylcholinestérases (AChE : EC 3.1.1.7) sont des enzymes essentielle 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 au niveau du corps entier d'*A caliginosa* traités avec le Sekator à la dose subletale (1µg/kg) révèle une inhibition de l'activité de cette enzyme après 2 et 14 jours d'exposition.

En outre, 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).

Les travaux de Bouhafs *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. En effet, dans notre travail, nous avons montré que l'activité AchE diminue suite à l'exposition des vers de terre aux différentes concentrations du sekator. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par 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). Ainsi, l'inhibition de l'activité AchE chez notre

espèce : le ver de terre *A.caliginosa* exposé au sekator vient confirmer le rôle primordial de cette espèce comme un organisme bioindicateur de la pollution.

5.2.Effet sur la GST :

Parallèlement à cela, nous nous sommes intéressés à l'activité GST qui est une enzyme de biotransformation de phase II. Cette enzyme est largement distribuée dans le règne animal (Livingstone, 1991),

L'activité de la GST a également été largement utilisé comme un biomarqueur de stress (Fitzpatrick *et al.*, 1997 ; Shailaja & D'Silva, 2003; Cunha *et al.*, 2007).

Nos résultats montrent qu'il y'a une augmentation de l'activité de la GST chez les séries traitées avec la dose subletale de Sekator au 1^{er}, 2^{eme}, 4^{eme} et 7^{eme} jour et ensuite une diminution significative est enregistrée au 14^{eme} jour.

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). De ce fait, De nombreuses études ont montré après exposition aux polluants une augmentation et/ou réduction de la GST dans divers organismes aquatiques (Geracitano *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2004; Ait Alla *et al.*, 2006). En fait, une inhibition de cette dernière a été observée chez la moule *Mytilus galloprovincialis* contaminée par le benzo[a]pyrène (Akcha *et al.*, 2000). Des études menées aussi en terrain ont montré de même une inhibition de la réponse des GST chez des Bivalves *Scrobicula plana* collectés dans un site contaminé par comparaison à des organismes provenant de sites de référence (Erkuden *et al.*, 2004). De même, une étude menée par Stephensen *et al.*, 2000) a montré une absence de changement chez le Poisson *Myoxocephalus scorpius* provenant des sites contaminés par rapport à leurs témoins relatifs.

5.3.Effet sur la catalase :

Les enzymes antioxydantes sont des biomarqueurs du stress oxydatif ; cependant, les réponses à la pollution varient selon les espèces, les enzymes, et les contaminants (Pandey *et al.*, 2003).

Dans le présent travail, une inhibition significative de l'activité catalase est signalée après 2 jours d'exposition à la dose sub létale de Sekator. La diminution de l'activité de la CAT a été rapportée par plusieurs auteurs. Par exemple, chez le Poisson *Esomus danricus* traité avec le cuivre (Vutukuru *et al.*, 2005), chez *G. affinis*

exposé au pesticide chlorpyrifos (Kavitha et Venkateswara Rao., 2008). Par contre, aucune variation de l'activité de cet enzyme n'a été enregistré dans le foie de *Rhamdia quelen* exposé à un herbicide Roundup 48% (Cavalheiro de Menezes *et al.*, 2011), de même que chez *Oreochromis niloticus* après exposition au pesticide organofluorine l'étoxazole (Sevgiler *et al.*, 2004).

Conclusion

Conclusion

Les vers de terre sont des organismes dont le rôle est primordial, non seulement dans l'environnement en général, mais également dans l'agriculture. Plusieurs espèces de vers de terre sont devenues des organismes modèles pour la recherche en écologie, toxicologie, physiologie ou encore la biologie reproductrice.

Très peu de travaux se sont penchés sur le devenir des pesticides et leurs effets sur les vers de terres dans notre région. Dans cette étude, nous nous sommes proposés d'évaluer la toxicité potentielle d'un herbicide (Sekator) sur les vers de terre *A.caliginosa*. Pour cela, nous nous sommes basés sur plusieurs approches : une approche toxicologique dans laquelle nous avons évalué le pourcentage de mortalité, le taux de croissance, la reproduction et la morphologie. Ensuite, on a réalisé une approche multi-biomarqueurs, dans laquelle nous avons ciblé un certain nombre de biomarqueurs de la toxicité tels : les activités enzymatiques GST, CAT, AChE, pour mieux étayer nos résultats,

Dans un premier temps, il ressort de nos résultats que le Sekator a un effet sur le pourcentage de mortalité. En revanche, aux plus fortes concentrations de Sekator (7.5 et 10 μ g/kg), nous avons noté une diminution du taux de croissance. Concernant l'étude des biomarqueurs, nos résultats mettent en évidence une diminution de l'activité GST, parallèlement à une induction de l'activité Catalase et l'activité AChE. Toutes ces enzymes jouent un rôle essentiel dans le processus de métabolisation/détoxication et leur induction témoigne de l'ampleur de la toxicité du xénobiotique étudié (le Sekator).

Perspective:

A l'avenir il serait judicieux de

- ❖ Réaliser une étude histologique
- ❖ Réaliser une étude ultrastructurale
- ❖ Effectuer une étude approfondie sur les mécanismes de défense anti-radicalaire par le dosage d'autres marqueurs du stress oxydatif (GPX, LDH, SOD).
- ❖ Déterminer l'impact du sekator sur la survie et la croissance des juvéniles des vers de terre

Conclusion

Conclusion

Annexes

I. Effet du Sekator sur le taux de mortalité après 07^{ème} jour d'exposition

Après traitement avec le sekator à différentes concentrations (1, 2.5, 5, 7.5, et 10 µg/kg), nous avons mentionné dans le tableau 4 le taux observé de mortalité après 07^{ème} jour d'exposition.

Il est de l'ordre de 3 ± 5 % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à 12.5 ± 5 % pour la concentration la plus élevée (10 mg/L). Les mortalités observées sont par la suite corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tableau 5).

Tableau 17: Toxicité du sekatore (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07^{ème} jour d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration \ Répétitions	témoins	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	0	10	10	20
R02	0	0	0	0	10	10
R03	0	10	10	10	0	10
R04	10	10	0	10	10	10
M+-SD	3±5	5±5.77	2.5±5	7.5±5	7.5±5	12.5±5

Tableau 18: Toxicité du sekatoe (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07^{ème} jour d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	10	10	20
R02	0	0	0	10	10
R03	0	10	10	0	10
R04	10	0	10	10	10
M+-Sd	2.56 ±5	0±5	5.13±5	5.13±5	10.26±5

Annexes

Les taux corrigés font l'objet d'une transformation angulaire (Tableau 6) et d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 7). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significatif ($p < 0,01$). Le classement des concentrations par le test de Tukey révèle une classification commune entre les concentration.(Tableau 8, Fig 10).

Tableau 19: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07 jour d'exposition: transformation angulaire ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus)

Concentration \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	18.43	18.43	26.57
R02	0	0	0	18.43	18.43
R03	0	18.43	18.43	0	18.43
R04	18.43	0	18.43	18.43	18.43
M \pm -Sd	5 \pm 9.22	5 \pm 9.22	14 \pm 9.22	14 \pm 9.22	20 \pm 4.07

Tableau 20: Toxicité du sekatore ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07^{ème} jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; $n=4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Facture 01	4	7.44.7	186.2	2.61	0.077
Résiduelle	15	1068.7	71.2		
Totale	19	1813.4			

*** significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($p < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)**

Tableau 21: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07^{ème} jour d'exposition: classement des concentrations ($m \pm SD$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	Mortalités coorigées	Mortalités transformées	classement
1	2.56	5	A
2.5	0	5	A
5	5.13	14	A
7.5	5.13	14	A
10	10.26	20	A

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 9) en fonction du logarithme décimal des concentrations avec un coefficient de détermination $R^2 = 17.31\%$, révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations létales 50 (CL50) et 90 (CL90) déterminées à partir de la droite de régression avec leur intervalle de confiance sont respectivement : $106.50 \mu\text{g/kg}$ ($86.34 - 131.36$) et $676.73 \mu\text{g/kg}$ ($548.62 - 834.74$) (Tableau 10, Fig 11).

Tableau 22: Toxicité du Sekator ($\mu\text{g/kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 07^{ème} jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	1	2.5	5	7.5	10
Mortalités corrigées	2.56	0	5.13	5.13	10.26
Probits	3.03	0	3.4	3.4	3.75

Tableau 23: Toxicité du sekator ($\mu\text{g/kg}$) après une exposition de 07^{ème} jour de *A. Caliginosa*: détermination des CL50 et CL90 ($\mu\text{g/kg}$) et leurs intervalles de confiance

Traitement	Droite de régression	Slope	CL ₅₀ (IC)	CL ₉₀ (IC)
Seckator	$Y = 1.5939X + 1.7686$	3.23	$106(86.34 \pm 131.36)$	$676.73(548.62 \pm 834.74)$

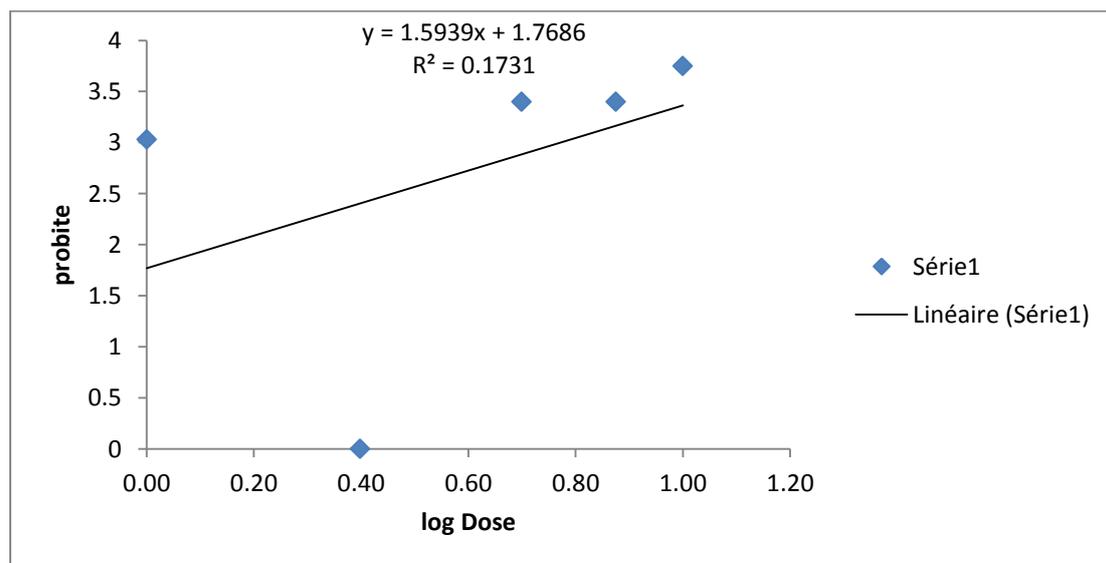


Figure 25: Toxicité du Sekator après 07jour d'exposition de *A. Caliginosa* Analyse des probits.

Effet du sekator sur le taux de mortalité après 21^{ème} jour d'exposition

Après traitement avec le sekator à différentes concentrations (1, 2.5, 5, 7.5, 10µg/kg), nous avons mentionné dans le tableau 4 le taux observé de mortalité après 21^{ème} jour d'exposition.

Il est de l'ordre de 2.5± 5 % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à 17.5± 5 % pour la concentration la plus élevée (10 mg/L). Les mortalités observées sont par la suite corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tableau 5).

Tableau 24: Toxicité du sekatore (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21^{ème} jour d'exposition : mortalité observée (%) (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration / Répétitions	témoins	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	20	10	10	20
R02	0	0	0	10	20	20
R03	0	10	10	10	10	20
R04	10	10	0	0	10	10
M+-SD	2.5±5	2.5±5.77	7.5±9.75	7.5±5	12.5±5	17.5±5

Tableau 25: Toxicité du sekatoe (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21^{ème} jour d'exposition: mortalité corrigée (%) (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration / Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	20	10	10	20
R02	0	0	10	20	20
R03	0	10	10	10	20
R04	10	0	0	10	10
M+-Sd	2.56±5	5.13±9.57	5.13±5	10.26±5	15.38±5

Les taux corrigés font l'objet d'une transformation angulaire (Tableau 6) et d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 7). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significatif (p< 0,01). Le classement des concentrations par le test de Tukey révèle trois groupes: le premier

(A) renferme la concentration 01µg/kg, le second groupe (AB) les concentration 2.5, 05 et 7.5 µg/kg et le troisième (B) la concentration 10 mg/L (Tableau 8, Fig. 10).

Tableau 26: Toxicité du Sekator (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21 jour d'exposition: transformation angulaire (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus)

Concentration Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	26.57	18.43	18.43	26.57
R02	0	0	18.43	26.57	26.57
R03	0	18.43	18.43	18.43	26.57
R04	18.43	0	0	18.43	18.43
M+-Sd	4.60±9.21	11.25±13.40	13.82±9.21	20.46±4.07	24.53±4.07

Tableau 27: Toxicité du Sekatore (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21^{ème} jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification (m ± SD ; n=4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Facture 01	4	976.9	244.2	3.19	0.044
Résiduelle	15	1148.3	76		
Totale	19	2125.1			

* **significatif (P< 0,05)** ** **très significatif (p< 0,01)** *** **hautement significatif (P< 0,001)**

Tableau 28: Toxicité du sekator (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21^{ème} jour d'exposition: classement des concentrations (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	Mortalités coorigées	Mortalités transformées	Classement
1	2.5	4.60	A
2.5	7.5	11.25	AB
5	7.5	13.82	AB
7.5	12.5	20.46	AB
10	17.50	24.53	B

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 9) en fonction du logarithme décimal des concentrations avec un coefficient de détermination $R^2 = 92.06 \%$, révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations létales 50 (CL50) et 90 (CL90) déterminées à partir de la droite de régression avec leur intervalle de confiance sont respectivement : 13,61 mg/L (11,73 – 15,78) et 30,55 mg/L (26,33 – 35,43) (Tableau 10, Fig 11).

Tableau 29: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 21^{ème} jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	1	2.5	5	7.5	10
Mortalités corrigées	2.56	5.13	5.13	10.26	15.38
Probits	3.03	3.4	3.4	3.74	3.98

Tableau 30: Toxicité du sekator ($\mu\text{g}/\text{kg}$) après une exposition de 21^{ème} jour de *A. Caliginosa*: détermination des CL50 et CL90 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) et leurs intervalles de confiance.

traitement	Droite de régression	Slope	CL ₅₀ (IC)	CL ₉₀ (IC)
Seckator	$Y = 0.8522X + 2.1513$		148(77.72+/- 281.80)	332.62(174.69+/- 633.33)

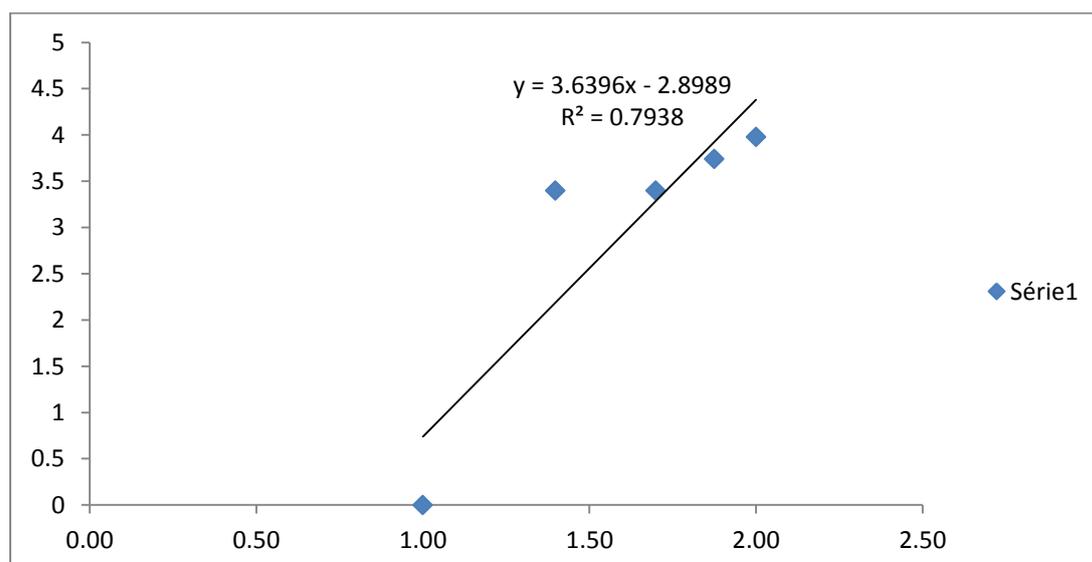


Figure 26: Toxicité du Sekator après 21^{ème} d'exposition de *A. Caliginosa* Analyse des probits.

Effet du sekator sur le taux de mortalité après 28^{ème} jour d'exposition

Après traitement avec le sekator à différentes concentrations (1, 2.5, 5, 7.5, 10µg/kg), nous avons mentionné dans le tableau 4 le taux observé de mortalité après 28^{ème} jour d'exposition.

Il est de l'ordre de 5 ± 6 % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à 27.5 ± 13 % pour la concentration la plus élevée (10 mg/L). Les mortalités observées sont par la suite corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tableau 5).

Tableau 31: Toxicité du Sekatore (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28^{ème} jour d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration \ Répétitions	témoins	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	0	20	30	30	30
R02	10	10	10	30	30	30
R03	0	0	20	20	20	40
R04	10	10	0	20	30	10
M+-SD	5+/-6	5±6	12.5+/-10	25+/-6	27.5+/-5	27.5+/-13

Tableau 32: Toxicité du Sekatoe (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28^{ème} jour d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	11	22	22	22
R02	0	10	22	22	2
R03	0	11	11	11	33
R04	0	0	11	22	0
M+-Sd	0±0	7.89±5.39	21.05±6.41	23.68±5.55	23.68±13.98

Les taux corrigés font l'objet d'une transformation angulaire (Tableau 6) et d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 7). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significatif ($p < 0,001$).

Le classement des concentrations par le test de Tukey révèle trois groupes: le premier (A) renferme la concentration 5 mg/L, le second groupe (AB) la concentration 2.5µg/kg et le troisième (B) les concentration 05, 7.5 et 10 mg/L (Tableau 8, Fig. 10).

Tableau 33: Toxicité du sekator (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28 jour d'exposition: transformation angulaire (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus)

Concentration \ Répétition	1	2.5	5	7.5	10
R01	0	19.37	27.97	27.97	27.97
R02	0	18.43	27.97	27.97	27.97
R03	0	19.37	19.37	19.37	33.06
R04	0	0	19.37	27.97	0
M+-Sd	0±0	14±10	24±5	26±4	22±15

Tableau 34: Toxicité du sekatore (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28^{ème} jour d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification (m ± SD ; n=4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Facture 01	4	1783.8	446	6.20	0.004
Résiduelle	15	1079.7	72		
Totale	19	2863.6			

* **significatif (P< 0,05)** ** **très significatif (p< 0,01)** *** **hautement significatif (P< 0,001)**

Tableau 35: Toxicité du sekator (µg/kg) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28^{ème} jour d'exposition: classement des concentrations (m ± SD ; n= 4 répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	Classement
1	0	0	A
2.5	7.89	14	AB
5	21.05	24	B
7.5	23.68	26	B
10	23.68	22	B

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 9) en fonction du logarithme décimal des concentrations avec un coefficient de détermination $R^2 = 80.13 \%$, révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations létales 50 (CL50) et 90 (CL90) déterminées à partir de la droite de régression avec leur intervalle de confiance sont respectivement : $107.09\mu\text{g/kg}$ ($98.90 - 115.96$) et $220.94\mu\text{g/kg}$ ($204.04 - 239.24$) (Tableau 10, Fig. 11).

Tableau 36: Toxicité du sekator ($\mu\text{g/kg}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *A. Caliginosa* après 28^{ème} jour d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm SD$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Consentration	1	2.5	5	7.5	10
Mortalités corrigées	0	7.89	21.05	23.68	23.68
Probits	0	3.55	4.21	4.10	4.28

Tableau 37: Toxicité du sekator ($\mu\text{g/kg}$) après une exposition de 28^{ème} jour de *A. Caliginosa*: détermination des CL50 et CL90 ($\mu\text{g/kg}$) et leurs intervalles de confiance

Traitement	Droite de régression	Slope	CL ₅₀ (IC)	CL ₉₀ (IC)
Seckator	$Y = 4.0698x - 3.2608$	1.56	$107.09(98.90 \pm 115.96)$	$220.94(204.04 \pm 239.24)$

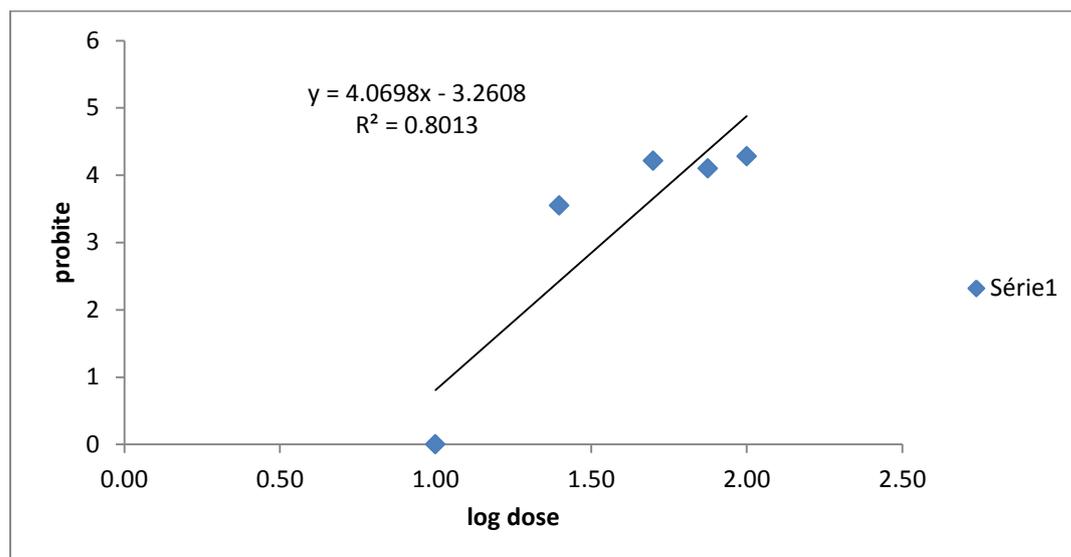


Figure 27: Toxicité du Sekator $\mu\text{g/kg}$ après 28jour d'exposition de *A. Caliginosa*. Analyse des probits.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Aubertot J. N., Barbier J. M., étal 2005.** Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et limité leurs impacts environnementaux ; Rapport d'Expertise scientifique collective, INTRA ET CEMAGRAF. France. 64P.
- **Alain P, Michel B, étal 2004** Pesticides, risques et sécurité alimentaire , Aprife France 6p.
- **ABBOTT, W. S. (1925).** A method of computing effectiveness of an insecticide. *Journal of EconomicEntomology*, 18: 265 – 267.
- **AMIARD J.-C., 2011-** Les risques chimiques environnementaux. Méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes. Ed. Lavoisier, Paris. 782p.
- **Ammer , S., Weber, K., Abs, C., Ammer, C., Prietzel, J., 2006.** Factors influencing the distribution and abundance of earthworm communities in pure and converted Scots pine stands. *Applied Soil Ecology* ,**33**, 10-21.
- **Ait Alla A., Mouneyrac C., Moukrim A. & Pellerin J., 2006.** Tolerance and biomarkers as useful tools for assessing environmental quality in the Oued Souss estuary (Bay of Agadir, Morocco). *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **143**: 23–29
- **Akcha F., Izuel C., Venier P., Budzinski H., Burgeot T. & Narbonne J.F., (2000).** Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo(a)pyrene contaminated mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat Toxicol.*, **49**: 269-287.

B

- **A. Beaumont, P. Cassier, 1981** Biologie animale des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens Tome 1, Dunod université, paris,
- **Bouché M.B., 1972.** *Lombriciens de France, Ecologie et systématique*. Inst. Nat.Rech. Agronomique, Paris. 671 p
- **Bouché M.B., 1977.** Stratégies Lombriciennes. In: Lohm, U., Persson, T., (Eds.), *Soil organism as components of ecosystems*. Proc. 6th Int. Coll. Soil Zool. Ecol. Bull., Stockholm, 122-132 pp.
- **Buch W. 1991.** Le ver de terre au jardin. Arts Graphiques Européens. 124 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **BARRIUSO E., CALVET R., SCHIAVON M., SOULAS G., 1996.** Les pesticides et les polluants organiques des sols : Transformations et dissipation. *Etudes et Gestion des Sols*, numéro spécial : Le sol, un patrimoine menacé ?, 3/4, 279-295, http://www.inra.fr/internet/Hebergement/afes/pdf/EGS_3_4_BARRIUSO.pdf
- **Belmonte V. A., A.GarridoF.,Martinez V. J.L. 2005** Monitoring of pesticide in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *AnalyticaChimica, ACTA*, vol 538 :117-127
- **BOLAND J., KOOMEN I., LIDTH DE JEUDE J. V., OUDEJANS J., 2004-** AD29F Les pesticides: composition, utilisation et risques. Ed. AgromisaFoundation, Wageningen. 86p.
- **Baha, M., Berra , S., 2001.** *Proselodrilusdoumandjiin. sp.*, a new lumbricid from Algeria. *Tropical Zoology*, 14, 87-93.
- **Brulle, F., Cocquerelle, C., Mitta, G., Castric, V., Douay, F., Leprêtre, A., Vandebulcke, F., 2008a.** Identification and expression profile of gene transcripts differentially expressed during metallic exposure in *Eiseniafetidacoelomocytes*. *Developmental & Comparative Immunology*, 32, 1441-1453.
- **Bonnard, M., Eom, I.C., Morel, J.L., Vasseur, P., 2009.** Genotoxic and reproductive effects of an industrially contaminated soil on the earthworm *Eisenia Fetida*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(1), 60-67.
- **Bartlett, M.D., Briones, M.J.I., Neilson, R., Schmidt, O., Spurgeon, D., Creamer, R.E., 2010.** A critical review of current methods in earthworm ecology: from individuals to populations. *Eur. J. Soil Biol.* 46, 67–73.
- **Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram; quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, 72: 248-254.
- **Beauvais S.L., Jones S.B., Parris J.T., Brewer S.K., Little E.E., 2001.** Cholinergic and behavioural neurotoxicity of carbaryl and cadmium to larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 84-90.
- **Belhaouchet, N., 2014.** Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

de la pollution « *Helixaspersa* ». Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba .90p

- **Bocquene G., Galgani F. & Truquet P., 1990.** Characterisation and assay for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. *Marine Environmental Research.*, **30**: 75-89
- **Boussoufa D, Ghazali N, Masmoudi W. & El Cafsi M., 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.
- **Bouaricha, H., 2013.** Evaluation du stress oxydatif induit par le Proclaim : Essai comparatif sur deux modèles biologiques (*Helixaspersa et Parameciumsp.*). Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 131p.
- **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.



- **CHIALI F. Z., 2013-** Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat wistar. Thèse doctorat Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Tlemcen. Université Abou BekrBelkaid Tlemcen. 205p.
- **Capowiez, Y., Rault, M., Mazzia, C., Belzunces, L., 2003.** Earthworm behaviour as a biomarker – a case study using imidacloprid. *Pedobiologia*, **47**, 542-547.
- **Cluzeau, D., Guo, Z. T., Chaussod, D., Fedoroff, N., Normand, M. et Perraud, A., 1994.** Interaction between soil, biological activities and organic matter enrichments in Champagne soils. *Transactions of the XV World Congress of Soil Sc.* INEG and CNA publishing, Mexico, 4b, pp. 149-150.
- **Curry, J.P., Doherty, P., Purvis, G., Schmidt, O., 2008.** Relationship between earthworm populations and management intensity in cattle-grazed pastures in Ireland. *Applied Soil Ecology*, **39(1)**, 58-64.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Cavalheiro de Menezes C., Braga da Fonseca M., Loro V.L., Santi A., Cattaneo R., Clasen B., Pretto A. & Morsch V.M., 2011.** Roundup Effects on Oxidative Stress Parameters and Recovery Pattern of *Rhamdia quelen*. *Arch Environ Contam Toxicol.*, **60**: 665–671.
- **Cunha I., Mangas-Ramirez E. & Guilhermino L., 2007.** Effects of copper and cadmium on cholinesterase and glutathioneS-transferase activities of two marine gastropods (*Monodonta lineata* and *Nucella lapillus*). *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **145**: 648–657

D

- **Dell'Omo, G., Turk, A., Shore, R.F., 1999.** Secondary poisoning in the common shrew (*Sorex araneus*) fed earthworms exposed to an organophosphate pesticide. *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 237-240.
- **Djenna A.** 2014 Etude de la nichécologique de la cigogne blach dans nouvel environnement dans la région d'El Mardja (Tébessa)-Mém de Master, université de Tebessa, 63 pages.

E

- **Edwards, C.A., Lofty, J.R., 1977.** Biology of earthworms. Chapman and Hall Ltd, Grande Bretagne. 333 p.
- **Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. & Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology and Physiology.*, **38**: 84-90.
- **Edwards, C. A. et Bohlen, P. J., 1996.** Biology and Ecology of Earthworms 3rd ed. Chapman and Hall, London, 426 pp.
- **Erkuden P., Julian B. & Montserrat S., 2004.** Biomarker responses to pollution in tow invertebrate species: *Scrobicularia plana* and *Nereis diversicolor* from the Cadiz Bay (SW Spain). *Mar. Environ. Res.*, **58**: 275-279.

F

- **Fauriec, Erra c., Médorie P., Devane J., Remptime J.L. 2003.** écologie, approche scientifique et pratique. 5^{ème} édition LAVOISIER. 823p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Fisher R.A. & Yates F., 1957.** Statical tables for biological agricultural and medical research. 5^{ème} edition, Olivier et Boyd. London., pp: 64-66.
- **Finney D.J., 1971.** Probit analysis (3rd edn) Cambridge University Press, London.
- **Fitzpatrick P.J., O'Halloran J., Sheehan D. & Walsh A.R., 1997.** Assessment of a glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland of *Mytilus edulis*(L.) as potential organic pollution biomarkers. *Biomarkers*, **2**: 51–56
- **Geracitano L.A., Luquet D., Monserrat J.M. & Bianchini A., 2004.** Histological and morphological alterations induced by copper exposure in *Laonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae). *Mar. Environ. Res.*, **58**: 263–267
- **Kavitha P. & Venkateswara J., 2007.** Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **87**: 182-188.

J

- James, S.W., 1991. New species of earthworms from Puerto Rico, with a redefinition of the genus *Trigaster*. *Transactions of American Microscopical Society*. 110(4): 337-353.

H

- **Hopkin, S. P.1989,**Ecophysiologyfo metals in terrestrial invertebrates. London (UK) : elsevierapplied science, p366.
- **Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974.** Gluthation-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*,**249**, 7130-7139.

I

- **Isabelle B, Sylvaine C étal ,2013,** Pesticides Effet sur la santé, Inserm paris, 1 p.
- **ISO (Organisation internationale de normalisation) (1996).** Qualité du sol - Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eiseniafetida*) -Partie 2 : Détermination des effets sur la reproduction, N°11268-2. ISO, Genève.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

K

- Kherbouche, D., Bernhard-Reversat, F., Moali, A., Lavelle, P., 2012. The effect of crops and farming practices on earthworm communities in Soummam valley, Algeria. *European Journal of Soil Biology*, 48, 17-23.

L

- **Lee K.E, 1985.** Earthworms - Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use". Academic Press, Sydney. pp 411.
- **Lanno, R., J. Wells, J. Conder, K. Bradham et N. Basta. 2004.** « the bioavailability of chemicals in soil for earthworms ». *ecotoxicology and environmental safety*, vol.57, no1, p39-47.
- Loi algérienne N°87-17 relative à la protection phytosanitaire. 1987. *Journal officiel de la république algérienne* N°32 du 05-08-1987.
- **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 Physiol. Biochem.*, **34**, 209-216.

M

- **Marion Vigot, et Daniel Cluzeau, 2014,** les vers de terre, chambre d'agriculture de la vienne, Mars
- Marino, F., Ligerio, A., Cosin, D.J.D., 1992. Heavy metals and earthworms on the border of a road next to Santiago. *Soil Biology and Biochemistry*, 24 (12), 1705–1709.
- **Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Couderchet, S., Vernet, G., 2003.** Effects of the herbicide isoproturon on survival, growth rate, and protein content of mature earthworms (*Lumbricus terrestris* L.) and its fate in the soil. *Applied Soil Ecology*, **23**, 69-77.
- **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.
- **Muthukaruppan, G., Ganasekaran, P., 2010.** Effect of Butachlor herbicide on earthworm *Eisenia fetida* – its histological perspicuity. *Applied and Environmental Soil Science*, 1-5

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- **OECD - 2002** ., La performance environnementale de l'agriculture dans les pays de l'OCDE depuis 1990. Ed. OECD Publishing, England. 657p.
- **OECD., 2010** ., Bioaccumulation chez les oligochètes terrestres, Lignes directrices No.317, LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES, OCDE paris, p8.
- Omodeo, P., Rota, E.Baha, M., 2003.The megadrile fauna (Annelida: Oligochaeta) of Maghreb: a biogeographical and ecological characterization. *Pedobiologia*,47, 458-465.



- Pelosi, C., 2008 .Modelisation de la dynamique d'une population de vers de terre Lumbricusterrestrisau champ. Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et del'Environnement (Agro Paris Tech).141p.
- **Pattison, A.B., Moody, P.W., Badcock, K.A, Smith, L.J., Armour, J.A., Rasiah, V., Cobon, J.A., Gulino, L.M., Mayer, R.,2008.**Development of key soil health indicators for the Australian banana industry.*Applied Soil Ecology*,40, 155-164.
- **Perel, T. S., 1977.** Differences in lumbricid organization connected with ecological properties. *In*: Lohm, U. et Persson, T. (eds), Soil organisms as components of ecosystems. *Ecol. Bull.*, Stockholm, pp. 56-63.
- Pelosi C. *et al.* 2013. Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests – A meta-analysis. *Chemosphere* **90**: 895.



- **Ruppert, E, E et R, D. Barnes.1994.** Invertebrate zoology. Fort Worth (USA) : Saunders College Publishing. p1056.
- **Reinecke, S.A., Reinecke, A.J., 2007.** Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*,**66**, 92-101.
- **RAZAFINDRAKOTO.R** Etude des Annélides oligochètes de Madgachekar: Taxonomie, Distibition et Ecologie, these de Doc,Univ D'Antananarivo,Quater p5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- **Satchell J.E., 1967.** Lumbricidae. In *Soil Biology*. (Eds., A. Burges and F. Raw): 259-322. (Academic Press: London.).
- **Svendsen T.S., Hansen P.E., Sommer C., Martinussen T., Grønvold J. et Holter P., 2005.** Life history characteristics of *Lumbricusterrestris* and effects of the veterinary antiparasitic compounds ivermectin and fenbendazole. *Soil Biol. Biochem.* **37**: 927-936.
- **SETAC (1998).** Advances in Earthworm Ecotoxicology. Sheppard, S.C., Bembridge, J.D., Holmstrup, M. and Posthuma, L. (Eds). SETAC Press, 456 pages.
- Stürzenbaum, S.R., Kille, P., Morgan, A.J., 1998. The identification, cloning and characterization of earthworm metallothionein. *FEBS Letters*, 431(3), 437-442.
- **Suthar, S., Singh, S., Dhawan, S., 2008.** Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: Is metal bioaccumulation affected by their ecological category, *Ecological Engineering*, **32**, 99-107.
- **Swaroop S., Gilroy A.B. & Uemura K., 1966.** Statistical methods in Malaria eradication. World Health Organisation, *Geneva*, **51**: 1-164.
- **Sims, R. W. et Gerard, B. M., 1999.** Earthworms. FSC Publications, London, 167 pp



- **Tiunov, A. V. et Scheu, S., 1999.** Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). *Soil Biol. Biochem.* **31**, 2039-2048.
- **Tavernier R., sd. Extrait de la découverte du monde du vivant. BORDAS**
Technique Agricole. France. pp. 820.



- **Vijver, M. G. J. P. M. Vink, C. A. M. Van Gestel. 2003.** « Oral sealing using glue : a new method to distinguish between intestinal route and dermal uptake of metals in earthworms ». *Soil. Biol. Biochem*, vol, 35, p 125-132.
- **Varo I., Navarro J.C., Amat F. et Guilhermino L., 2001.** Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of Chlorpyrifos

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

and Dichlorvos to *Artemiasalina* and *Artemiaparthenogenetica*. *Chemosphere.*, 48: 563-569.

3

- **ZERIRI I., 2014.** Toxicité potentielle d'un insecticide sur un invertébré de la famille des coelomates. thèse de Doc. univ BADJI MOKHTAR – ANNABA 12p.
- Zeriri, I., Tadjine, A., Belhaouchet, N., Berrebbah, H., Djebar, 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

36

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

Les site internet

- <http://www.cropscience.bayer.ma>
- <http://www.algeria.bayercropscience.com>
- (https://fr.wikipedia.org/wiki/Communes_de_la_wilaya_de_T%C3%A9bessa).
- **(Source : futura-science.com).**