



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



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

Département des Sciences des Êtres Vivants

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie Animale

Thème :

Effets du traitement du sol "in vitro" par les eaux usées traitées dans une station d'épuration sur un bio indicateur (vers de terre)

Présenté par :

Mekhaznia amira

Rouigui Amira

Devant le jury :

Dr Benarfa N	MCB	Université de Tébessa	Présidente
Dr Mekahlia M-N	MCA	Université de Tébessa	Rapporteur
Dr Machroum A	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : juin 2021

2020/2021

Remerciements

« **La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage** »

Avant toute chose, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage, la force, la patience et la chance pour affronter ce laborieux travail, et nos parents pour tous leurs efforts depuis notre naissance jusqu'à ces moments, tu es tout ce que nous t'aimons le plus en Dieu

Une thèse, tant nominative soit elle, est avant tout un travail de réflexion collective, donc au terme de ce travail, il m'est à la fois un plaisir et un devoir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation.

*En tout premier lieu et avant toute chose, nous exprimons notre profonde gratitude au **Dr Benarfa Noujoud** pour avoir accepté de présider le jury de nos travaux, qui trouve ici toutes nos expressions respectueuses.*

*Merci beaucoup à notre directeur de thèse, le professeur **Mekahlia Mohamed Nacer**, pour l'excellent encadrement et le soutien qu'il nous a fournis, ainsi que pour son soutien, sa disponibilité et sa patience avec nous. Merci pour la grande précision scientifique, ainsi que l'assistant encadreur, le **Dr Tine Samir**, pour son soutien.*

*Nos sincères et sincères remerciements au **Dr Machroum Amel** pour avoir accepté de faire partie de ce jury.*

Sincères remerciements à l'équipe d'ingénieurs du laboratoire de biologie pour leur assistance technique.



Résumé

Résumé

Les vers de terre sont des bioindicateurs importants, souvent utilisés pour évaluer la contamination des sols par les substances polluantes.

La présente étude a été menée afin d'étudier l'effet de la pollution causée par l'eau usée et l'eau épurée couramment utilisées dans l'agriculture sur l'espèce *Aporrectodea caliginosa*, et cela en analysant différents biomarqueurs ; l'acétylcholinestérase (AchE), le glutathion (GSH), le glutathion S-transférase (GST), et les protéines totales.

Les traitements des vers de terre avec l'eau usée et l'eau épurée n'ont montré aucun effet significatif que ce soit sur l'AchE, le GST, le GSH, et le taux des protéines ($p > 0.05$), excepté pour le traitement avec l'eau usée qui a montré un effet significatif sur le GSH ($p < 0.05$) dont les moyennes ont passé de $(0,08 \pm 0,05)$ à $(0,62 \pm 0,48 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Ce travail représente une étude élémentaire qui pourrait être poursuivie par des recherches ultérieures.

Mots clés : *Aporrectodea caliginosa*, eau usée, eau épurée, biomarqueurs, AchE, GST, GSH, protéines totales.

Abstract

Earthworms are important bioindicators, often used to assess soil contamination by pollutants.

The present study was carried out to study the effect of pollution caused by wastewater and purified water commonly used in agriculture on the species *Aporrectodea caliginosa*, by analyzing different biomarkers; acetylcholinesterase (AChE), glutathione (GSH), glutathione S-transferase (GST), and total protein.

Treatments of earthworms with wastewater and purified water showed no significant effect whatsoever on AChE, GST, GSH, and protein levels ($p > 0.05$), except for the treatment with wastewater which showed a significant effect on the GSH ($p < 0.05$) whose means went from (0.08 ± 0.05) to $(0.62 \pm 0.48 \mu\text{M} / \text{min} / \text{mg protein})$.

This work represents an elementary study which could be continued by further research.

Key words: *Aporrectodea caliginosa*, wastewater, purified water, biomarkers, AChE, GST, GSH, total protein.

ملخص

تعد ديدان الأرض من المؤشرات الحيوية المهمة ، وغالبًا ما تستخدم لتقييم تلوث التربة بالملوثات.

اجريت هذه الدراسة لدراسة تأثير التلوث الناجم عن المياه العادمة والمياه النقية شائعة الاستخدام في الزراعة على نوع الدودة رمادية (ابوريكتوديا كاليجينوزا) من خلال تحليل المؤشرات الحيوية المختلفة اسيتيل كولين استراز ، جلوتاثيون ، جلوتاثيون أس -ترانسفيراز ، بروتين كلي.

لم تُظهر معالجة ديدان الأرض بمياه الصرف الصحي والمياه النقية أي تأثير معنوي على الإطلاق على مستويات

جلوتاثيون و البروتين الكلي و جلوتاثيون أس – ترانسفيراز و أسيتيل كولين إستيراز ($p > 0,05$)

باستثناء المعالجة بمياه الصرف الصحي التي أظهرت تأثيرًا معنويًا على جلوتاثيون ($p < 0,05$) انتقل من $0.08 \pm$ إلى (0.05 ± 0.62) ميكرومتر / دقيقة / مجم بروتين).

يمثل هذا العمل دراسة أولية يمكن أن تستمر بمزيد من البحث .

الكلمات المفتاحية: أبوريكتوديا كاليجينوزا، مياه الصرف الصحي ،المياه النقية ، المؤشرات الحيوية : أسيتيل كولين ، جلوتاثيون أس -ترانسفيراز ، جلوتاثيون ، بروتين كلي .



Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I revue bibliographique

I. Agriculture et pollution.....	2
II. Agriculture irriguée en l'Algérie.....	2
III. Gestion des eaux usées.....	3
III.1.Situation dans le monde.....	3
III.2.Situation en Algérie.....	3
IV. Bioindicateurs.....	3
IV.1.Catégories	4
IV.1.1.Bio-indicateurs d'accumulation.....	4
IV.1.2.Bio-indicateurs d'effet ou d'impact.....	4
IV.2.Caractéristiques	4
IV.3.Utilisations.....	4
IV.4. Exemple de bio indicateurs (vers de terre).....	5
IV.4.1.Classification.....	5
IV.4.2.Morphologie.....	6
IV.4.3. Reproduction et cycle de vie	6
IV.4.4.Physiologie.....	7
IV.4.5.Ecologie.....	8
IV.4.6.Role.....	8
V. Biomarqueurs.....	8
V.1.catégories.....	8
V.1.1.Biomarqueur d'exposition.....	8
V.1.2.Biomarqueur d'effet.....	9
V.1.3.Biomarqueur de sensibilité.....	9
V.2. Caractéristique.....	9
V.3. Utilisation.....	9

Chapitre II : Matériel et Méthode

I. Présentation de la station d'épuration des eaux.....	10
II. Présentation du matériel biologique utilisé.....	10
III. Protocole expérimental.....	11
IV. Traitement chimique.....	12
IV.1.Dosage des protéines.....	12

IV.2. Activité de l'acétylcholinestérase.....	13
IV.3. Dosage du glutathion (GSH).....	14
IV.4. Dosage du glutathion S-transférase(GST).....	15
V. Analyse statistique des données.....	16

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Taux des différents paramètres biochimiques mesurés dans les vers de terre suite aux différents traitements.....	17
II. Effets des différents traitements sur les paramètres biochimique mesuré.....	17
II.1. Effet sur le contenu en protéines selon la nature du traitement et la durée du traitement.....	17
II.2. Effets sur l'AchE selon la nature du traitement et la durée du traitement.....	19
II.3. Effets sur GSH selon la nature du traitement et la durée du traitement.....	22
II.4. Effets sur GST selon la nature du traitement et la durée du traitement.....	24
Discussion.....	27
Conclusion.....	29



Liste de Tableau

Tableau	Titre	Page
1	Caractéristiques physicochimiques des eaux utilisées dans le traitement des vers de terre	12
2	Dosage des protéines chez les vers de terre : réalisation de la gamme de détalonnage	13
3	Taux des différents paramètres biochimique mesurés suite aux différents traitements	17
4	Test de tukey pour la variable Taux des Protéines selon la durée du traitement	18
5	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable Taux des Protéines selon la durée du traitement	18
6	Test de tukey pour la variable Taux des Protéines selon la nature du traitement	19
7	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable Taux des Protéines selon la nature du traitement	19
8	Test ANOVA pour la variable Protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$)	19
9	Test de tukey pour la variable AchE selon la durée du traitement	20
10	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable AchE selon la durée du traitement	21
11	Test de tukey pour la variable AchE selon la nature du traitement	21
12	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable AchE selon la nature du traitement	21
13	Test ANOVA pour la variable AchE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	21
14	Test de tukey pour la variable GST selon la durée du traitement	23
15	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable GST selon la durée du traitement	23
16	Test de tukey pour la variable GST selon la nature du traitement	23
17	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable GST selon la nature du traitement	23
18	Test ANOVA pour la variable GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	24
19	Test de tukey pour la variable GSH selon la durée du traitement	25
20	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable GSH selon la durée du traitement	25
21	Test de tukey pour la variable GSH selon la nature du traitement	26
22	Groupe révélés par le Test de Tukey pour la variable GSH selon la nature du traitement	26
23	Test ANOVA pour la variable GSH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	26



Liste de Figure

Figure	Titre	Page
1	Vers de terre	05
2	Morphologie du ver de terre	06
3	Vue de ciel de la station d'épuration d'Ain Beida	10
4	<i>Aporrectodea caliginosa</i> (photo personnelle)	11
5	Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	13
6	Taux des protéines selon la nature du traitement et la durée du traitement	18
7	Taux d'AchE selon la nature du traitement et la durée du traitement	20
8	Taux de GST selon la nature du traitement et la durée du traitement	22
9	Taux de GSH selon la nature du traitement et la durée du traitement	25



**Liste des
abréviations**

Liste des abréviations

GST : Glutathion S-Transférase

GSH : Glutathion

AchE : Acétylcholinestérase

PIB : Produit intérieur brut

SAU : Surface agricole utilisée

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

BBC : Brilliant bleu de coomassie

μl : Microlitre

μM : Micromètre

μg : Microgramme

ml : Millilitre

nm : Nanomètre

M : Mole

trs : Tours



INTRODUCTION

INTRODUCTION

La nature nous a inculqué une tendance à l'agriculture, car c'est la mère qui nourrit l'humanité, et chaque personne désire améliorer sa vie de manière appropriée, mais malheureusement, son désir d'améliorer la production a conduit à une mauvaise utilisation de l'eau par une surexploitation des nappes phréatiques et une exploitation anarchique des eaux usées (Betaouaf, 2012). Ces pratiques affectent largement la stabilité des écosystèmes (Gavrilescu *et al.*, 2015).

En effet, lorsque les conditions de l'environnement naturel changent, plusieurs organismes vivants peuvent être affectés de plusieurs manières, reflétant le déséquilibre des conditions initiales de l'environnement naturel (Kaiser, 2001; Sammarco *et al.*, 2007 ; Aubertot *et al.*, 2005). Ces organismes sont appelés bio-indicateurs.

Les vers de terre sont réputés être d'excellents bio-indicateurs (Benchikh, 2016). Ils représentent une composante majeure de la biomasse des sols (Stork et Eggleton, 1992), et peuvent, ainsi, être exposés aux contaminants par différentes voies (phase aqueuse, phase vapeur et ingestion de la phase solide). Ces organismes possèdent une grande aptitude de bioaccumulation, ce qui leur permet de jouer un rôle important dans le bio-monitoring de plusieurs polluants, en reflétant des réponses précoces aux effets délétères de ces polluants sur les systèmes biologiques (Shi et Wang, 2017).

Il convient de porter une attention toute particulière à l'exposition de groupes vulnérables à des eaux usées non traitées ou partiellement traitées, surtout dans le cadre de l'irrigation des terres agricoles. La mauvaise connaissance des risques liés à l'utilisation des eaux usées, renforce encore davantage ces risques, tout spécialement dans les pays en voie de développement (Ryder, 2017). Il faut avoir, donc, de bons systèmes de surveillance et un traitement avancé des eaux usées pour s'assurer qu'il n'y a aucun risque pour la santé des écosystèmes.

Dans cette optique, notre travail a pour objectif de mesurer le taux de pollution causée par l'eau usée et épurée couramment utilisés dans l'agriculture, et ceci par le calcul de quelques paramètres biomarqueurs (GST, GSH, AchE, et les protéines) par l'utilisation d'un indicateur biologique (vers de terre).

Cette étude se divise en trois chapitres :

- Le premier chapitre présente le cadre général de l'étude par des rappels bibliographiques sur l'agriculture et la bio-indication.
- Le deuxième chapitre concernant l'étude expérimentale, présente le matériel biologique utilisé ainsi que les méthodes adoptées pour la réalisation de ce travail.
- Le troisième et dernier chapitre renferme la discussion des résultats du travail entrepris ainsi qu'une conclusion générale et quelques perspectives.

Chapitre I

Revue Bibliographique

I. Agriculture et pollution

Au cours des cinquante dernières années, les surfaces irriguées en agriculture ont plus que doublé (Ryder,2017). Cependant l'agriculture peut être une source de nombreux types de polluants (Moufti, 1996). La pollution hydrique en provenance de l'agriculture se produit quand les engrais et les pesticides sont appliqués de façon plus abondante que ce que les cultures peuvent absorber, ou quand d'autres substances toxiques sont emportées les précipitations (Aubertot *et al.*, 2005). D'autres types de polluants tels que les antibiotiques, les éléments en traces métalliques, et des agents pathogènes peuvent être émis par les élevages (Delanoue et Roguet, 2015 ; Amrouchi, 2017)

Si elles sont traitées de façon adéquate et appliquées en toute sécurité, les eaux usées domestiques sont une source précieuse d'eau et de nutriments pour l'agriculture. L'utilisation des eaux usées municipales est un modèle courant dans plusieurs pays, notamment ceux de l'Afrique du Nord et du pourtour de la Méditerranée, du fait que ces eaux usées sont, en général, facilement disponibles et gratuites. En effet, des systèmes d'irrigation efficaces peuvent considérablement réduire les pertes d'eau (Ryder,2017).

II.Agriculture irriguée en l'Algérie

En Algérie, l'agriculture naturelle subit la contrainte du changement climatique, obligeant les agriculteurs algériens à adopter des systèmes de culture extensifs dans les zones d'agriculture pluviale. Ainsi, en 2017, plus de la moitié des 8,5 millions d'ha que compte la SAU est consacrée au système céréale jachère. On recense plus 1,2 million d'exploitations agricoles et près de 70 % des exploitations disposent d'une superficie inférieure à 10 ha. Toutefois, ces deux dernières décennies, le secteur agricole, qui ne représente que près de 13 % de la population active, a été le moteur de la croissance économique du pays(Bessaoudet *al.*,2019).

En effet, les investissements dans le secteur agricole ont très fortement augmenté depuis les années 2000. Ce secteur contribue actuellement à hauteur de plus de 50 % au PIB industriel hors hydrocarbures, et connaît une progression vigoureuse, permettant l'extension des capacités productives avec une multiplication par plus de 3,5 de la superficie irriguée qui représente aujourd'hui 15 % de la SAU (Bessaoudet *al.*, 2019).

Les investissements dans la mobilisation des ressources en eau ont contribué à transformer la cartographie agricole de l'Algérie. La mise en valeur des terres a fait des régions sahariennes et steppiques d'importants bassins de production agricole. L'extension des surfaces irriguées en PMH (petites et moyennes hydrauliques), bien qu'encourageante pour le développement de l'agriculture, provoqué un accroissement considérable des forages individuels et des surexploitations dangereuses de certaines nappes souterraines(Bessaoudet *al.*, 2019).

III. Gestion des eaux usées

Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Les eaux usées englobent également les eaux de pluies et leur charge polluante, elles engendrent au milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance (Dugniolle, 1980 ; Glanic et Benneton, 1989).

III.1. Situation dans le monde

Dans les pays à revenu élevé, 70% des eaux usées subissent des traitements de pointe, et ceci que ce soit pour le maintien de la qualité de l'environnement, ou pour l'apport d'une source d'eau alternative pour faire face au manque d'eau. Cependant, l'émission d'eaux usées non traitées demeure une pratique courante, surtout dans les pays en développement, en raison du manque d'infrastructures, de capacités techniques et institutionnelles, et de financement. En effet, 80% des eaux usées du monde sont rejetées sans traitement (Ryder, 2017).

III.2. Situation en Algérie

La réutilisation des eaux usées épurées est une action volontaire et planifiée qui vise la production de quantités complémentaires en eau pour différents usages.

Aujourd'hui la stratégie nationale du développement durable en Algérie se matérialise particulièrement à travers un plan stratégique qui réunit trois dimensions à savoir : Sociale, Economique et Environnementale (MRE, 2012). Le réseau national d'assainissement totalise un linéaire de 27000 kilomètres. Le taux de recouvrement est, hors population éparsée, de 85%. Le volume global d'eaux usées rejetées annuellement est évalué à près de 600 millions de m³, dont 550 millions de m³ pour les seules agglomérations du nord (Hannachi *et al.*, 2014). La réutilisation des eaux usées épurées pour l'irrigation concerne en priorité les zones déficitaires en eau conventionnelle (MRE, 2012). Parmi les stations d'épuration exploitées par l'ONA (Office nationale d'assainissement) à travers 43 wilayas, quelques-unes sont concernées par la réutilisation des eaux usées épurées en agriculture (Hannachi *et al.*, 2014). En 2011, le volume réutilisé est estimé à 17 millions de m³/an, afin d'irriguer plus de 10000 hectares de superficie agricoles (MRE, 2012). Le potentiel de la réutilisation des eaux usées épurées à des fins agricoles a évolué d'une manière significative d'environ 17 millions de m³ en 2011 à environ 18 millions de m³ en 2020, et le nombre de stations concernées à 21 stations d'épurations en 2020 (ONA, 2020).

IV. Bio-indicateurs

Les bio-indicateurs désignent l'espèce ou le groupe d'espèce utilisée à des fins des bio-indications (Lagadic *et al.*, 1997), ils consistent en l'utilisation d'information biologique afin de déterminer un niveau de qualité d'environnement (Linthurst, 1995).

Les indicateurs biologiques, mesurés in situ, sont complémentaires des tests écotoxicologiques réalisés au laboratoire pour lesquels les résultats sont parfois difficiles à interpréter car d'une part, les organismes utilisés sont très différents de ceux présents in situ,

et d'autre part, les conditions d'exposition sont également très éloignées des conditions de terrain.

IV.1. Catégories

Deux catégories de bio-indicateurs peuvent être distinguées :

IV.1.1. Bio-indicateurs d'accumulation

Les bio-indicateurs d'accumulation sont des organismes qui accumulent une ou plusieurs substances issues de leurs environnements permettant ainsi d'évaluer leurs expositions (Guénolaet *al.*, 2019).

IV.1.2. Bio-indicateurs d'effet ou d'impact

Les bio-indicateurs d'effet ou d'impact sont des organismes qui permettent de révéler des effets lors de l'exposition à une ou plusieurs substances issues de leurs environnements (Bispoet *al.*, 2009).

IV.2. Caractéristiques

Les principales caractéristiques de la bio indication végétale comme la bio indication animale sont de disposer d'espèces :

- Ayant des sensibilités spécifiques très fortes vis-à-vis de certains polluants ;
- Ayant au contraire une forte résistance et une capacité d'accumulation élevée.

L'emploi de telles espèces permet d'obtenir une valeur approximative d'une pollution moyenne sur des espaces de temps élevés (Le Bras, 2017).

IV.3. Utilisations

Les bioindicateurs constituent une des méthodes fondamentales pour déterminer les changements ou modifications dans un environnement naturel. Ils peuvent être utilisés pour la surveillance de différents milieux (aérien, terrestre, et aquatique) (Van haluwyn et Lerond, 1993 ; Fritsch, 2010 ; Baudin *etal.*, 1991), et ceci pour :

- Emettre des signaux précoces de problèmes environnementaux
- Evaluer l'état de stress global de l'environnement à travers différentes réponses d'organismes indicateurs (Clergué, 2008).
- Identifier les relations (cause/effet) entre les facteurs d'altération et les effets biologiques (Chaussodet *al.*, 1996).
- Evaluer l'efficacité de mesures réparatrices sur la santé des systèmes biologiques (Mathias, 2011).

IV.4. Exemple de bio-indicateurs(vers de terre)

Les vers de terre (**Fig. 1**) sont des métazoaires, trophoblastes, coelomates et protostomiens, font parties des anélides que sont principalement représentés dans les écosystèmes terrestres par les vers de terre de la classe oligochètes, représentant une composante majeure de la macrofaune du sol puisque, dans la plupart d'écosystème terrestre, ils dominent en biomasse (Edwards et Bohlen, 1996).

Les vers de terre sont des acteurs essentiels des sols, agricoles et forestiers. Leurs rôles dans l'équilibre du sol sont multiples ; physique (aération et drainage), mais aussi chimique en produisant l'équivalent d'hormones de croissance pour les végétaux, de substances protectrices contre les parasites et un mucus nutritif pour la flore microbienne du sol.



Figure1.Vers de terre (Site internet 1)

IV.4.1. Classification

Règne : Animalia

Embranchement : Annelida

Classe : Clitellata

Sous classe : Oligochaeta

Ordre : Haplotaxida

Sous Ordre : Lumbricina

IV.4.2 Morphologie

Les vers de terres sont des animaux qui appartiennent à la macrofaune du sol. Ils ont tous une anatomie à peu près semblable (allongée et circulaire) (**Fig. 2**). Leurs corps sont constitués d'une série de nombreux anneaux successifs appelée métamère (de 60 à 200). Le premier segment est appelé prostomium, le second peristomium et le dernière pygidium. Comme tous les oligochètes terrestres, les vers de terre n'ont ni yeux, ni tête distincte. Cependant, ils possèdent une forte densité de cellules sensorielles (Lavelle et Spin, 2001)

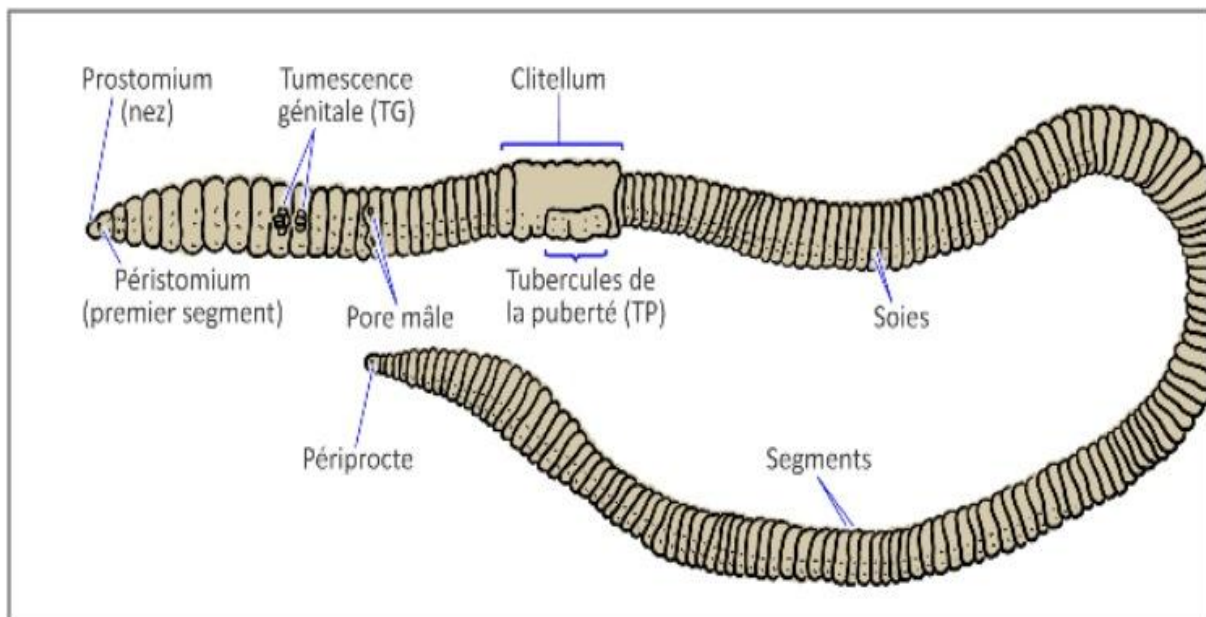


Figure 2. Morphologie du ver de terre (Site internet 2)

IV.4.3 Reproduction et cycle de vie

Les vers de terre sont, majoritairement, hermaphrodites. Les vésicules séminales et les ovaires sont situés dans la partie antérieure du corps. Quand le ver pond ses œufs, d'abondantes mucosités sont sécrétées sur son clitellum. Le ver sort des mucosités dans lesquelles restent les œufs. Les mucosités durcissent bientôt et prennent une couleur foncée. Un cocon se forme, renfermant plusieurs œufs. Au bout d'après quelque semaine de jeunes vers se développent de ces œufs et quittent le cocon (Tsouzmer et Pétrichina, 1985).

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 ver 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). Les vers adultes produisent plusieurs cocons par an, en fonction de leur âge (Svendsenet *al.*, 2005) et les conditions dans lesquelles ils se trouvent (Lee, 1985). Un ou plusieurs individus immatures, appelés juvéniles, éclosent quelques temps plus tard. La durée d'incubation dépend des conditions climatiques

(Holmstrup *et al.*, 1996) et des conditions de vie de l'adulte qui a produit ce cocon (Phillipson et Bolton, 1977). 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. Le temps de maturation varie beaucoup entre espèces et dépend des conditions de milieu (température, humidité, nourriture) (Boström et Lofs, 1996 ; Lakhani et Satchell, 1970).

IV.4.4. Physiologie

- **Respiration et circulation sanguine**

Les vers de terre n'ont pas d'organes respiratoires, mais ils respirent à travers la peau et les tissus externes dans le sang, où l'oxygène passe du milieu extérieur au corps par diffusion. (Edward et lofty, 1977). Les vers de terre ont un appareil circulatoire composé de vaisseaux sanguins par lesquels circule le sang. Le long du corps du lombric, au-dessus de l'appareil digestif, s'étend le vaisseau dorsal et, au-dessous, le vaisseau ventral. Entre ces vaisseaux principaux il y a, dans chaque anneau, un vaisseau annulaire qui les réunit. La première partie du corps renferme plusieurs vaisseaux conjonctifs plus gros remplissant le rôle de cœurs. Ils sont pourvus de muscles, se contractent régulièrement et propulsent le sang du vaisseau dorsal de l'extrémité postérieure du corps vers l'extrémité antérieure (Tsouzmer et Pétrichina, 1985).

- **Système Nerveux**

Dans chaque anneau du ver, sur sa face ventrale, se trouve un petit ganglion nerveux. Tous les ganglions sont rattachés entre eux et forment un cordon nerveux ventral. Des nerfs partent de tous les ganglions nerveux dans les différentes parties du corps. Le ver ne possède pas de véritables organes des sens, mais il ressent les contacts, le goût de la nourriture, distingue la lumière de l'obscurité. Les excitations sont perçues par les cellules sensibles de l'épiderme, reliées aux ganglions nerveux par les nerfs. Il y a surtout un grand nombre de cellules sensibles à l'extrémité antérieure du corps.

- **Digestion et appareil excréteur**

- Le système digestif est un système simple composé d'une chambre buccale, pharynx, œsophage, jabot, gésier, et l'intestin. Les vers de terre tirent leur nutrition du biomatière, sous forme de matière végétale, protozoaires vivants, rotifères, nématodes, bactéries, champignons et autres micro-organismes, et restes en décomposition de grands et petits animaux (Edward et lofty, 1977).

Les produits nocifs liquides du métabolisme s'accumulent dans la cavité corporelle. Chaque anneau du ver de terre renferme une paire de tubules excréteurs, fins et en forme de boucle. Par une de ses extrémités, le tubule communique avec la cavité corporelle, l'autre s'ouvre à l'extérieur. Par ces tubules, les produits nuisibles liquides sont rejetés de l'organisme du lombric (Tsouzmer et pétrichina, 1985).

IV.4.5. Ecologie

La qualité et la quantité de la matière organique du sol ainsi que le type de sol, le pH et les conditions climatiques, sont des facteurs du milieu qui gouvernent fortement la présence des communautés lombriciennes dans les différents biotopes (Curry, 1998 ; Lofs-Holmin, 1982 ; Whalen et Parmelee, 1999).

La température et la teneur en eau du sol sont des variables environnementales clés qui influencent la croissance, la survie, la fécondité et l'activité des lombriciens (Satchell, 1967 ; Hartensein et Amico, 1983 ; Sims et Gerard, 1999).

IV.4.6. Rôles

En creusant leurs trous, les lombrics favorisent la pénétration dans le sol de l'air et de l'eau nécessaires aux plantes. En se déplaçant, les vers avalent de la terre, qui, après avoir traversé l'intestin, est rejetée derrière eux. Cette dernière possède alors une texture plus fine et est enrichie d'humus. Le sol en devient plus fertile. Un ver de terre travaille en 24 heures environ 0,5 g de sol. Dans les champs et les jardins, où il y a beaucoup de vers, leur rôle dans la genèse du sol est important. Les expériences montrent que dans un sol où il n'y a pas de vers de terre, les plantes poussent mal, leur récolte est basse (Tsouzmer et pétrichina, 1985).

V. Biomarqueurs

Un biomarqueur désigne un changement observable et / ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportementale, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluante (Lagadic, 1998).

Les expérimentations en conditions contrôlées ont largement démontré que les biomarqueurs peuvent être utilisés pour évaluer l'exposition des individus à des xénobiotiques et dans certains cas, les effets de ceux-ci sur les structures et les fonctions vitales de l'organisme (Berthet, 2008). Les bases expérimentales ont permis d'envisager l'utilisation des biomarqueurs dans le milieu naturel, notamment dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement (Aubertot *et al.*, 2005). Le principe des biomarqueurs est de mesurer les molécules biochimiques produites (en général des molécules de détoxification) ou inhibées dans l'organisme en présence de toxiques.

V.1. Catégories

V.1.1. Biomarqueurs d'exposition

Sont aussi appelés biomarqueurs de défense ou d'adaptation. Ils témoignent de la réaction de défense de l'organisme exposé à un contaminant. En réalité ils indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Généralement, il est le résultat d'interaction avec des molécules naturelles ou des liquides biologiques (Timbrellet *et al.*, 1994).

V.1.2. Biomarqueurs d'effets

Sont aussi appelés biomarqueurs de dommage. Ils indiquent la modification directe et néfaste causée par un contaminant sur un organisme. Il indique qu'après avoir pénétré, le polluant s'est répandu dans les différents tissus, en exerçant des effets toxiques ou non. Il existe des marqueurs dits spécifiques et d'autres dits non spécifiques. Les marqueurs spécifiques offrent la possibilité d'identifier le type de contamination sur l'organisme (McCarthy et Shugar, 1990).

V.1.3. Biomarqueurs de sensibilité

Ils renseignent sur la sensibilité de l'organisme en réponse à une contamination par un polluant. Ils permettent par ailleurs de définir les limites de sensibilité de l'organisme (résistance/tolérance), et d'évaluer les variations de la sensibilité de l'organisme en réponse à une contamination par un polluant. Si la sensibilité baisse, les organismes deviennent résistants. Elle est utilisée comme biomarqueur de sensibilité, c'est l'acquisition génétique d'une nouvelle faculté. Une exposition longue à un toxique peut donc provoquer une baisse de la sensibilité (Forbes et Depledge, 1996).

V.2. Caractéristiques

Les biomarqueurs sont connus pour :

- Leur capacité de réaction à différents types de stress ;
- Leur contribution, essentiellement, au contrôle et au maintien de l'homéostasie de l'organisme (Koeman *et al.*, 1993 ; Timbrell *et al.*, 1994).

V.3. Utilisations

Les biomarqueurs sont des indicateurs d'état normal ou de changements d'état chez les individus au sein des populations (Cossu-Leguille, 2004). Ils peuvent être utilisés pour :

- Le diagnostic: permet d'identifier la présence d'une maladie (état anormal de santé de l'organisme) ;
- Le pronostic: permet de déterminer l'évolution prévisible de l'état de santé de l'organisme ;
- Le mécanisme : rend compte de l'effet observé en aval du traitement ;
- La maladie: traduit la conséquence ou la mesure de l'état de santé;
- L'efficacité : reflète le résultat bénéfique du traitement ;
- La toxicité : rend compte de l'effet toxicologique du produit sur l'organisme ;
- Le stade: permet de faire la distinction entre les différents stades de la maladie (Eurasanté, 2005).



Chapitre II

Matériel et Méthodes

I. Présentation de la station d'épuration des eaux

Une station d'épuration est une usine qui nettoie les eaux usées des particuliers et des industriels ainsi que les eaux pluviales, Elle est installée généralement à l'extrémité d'un réseau de collecte, juste en amont de la sortie des eaux vers le milieu naturel pour les épurer.

La station d'épuration, en question, se situe dans la commune de Ain Beida (W. Oum El Bouaghi) (**Fig. 3**). Cette station, qui est sous l'égide de la direction des ressources en eaux, à une capacité de traitement de 16840 m³/j d'effluents d'eaux, dont la majeure partie sont les eaux résiduaires de la ville de Ain Beida qui se déversent dans l'Oued d'El Azzabi. Les eaux épurées sont réutilisées pour l'irrigation d'une surface agricole de 180 hectares. Cette épuration est très importante pour la protection de la nappe phréatique locale.



Figure 3. Vue de ciel de la station d'épuration d'Ain Beida (Google earth, 2018)

II. Présentation du matériel biologique utilisé

Les vers de terre représentent le plus grand pourcentage de la biomasse des invertébrés terrestres (>80%), et jouent de ce fait un rôle précieux dans l'organisation et l'amélioration des composants des sols (Kumar et Kumawat, 2018).

L'espèce de vers de terre qui a été utilisée est l'espèce *Aporrectodea caliginosa* (**Fig. 4**). Cette espèce est considérée comme un modèle d'essai pertinent (Bart *et al.*, 2018).

Les individus adultes ont une longueur qui varie de 60 à 85 mm, et sont généralement composés de 120 à 150 segments avec une biomasse de 200 à 1200 mg (Sims et Gerard, 1999). Les individus n'ont pas de pigmentation significative mais les segments antérieurs sont de couleur rose pâle (Bouché, 1972). Leur reproduction est obligatoirement biparentale (Sims et Gerard, 1999), et un individu d'*Aporrectodea caliginosa* peut produire entre 0,6 et 2,6 cocons par semaine (Spurgeon *et al.*, 2000). Leur fécondité ne dépend pas seulement de

l'environnement et des caractéristiques physico-chimiques du sol mais aussi de leur âge (Bart *et al.*, 2018).



Figure 4. *Aporrectodea caliginosa* (photo personnelle)

III. Protocole expérimental

Nos vers de terre proviennent d'un jardin de maison située à Fkirina dans la wilaya de Oum El Bouaghi. Les échantillons ont été récoltés suite à un creusement dans la couche superficielle du sol (jusqu'à 30 cm) qui semble le lieu le plus habité par ces bioindicateurs. Après la récolte, les vers de terre sont mis dans des bacs en plastique à raison de 05 individus par bac dont les dimensions sont : 25 cm de largeur et 30 cm de longueur et qui ont été remplis avec une couche de 15 cm de sol provenant du même jardin afin de mieux les acclimater et de faciliter leur circulation. Les échantillons ont été traités comme suit :

- Un bac pour le témoin (traité avec l'eau distillée);
- 3 bacs sont traités avec l'eau épurée ;
- 3 bacs sont traités avec l'eau usée.

Les eaux utilisées (usée et épurée) possèdent les caractéristiques mentionnées dans le **tableau 1**.

Tableau1. Caractéristiques physicochimiques des eaux utilisées dans le traitement des vers de terre.

Paramètres	pH	Con ms/cm	T°c	MES mg/l	MVS mg/l	DCO mg/l	DBO5 mg/l	N-NO2 mg/l	Pt mg/l
Eau usée	7,83	1,87	8,1	420	360	686	189	1,13	8,43
Eau épurée	7,67	1,63	7	12	34,8	0	3,97	0,13	7,67

IV. Traitement chimique

Le traitement a été effectué par un arrosage direct sur le sol qui contient nos échantillons. Après une durée de traitement de 24, 48, et 72 heures, 03 individus sont récupérés de chacun des 07 bacs, ils sont divisés en 03 lot de 03 individus chacun afin de servir au dosage de l'Ache, le GSH, le GST, et des Protéines.

Nos échantillons sont lavés à l'eau du robinet et pesés avec une balance de précision puis mis dans des tubes d'ependorf qui contiennent séparément 1 ml du tampon de l'AchE, GSH, GST, et des Protéines, et les conservés dans un congélateur à (-20 °C) jusqu'aux dosages des métabolites.

Avant le dosage, les vers de terre sont broyés manuellement à l'aide d'un micro ciseaux et ensuite les tubes sont centrifugés et le surnageant est récupéré pour permettre de doser les différents paramètres : les protéines, l'Ache, le GSH, et le GST et l'Ache et sont dosées à partir des culots.

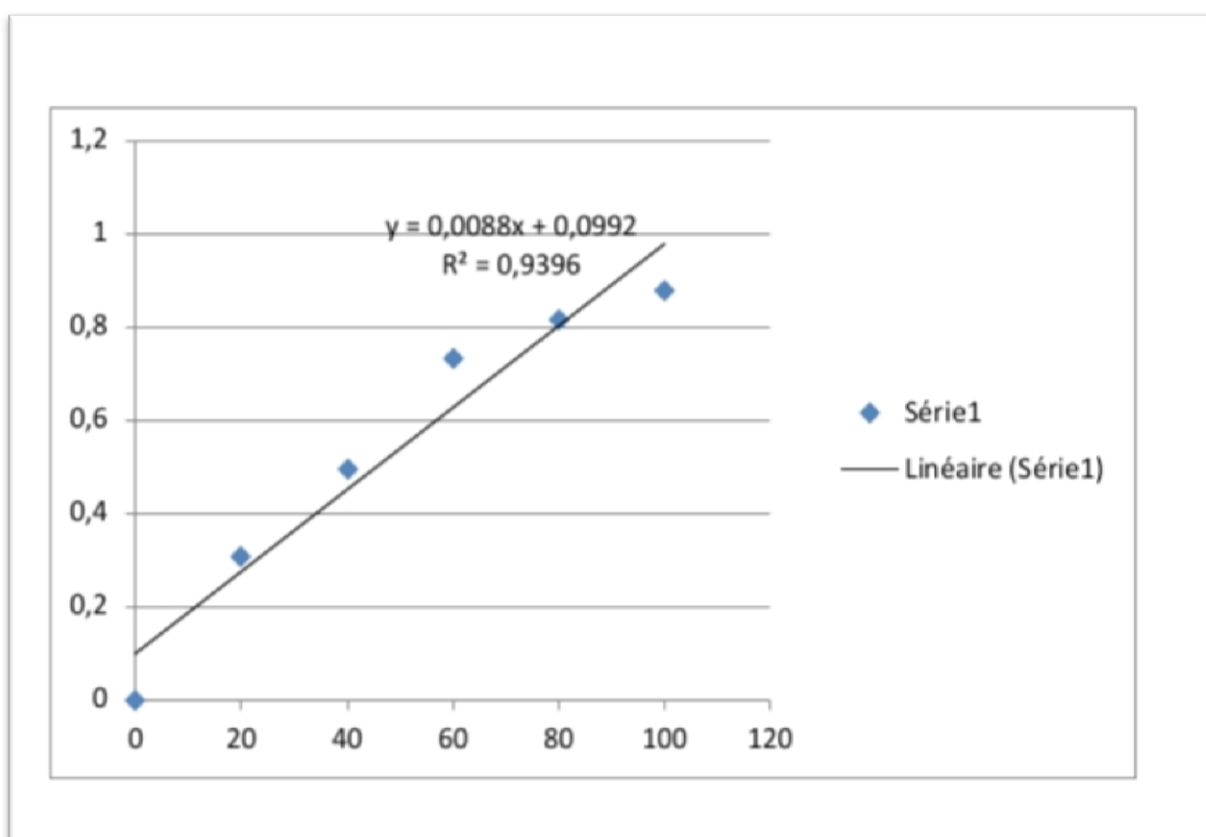
IV.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). Le réactif révèle la présence des protéines par une coloration bleue. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml (**Tab. 2, Fig. 5**).

Pour préparer la solution de BBC, on homogénéise 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol 95, puis on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85 %, et on complète à 1000 ml avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C.

Tableau 2. Dosage des protéines chez les vers de terre : réalisation de la gamme détalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Albumine (µl)	0	20	40	60	80	80
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

**Figure 5.** Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de d'albumine (µg) (R^2 : coefficient de détermination)

IV.2. Activité de l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse 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 dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.

Les vers de terre (séries témoins et traitées) sont homogénéisés dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg éthylène glycol tris beta aminoethyl éther NNN'N' (EGTA); 1ml de Triton X 100 %; 5,845 g de chlorure de sodium (NaCl) et 80 ml tampon Tris 10 mM, pH 7] puis centrifugés (5000trs/mn). Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité AchE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl de DTNB [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où la solution détergente remplace le surnageant. L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante:

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

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/min/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 (M⁻¹ cm⁻¹).

Vt : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine].

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

IV.3. Dosage du glutathion (GSH)

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker & Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn.

Un aliquote de 500 µl de l'homogénat (séries témoins et traitées) récupéré est ajouté à 1 ml du tampon tris/ EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

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

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

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

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH)(mM⁻¹cm⁻¹).

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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

IV.4. Dosage des glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) est déterminée selon la méthode de Habiget *al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible /UV.

Les échantillons (séries témoins et traitées) sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 1400 trs/ mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

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

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

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

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

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

V. Analyse statistique des données

Après les différentes expériences, une étude statistique s'avère très importante et nécessaire pour mettre en valeur les résultats et les données numériques issus des différentes expériences. Dans notre étude l'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel XLSTAT.

Afin de caractériser les différents paramètres biochimiques (protéines, AchE, GSH, et GST) suite aux différents traitements, certaines statistiques descriptives ont été données. Un test de comparaison multiple des moyennes (Post-hoc) a été appliqué (test HSD de Tukey).

Dans le but de tester la significativité de la variation de la moyenne des différents paramètres évalués pour les différents traitements des analyses de la variance à deux facteurs de classification (ANOVA) ont été adoptées. Toutes les analyses de variance ont été effectuées par des tests de *type I* à un seuil de significativité $\alpha=0,05$.

Chapitre III

Résultats et Discussion

I. Taux des différents paramètres biochimiques mesurés dans les vers de terre suite aux différents traitements

Les résultats obtenus des paramètres biochimiques mesurés suite aux différents traitements des vers de terre, sont mentionnés dans le **tableau 3**.

La moyenne des taux des protéines est égale à 63,82 ($\mu\text{g}/\text{individu}$). Ces taux varient entre un minimum de 5,79 et un maximum de 143,44 ($\mu\text{g}/\text{individu}$). Ceux de l'AchE varient entre un minimum de 1,05 et un maximum de 116,14 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) avec une moyenne de 17,13 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). Concernant le GST, les taux varient entre un taux minimal nul à un taux maximal de 24,45 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) avec un taux moyen de 2,09. Quand à ceux de GSH, ils varient entre un minimum de 0,01 à un maximum de 1,12 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) avec un taux moyen de 0,12 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Tableau 3. Taux des différents paramètres biochimiques mesurés suite aux différents traitements

Variable	Observations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type
Protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$)	27	5,79	143,44	63,82	35,17
AchE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	27	1,05	116,14	17,13	24,58
GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	27	0,00	24,45	2,09	4,76
GSH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	27	0,01	1,12	0,12	0,23

II. Effets des différents traitements sur les paramètres biochimiques mesurés

II.1. Effet sur le contenu en protéines selon la nature du traitement et la durée du traitement

Le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les témoins et les individus traités (Eau usée et Eau épurée) sont rapportées dans la **figure 6**.

Cette figure montre que les taux de protéines, chez les témoins, étaient de 50,73 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) après 24 heures de traitement, puis ils ont augmenté jusqu'à atteindre une moyenne de 101,5 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) après 48 heures de traitement, puis ils ont régressé jusqu'à un taux moyen de 90,45 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) après 72 heures de traitement.

Pour les individus traités avec l'eau épurée, le taux moyen de protéines était de 64,76 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) après 24 heures de traitement, puis ce taux descendait jusqu'à 50,96 ($\mu\text{g}/\text{individu}$), après 48 heures de traitement, puis augmentait de nouveau jusqu'à atteindre un taux moyen de 72,29 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) après 72 heures de traitement.

Quant aux individus traités avec l'eau usée, le taux moyen de 55,45 ($\mu\text{g}/\text{individu}$) mesuré après 24 heures de traitement, a augmenté, après 48 heures de traitement, jusqu'à atteindre un taux moyen de 70,01 ($\mu\text{g}/\text{individu}$), puis est redescendu de nouveau, après 72 heures de traitement, jusqu'à un taux de 18,70 ($\mu\text{g}/\text{individu}$).

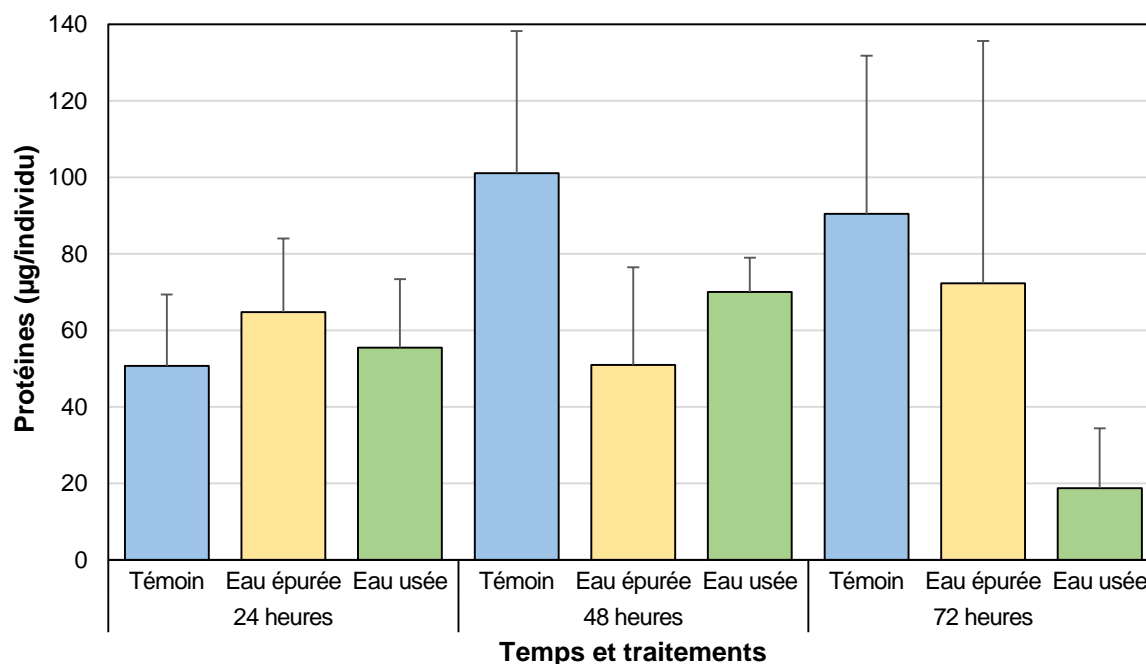


Figure 6. Taux des protéines selon la nature du traitement et la durée du traitement

Le test de Tukey, montre qu'il n'existe pas de différences entre les groupes étudiés, et ceci que ce soit entre la durée du traitement (**Tab. 4 et 5**), ou entre la nature du traitement (**Tab. 6 et 7**).

Tableau. 4 Test de Tukey pour la variable Taux des protéines selon la durée du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
24 heures vs 48 heures	-17,03	-1,14	2,55	0,51	Non
24 heures vs 72 heures	-3,50	-0,23	2,55	0,97	Non
72 heures vs 48 heures	-13,53	-0,90	2,55	0,65	Non

Tableau. 5 Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable Taux des protéines selon la durée du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
24 heures	56,98	A
72 heures	60,48	A
48 heures	74,01	A

Tableau. 6 Test de Tukey pour la variable Taux des protéines selon la nature du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Eau usée vs Témoin	-32,69	-2,18	2,55	0,10	Non
Eau usée vs Eau épurée	-14,62	-0,97	2,55	0,60	Non
Eau épurée vs Témoin	-18,07	-1,20	2,55	0,47	Non

Tableau. 7 Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable Taux des protéines selon la nature du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Eau usée	48,06	A
Eau épurée	62,67	A
Témoin	80,74	A

L'analyse de la variance (**Tab. 8**) montre qu'il n'existe aucune différence significative, et ceci que ce soit ; entre la durée du traitement, entre la nature du traitement, ou encore entre l'interaction durée de traitement et nature de traitement.

Tableau. 8 Test ANOVA pour la variable Protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	2	1455,94	727,97	0,72	0,501
Traitements	2	4825,92	2412,96	2,38	0,121
Temps*Traitements	4	7664,87	1916,22	1,89	0,155
Erreur	18	18219,01	1012,17		
Total corrigé	26	32165,74			

II.2. Effet sur l'AchE selon la nature du traitement et la durée du traitement

Les moyennes des taux d'AchE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) mesurées chez les témoins ainsi que chez les individus traités (Eau usée et Eau épurée) sont mentionnées dans la **figure 7**.

Cette figure montre que chez les témoins, et après une durée de traitement de 24 heures, le taux moyen d'AchE était de 12,28 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), puis ce taux continuait d'augmenter jusqu'à atteindre, successivement, des taux de 13,07 et 55,81 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après 48 heures et 72heures.

Concernant les individus traités avec l'eau épurée, le taux moyen d'AchE était de 17,22 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après 24 heures de traitement, puis ce taux descendait jusqu'à 7,73 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), après 48 heures de traitement, puis il a augmenté de nouveau jusqu'à atteindre un taux moyen de 31,43 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après 72 heures de traitement.

Pour les individus traités avec l'eau usée, le taux moyen de 4,47 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) mesuré après 24 heures de traitement, a augmenté, après 48 heures de traitement, jusqu'à atteindre un taux moyen de 6,82 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), puis est redescendu de nouveau, après 72 heures de traitement, jusqu'à un taux de 5,31 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

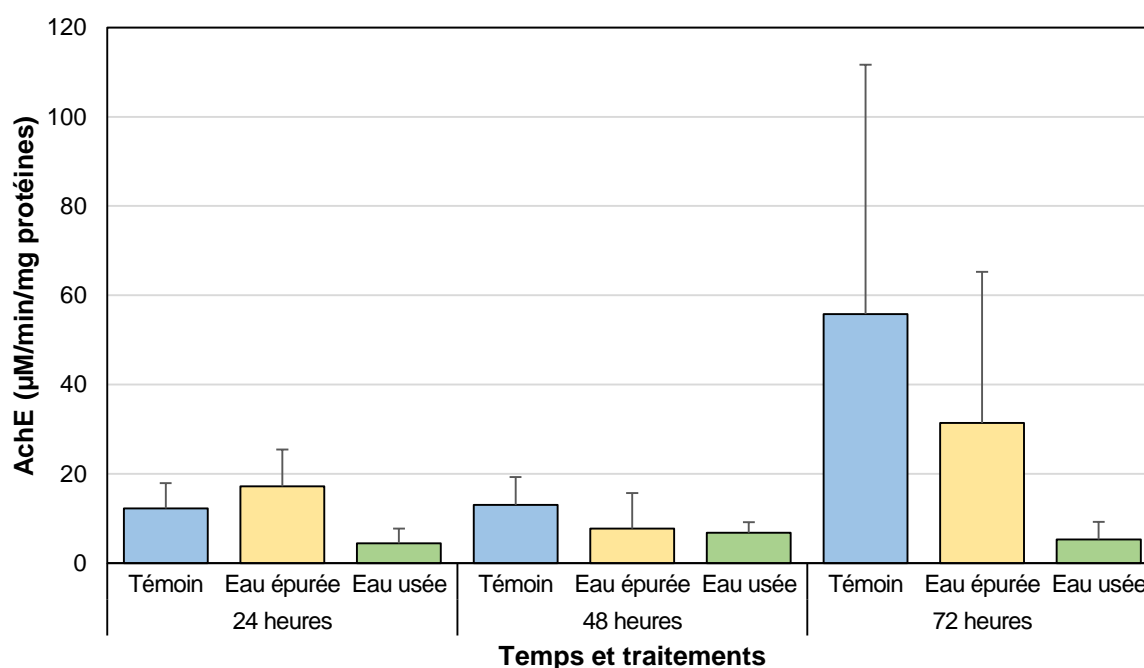


Figure 7. Taux d'AchE selon la nature du traitement et la durée du traitement

Le test de Tukey, montre qu'il n'existe pas de différences entre les groupes étudiés, et ceci que ce soit entre la durée du traitement (**Tab. 9** et **10**), ou entre la nature du traitement (**Tab. 11** et **12**).

Tableau 9. Test de Tukey pour la variable AchE selon la durée du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
48 heures vs 72 heures	-21,65	-2,05	2,55	0,13	Non
48 heures vs 24 heures	-2,12	-0,20	2,55	0,98	Non
24 heures vs 72 heures	-19,52	-1,85	2,55	0,18	Non

Tableau 10. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable AchE selon la durée du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
48 heures	9,20	A
24 heures	11,33	A
72 heures	30,85	A

Tableau 11. Test de Tukey pour la variable AchE selon la nature du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Eau usée vs Témoin	-21,52	-2,04	2,55	0,13	Non
Eau usée vs Eau épurée	-13,26	-1,26	2,55	0,44	Non
Eau épurée vs Témoin	-8,26	-0,78	2,55	0,72	Non

Tableau 12. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable AchE selon la nature du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Eau usée	5,53	A
Eau épurée	18,79	A
Témoin	27,05	A

L'analyse de la variance (**Tab. 13**) montre qu'il n'existe aucune différence significative, et ceci que ce soit ; entre la durée du traitement, entre la nature du traitement, ou encore entre l'interaction durée de traitement et nature de traitement.

Tableau 13. Test ANOVA pour la variable AchE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	2	2562,63	1281,31	2,56	0,105
Traitements	2	2121,40	1060,70	2,12	0,149
Temps*Traitements	4	2021,48	505,37	1,01	0,428
Erreur	18	9003,32	500,18		
Total corrigé	26	15708,83			

II.3. Effet sur le GST selon la nature du traitement et la durée du traitement

Les moyennes des taux de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) mesurées chez les témoins ainsi que chez les individus traités (Eau usée et Eau épurée) sont mentionnées dans la **figure 8**.

En effet, chez les témoins, et après une durée de traitement de 24 heures, le taux moyen de GST était de 9,43 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), puis ce taux a continué de baisser considérablement jusqu'à atteindre, successivement, des taux de 1,35 et 0,40 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après 48 heures et 72 heures.

En ce qui concerne les individus traités avec l'eau épurée, le taux moyen de GST mesuré après 24 heures de traitement était de 0,16 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), puis ce taux est descendu jusqu'à 0,13 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), après 48 heures de traitement, pour augmenter, considérablement, après 72 heures de traitement, jusqu'à atteindre un taux moyen de 2,72 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Quant aux individus traités avec l'eau usée, les taux moyens de GST mesurés ont continué d'augmenter selon le temps du traitement. En effet, les taux enregistrés étaient de ; 1,07 puis 1,34 et 2,25 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), et ceci, successivement, après une durée de traitement de 24 heures, 48 heures et 72 heures.

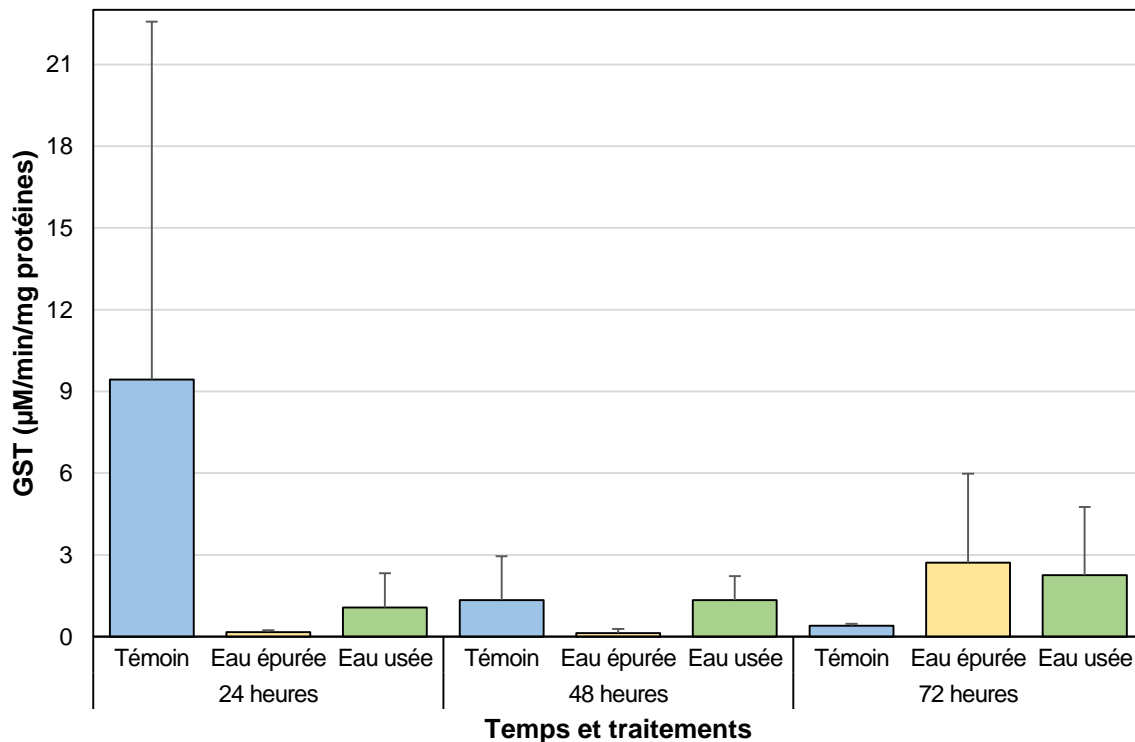


Figure 8. Taux de GST selon la nature du traitement et la durée du traitement

Le test de Tukey, montre qu'il n'existe pas de différences entre les groupes étudiés, et ceci que ce soit entre la durée du traitement (**Tab. 14** et **15**), ou entre la nature du traitement (**Tab. 16** et **17**).

Tableau 14. Test de Tukey pour la variable GST selon la durée du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
48 heures vs 24 heures	-2,62	-1,19	2,55	0,47	Non
48 heures vs 72 heures	-0,85	-0,39	2,55	0,92	Non
72 heures vs 24 heures	-1,77	-0,81	2,55	0,70	Non

Tableau 15. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable GST selon la durée du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
48 heures	0,94	A
72 heures	1,79	A
24 heures	3,56	A

Tableau 16. Test de Tukey pour la variable GST selon la nature du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Eau épurée vs Témoin	-2,72	-1,24	2,55	0,44	Non
Eau épurée vs Eau usée	-0,55	-0,25	2,55	0,97	Non
Eau usée vs Témoin	-2,17	-0,99	2,55	0,59	Non

Tableau 17. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable GST selon la nature du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Eau épurée	1,00	A
Eau usée	1,55	A
Témoin	3,72	A

L'analyse de la variance (**Tab. 18**) montre qu'il n'existe aucune différence significative, et ceci que ce soit ; entre la durée du traitement, entre la nature du traitement, ou encore entre l'interaction durée de traitement et nature de traitement.

Tableau 18. Test ANOVA pour la variable GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	2	32,08	16,04	0,74	0,490
Traitements	2	37,24	18,62	0,86	0,439
Temps*Traitements	4	131,34	32,84	1,52	0,238
Erreur	18	388,66	21,59		
Total corrigé	26	589,32			

II.4. Effet sur le GSH selon la nature du traitement et la durée du traitement

Les moyennes des taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) mesurées chez les témoins ainsi que chez les individus traités (Eau usée et Eau épurée) sont mentionnées dans la **figure 9**.

D'après cette figure, les taux moyens de GSH enregistrés chez les témoins ont continué de baisser selon le temps du traitement. En effet, le taux moyen mesuré était de 0,04 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après une durée de traitement de 24 heures, puis de 0,03 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après une durée de traitement de 48 heures, et enfin 0,02 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) après une durée de 72 heures de traitement.

Cependant, pour les individus traités avec l'eau épurée, les taux moyens de GSH mesurés ont continué d'augmenter selon le temps du traitement. En effet, les taux enregistrés étaient de ; 0,03 puis 0,09 et 0,11 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), et ceci, successivement, après une durée de traitement de 24 heures, 48 heures et 72 heures.

Quant aux individus traités avec l'eau usée, le taux moyen de GSH de 0,08 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), mesuré après 24 heures de traitement, a baissé après 48 heures de traitement, jusqu'à atteindre un taux moyen de 0,04 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), puis a augmenté, considérablement de nouveau, après 72 heures de traitement, jusqu'à un taux de 0,62 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

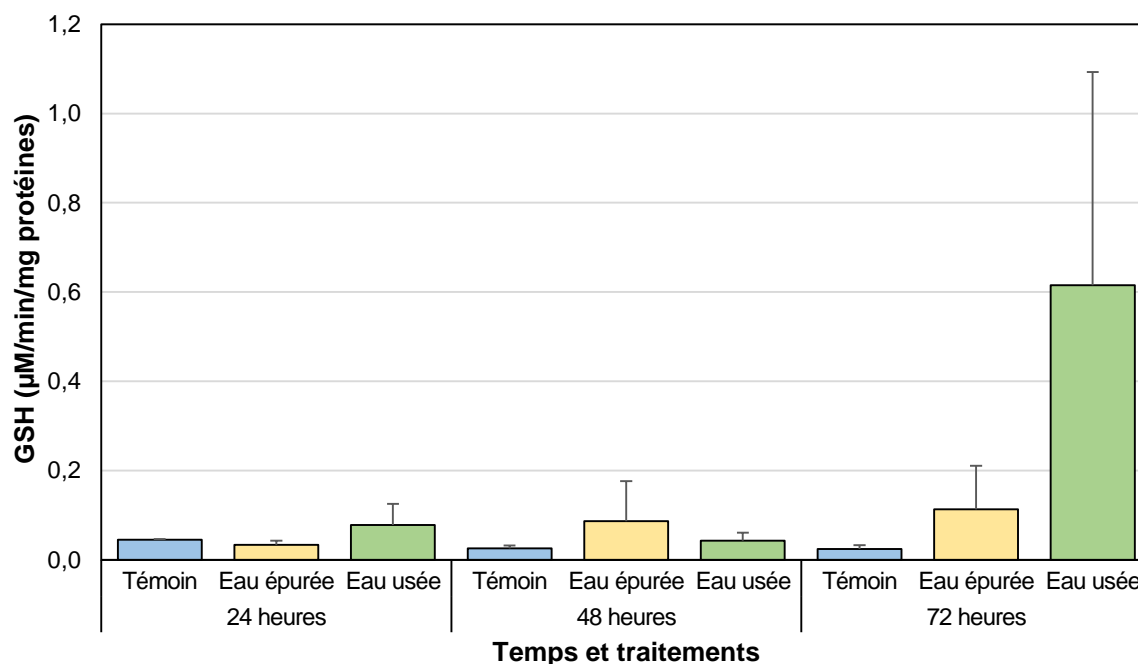


Figure 9. Taux de GSH selon la nature du traitement et la durée du traitement

Le test de Tukey, montre qu'il n'existe pas de différences entre les groupes étudiés, selon la durée du traitement (**Tab. 19** et **20**). Toutefois, la nature du traitement montre une classe intermédiaire (AB) représentée par le traitement avec l'eau épurée, par rapport aux deux autres classes ; à savoir la classe (A) représentée par les témoins et la classe (B) représentée par le traitement avec l'eau usée (**Tab. 21** et **22**).

Tableau 19. Test de Tukey pour la variable GSH selon la durée du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
48 heures vs 72 heures	-0,20	-2,55	2,55	0,05	Non
48 heures vs 24 heures	0,00	0,00	2,55	1,00	Non
24 heures vs 72 heures	-0,20	-2,54	2,55	0,05	Non

Tableau 20. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable GSH selon la durée du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
48 heures	0,05	A
24 heures	0,05	A
72 heures	0,25	A

Tableau 21. Test de Tukey pour la variable GSH selon la nature du traitement

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Témoin vs Eau usée	-0,21	-2,73	2,55	0,03	Oui
Témoin vs Eau épurée	-0,05	-0,59	2,55	0,82	Non
Eau épurée vs Eau usée	-0,17	-2,14	2,55	0,11	Non

Tableau 22. Groupes révélés par le Test de Tukey pour la variable GSH selon la nature du traitement

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	
Témoin	0,03	A	
Eau épurée	0,08	A	B
Eau usée	0,25		B

L'analyse de la variance (**Tab. 23**) montre des différences significatives ($P < 0,05$), et ceci que ce soit ; entre la durée du traitement, entre la nature du traitement, ou encore entre l'interaction durée de traitement et nature de traitement.

Tableau 23. Test ANOVA pour la variable GSH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	2	0,24	0,12	4,31	0,030
Traitements	2	0,23	0,11	4,13	0,033
Temps*Traitements	4	0,39	0,10	3,55	0,027
Erreur	18	0,50	0,03		
Total corrigé	26	1,35			

Discussion

Les vers de terre jouent des fonctions clés dans le sol, ainsi ils sont souvent utilisés comme modèles d'expériences en laboratoires car ils permettent de donner des informations claires sur les facteurs qui influencent l'état de santé des sols (Fründ *et al.*, 2010).

Compte tenu des risques qu'elles présentent pour la santé des écosystèmes, les eaux usées font l'objet de programmes de surveillance, d'études et de recherches (Hamilton *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2013). En effet, les eaux usées sont souvent rejetées directement sans subir de traitement préalable, contaminant ainsi la faune et la flore terrestre et aquatique, et finissant par atteindre l'homme à travers la chaîne alimentaire. Le devenir et l'impact écotoxicologique de certains polluants détectés dans les effluents d'eaux usées, sont, le plus souvent, évalués dans les vers de terre (Gallego *et al.*, 2021).

L'utilisation de l'eau récupérée dans l'agriculture représente une alternative prometteuse pour soulager la pression sur l'approvisionnement en eau douce, en particulier dans les régions arides ou semi-arides confrontées à une pénurie d'eau. Cependant, cela implique d'introduire des micropolluants dans l'environnement.

Nombreuses études ont démontré l'effet nocif des substances polluantes utilisées en agriculture sur la biologie et la physiologie des vers de terre (Colacevich *et al.*, 2011; Tiwari *et al.*, 2016). Certaines études sont allées même jusqu'à démontrer la capacité des vers de terre à dégrader certains polluants organiques en des substances beaucoup moins toxiques (Saranraj et Stella, 2012).

Les résultats de notre recherche montrent que la quantité synthétisée des protéines chez les vers de terre n'a pas été significativement affectée par les différents traitements pendant la période du traitement. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par (Mekahlia *et al.*, 2016) qui ont trouvé que l'application d'une mixture d'engrais et de pesticides cause un effet hautement significatif sur l'espèce *L. terrestris*. Ceci laisse à supposer qu'il faut, peut-être, plus de temps pour les molécules polluantes présentes dans les eaux usées avant qu'elles affectent le système physiologiques des vers de terre. En effet, l'accumulation de protéines pourrait être nécessaire pour restaurer les enzymes perdues dans la nécrose tissulaire induite par l'exposition à certaines substances polluantes (Mosleh *et al.*, 2006).

D'autre part, dans cette étude aucun effet significatif n'a été observé sur les biomarqueurs d'exposition (activités acétylcholinestérase et glutathion S-transférase). Ceci corrobore les travaux de Gallego *et al.* (2021), qui ont trouvé que le valsartan (médicament antihypertenseur fréquemment détecté dans les effluents d'eaux usées) n'a aucun effet sur les activités enzymatiques des vers de terre. Ceci s'explique par le fait que les substances polluantes peuvent s'accumuler dans les vers de terre, sans qu'aucun effet ne soit observé sur les biomarqueurs d'exposition.

L'augmentation observée des taux de GST dans les tissus des vers de terre avec l'avancée dans le temps pourrait être une mesure de protection contre la toxicité des substances polluantes. Le rôle de la GST est de détoxifier les composés intermédiaires électrophiles par conjugaison avec le glutathion et plusieurs xénobiotiques ce qui augmente l'activité du système GST dans les organismes exposés (Merrington *et al.*, 2002).

Par ailleurs, les taux de GSH ont été significativement affectés par les eaux usées. L'augmentation de la concentration de GSH dans les tissus peut être due à une régulation à la hausse du GSH synthétique selon un mécanisme adaptatif contre les effets toxiques (Xue *et al.* 2009). Ceci confirme les travaux réalisés par Du *et al.* (2015) et Gudbrandsen *et al.*, (2007),

qui ont démontré l'effet du DBP (phtalate de dibutyle) et du mercure sur l'augmentation des taux de GSH chez l'espèce *Eisenia fetida*.



Conclusion

Conclusion

Le sol joue un rôle important dans la croissance des organismes vivants, mais malheureusement, il est souvent exposé à divers polluants issus, surtout, de mauvaises pratiques en agriculture, ce qui entraîne des changements métaboliques et physiologiques pour les organismes vivants qui y sont présents.

Ainsi, cette étude a été élaborée dans le but de tester et d'évaluer l'effet sur quelques biomarqueurs (Protéine, GSH, AchE, GST) chez l'espèce *Aporrectodea caliginosa* suite à la contamination du sol par certains polluants tels que les eaux usées et les eaux épurées.

Les résultats obtenus, ont démontré que le traitement des vers de terre avec les eaux usées et les eaux épurées n'a aucun effet significatif sur le GSH, GST, AchE et les protéines totales et ceci que ce soit en fonction du temps ou de la nature des traitements, excepté pour le traitement de ces vers de terre avec les eaux usées, qui a provoqué un effet significatif sur le GSH.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en augmentant le temps des expériences réalisées, ou encore en choisissant d'autres modèles biologiques comme bioindicateurs à la place des vers de terre.

Il serait possible aussi d'évaluer l'effet de ces molécules sur d'autres mécanismes de résistance, essentiellement les enzymes de détoxification tels que ; les estérases, les mono-oxygénases à cytochrome P450, lactate déshydrogénase (LDH), ou également sur d'autres paramètres biochimiques tels que les glucides et les lipides.

Références bibliographiques

Amrouchi Marwa, G. R. (2017). Métaux lourds dans le lait des vaches produit dans les différents systèmes d'élevages dans la région de Guelma: contamination et risque de consommation.

Aubertot, J. N., Barbier, J. M., Carpentier, A., Gril, J. J., Guichard, L., Lucas, P., ... & Voltz, M. (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux.

Bart, S., Amossé, J., Lowe, C. N., Mougin, C., Péry, A. R., & Pelosi, C. (2018). *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(34), 33867-33881.

Baudin, J. P., Lambrechts, A., & Pally, M. (1991). Utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs de contamination radioactive. *Hydroécologie appliquée*, 3(2), 209-240.

Benchikh, H S .(2016)comportement de trois espèceslombriciensaporrectodea trapézoïdes de et octodrilus complanatus et Eisenia fetida en milieu sableux

Berthet, B. (2008). Les espèces sentinelles. *Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques*, 121-48

Bessaoud, O., Pellissier, J. P., Rolland, J. P., & Khechimi, W. (2019). *Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie* (Doctoral dissertation, CIHEAM-IAMM).

Betaouaf, N. (2012) *Réutilisation des eaux usées dans l'agriculture urbaine et périurbaine au maghreb arabe. Avantages et inconvénients* (Doctoral dissertation).p1

Bispo, A., Grand, C., & Galsomies, L. (2009). Le programme ADEME "Bioindicateurs de qualité des sols". *Étude Gest Sols*, 16, 145-158.

Boström, U. et Lofs-Holmin, A., (1996). Annual population dynamics of earthworms and cocoon production by *Aporrectodea caliginosa* in a meadow fescue ley. *Pedobiol.* 40, 32-42.

Bouché, M. B. (1972). *Lombriciens de France: écologie et systématique* (Vol. 72, No. 2). Paris: Institut national de la recherche agronomique.

Charissou, A. M., Cossu-Leguille, C., & Vasseur, P. (2004). Relationship between two oxidative stress biomarkers, malondialdehyde and 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine, in the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Science of the total environment*, 322(1-3), 109-122.

Chaussod, R., Breuil, M. C., Echairi, A., Nouaïm, R., Nowak, V., & Ranjard, L. (1996). La qualité biologique des sols. *Évaluation et implications, Étude et gestion des sols*, 3, 261-278.

Chen, W., Lu, S., Jiao, W., Wang, M., & Chang, A. C. (2013). Reclaimed water: A safe irrigation water source?. *Environmental Development*, 8, 74-83.

Clergué, B. (2008). Évaluation de l'impact des pratiques agricoles sur les fonctions de la biodiversité à l'aide d'indicateurs agri-environnementaux: approche globale et développement d'un indicateur de "résistance aux stress biotiques" (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Colacevich, A., Sierra, M. J., Borghini, F., Millán, R., & Sanchez-Hernandez, J. C. (2011). Oxidative stress in earthworms short-and long-term exposed to highly Hg-contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 194, 135-143.

Curry, J. P., (1998). Factors affecting earthworm abundance in soils. In: Edwards, C. A. (eds), *Earthworm Ecology*. Boca Raton, St. Lucie Press, pp. 389.

Delanoue, E., Roguet, C. (2015). Acceptabilité sociale de l'élevage en France: recensement et analyse des principales controverses à partir des regards croisés de différents acteurs. *INRA Productions Animales*, 28(1), 23-38

Du, L., Li, G., Liu, M., Li, Y., Yin, S., & Zhao, J. (2015). Biomarker responses in earthworms (*Eisenia fetida*) to soils contaminated with di-n-butyl phthalates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4660-4669.

Dugniolle, E. (1980). L'ASSAINISSEMENT DES EAUX RESIDUAIRES DOMESTIQUES.

Edward, C. A., & Lofty, J. R. (1977). *Biology of earthworms*. Chapman and Hall, London.

Edwards, C. A., & Bohlen, P. J. (1996). *Biology and ecology of earthworms* (Vol. 3). Springer Science & Business Media. Chapman and Hall, London, UK, 426 p.

Eurasante., (2005) : Les biomarqueurs dans le développement du médicament, les études Eurasanté, 44p. FAO (Comité de Lutte le Criquet Pèlerin). 2006. Examen des Questions concernant la Santé Humaine et l'Environnement, Rome 38ème session, 54p

Forbes, V. E., & Depledge, M. H. (1996). Environmental stress and the distribution of traits within populations. In *ECOTOXICOLOGY: ecological dimensions* (pp. 71-86). Springer, Dordrecht.

Fritsch, C. (2010). *Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres* (Doctoral dissertation, Université de Franche-Comté),p345

Fründ, H. C., Butt, K., Capowiez, Y., Eisenhauer, N., Emmerling, C., Ernst, G., ... & Schrader, S. (2010). Using earthworms as model organisms in the laboratory: recommendations for experimental implementations. *Pedobiologia*, 53(2), 119-125.

Gallego, S., Nos, D., Montemurro, N., Sanchez-Hernandez, J. C., Pérez, S., Solé, M., & Martin-Laurent, F. (2021). Ecotoxicological impact of the antihypertensive valsartan on earthworms, extracellular enzymes and soil bacterial communities. *Environmental Pollution*, 275, 116647.

- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: present and future challenges
- Gudbrandsen, M., Sverdrup, L. E., Aamodt, S., & Stenersen, J. (2007). Short-term pre-exposure increases earthworm tolerance to mercury. *European Journal of Soil Biology*, 43, S261-S267.
- Guénola, B. Antonio, G. Cécile, G. Laurence,(2009) Le programme ADEME "Bio indicateurs de qualité des sols" : Vers le développement et la validation d'indicateurs biologiques pour la protection des sols, France, , p 147.
- Hamilton, A. J., Stagnitti, F., Xiong, X., Kreidl, S. L., Benke, K. K., & Maher, P. (2007). Wastewater irrigation: the state of play. *Vadose zone journal*, 6(4), 823-840.
- Hannachi, A., Gharzouli, R., & Tabet, Y. D. (2014). Gestion et valorisation des eaux usées en Algérie. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (19).
- Hartenstein, R., Amico, L., (1983). Production and carrying capacity for the earthworm *Lumbricus terrestris* in culture. *Soil Biol. Biochem.* 15, 51-54
- Holmstrup, M., Ostergaard, I. K., Nielsen, A. et Hansen, B. T., (1996). Note on the incubation of earthworm cocoons at three temperatures. *Pedobiol.* 40, 477-478.
- inbiomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New biotechnology*, 32(1), 147-156.
- irrigués de l'Office du Niger (Mali).
- Jamin, J. Y., Doucet, M. J. (1994). La question foncière dans les périmètres
- Kaiser, J. (2001). Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk
- Kumar,k., Kumawat, P.(2018) "A review on the effect of herbicides on the earthworms." *International Journal of Zoology Studies* 3.2 : 120-125.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., & Ramade, F. (1998). Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade F. (Eds),(1997). Biomarqueurs en écotoxicologie - Aspects fondamentaux. Editions Masson, Paris, 419
- Lakhani, K. H. et Satchell, J. E., (1970). Production by *Lumbricus terrestris* (L.). *J. Anim. Ecol.* 39, 473-492.
- Lavelle P., Spain A.V., (2001). Soil ecology. Kluwer AcadémiePublishers, Dordrecht-Boston-Londres, 654 p.
- Lee K.E., (1985)· Earthworffis. Their ecoJogy and reJationships with soUs and land use. Academic Press, Sydney. 411 p.

- Linthurst, R.A., (1995) Methode to study chemical effects. In Methode to assess effects of chemicals on ecosystems. Ed. wilev Linthurst , bourdeau and tardiff , 416p.
- Lofs-Holmin, A.,(1982). Reproduction and growth of common arable land and pasture species of earthworms (Lumbricidae) in laboratory cultures. Swed. J. Agr. Res. 13, 31-37.
- Mathias, k.(2011) Etude bibliographique sur les bio-indicateurs et biomarqueurs des effets des perturbations des écosystèmes par les pesticides; Thèse de 3ème cycle, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Agadir (Maroc).
- McCarthy J.F. et SHUGART L.R (eds), (1990). Biomarkers of Environmental contamination.Lewis Publishers,Boca Raton,457 p.
- Mekahlia, M. N., Tine, S., Menasria, T., Amieur, H., & Salhi, H. (2016). In vitro biomarker responses of earthworm *Lumbricus terrestris* exposed to herbicide sekator and phosphate fertilizer. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(1), 15.
- Merrington, G., Nfa, L. W., Parkinson, R., Redman, M., & Winder, L. (2002). *Agricultural pollution: environmental problems and practical solutions*. CRC Press.
- Moufti, K. (1996). *Pollution des eaux souterraines par les nitrates liée à l'agriculture: application dans le Vexin français* (Doctoral dissertation, Lille 1).
- MRE (2012). Ministère des Ressources en Eau, Algérie, 2012.
- ONA(2021).Office National de l'Assainissement 2020
- Phillipson, J. et Bolton, P. J., (1977). Growth and cocoon production by *Allolobohora rosea* (Oligochaeta: Lumbricidae). *Pedobiol.* 17, 70-82
- Ribeyreix-Claret, C. (2001). *Agriculture et environnement en Gascogne gersoise: érosion du sol et pollution diffusé par le phosphore: le cas du bassin versant d'Aurade (Gers)* (Doctoral dissertation, Toulouse 2).
- Ryder , G (2017) Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau 2017 Les eaux usées une ressource inexploitée.16-20 p
- Sammarco, P.W., Hallock, P., Lang, J.C. et LeGore, R.S. (2007). Roundtable discussion groups summary papers: environmental bio-indicators in coral reef ecosystems: the need to align research, monitoring, and environmental regulation. *Environmental bioindicators* 2, 35-46.
- Saranraj P, Stella D (2012) Vermicomposting and its importance in improvement of soil nutrients and agricultural crops. *Novus Nat Sci Res* 1(1):14–23
- Satchell, J. E., (1967). Lumbricidae. In: Burges, A. et Raw, F. (eds), *Soil Biology*. Academic Press, London, pp. 259-322.
- Sims, R. W. et Gerard, B. M., (1999). *Earthworms*. FSC Publications, London, 167 pp.

Six, J., Feller, C., Deneff, K., Ogle, S. M., Sa, J. C. d. M. et Albrecht, A., (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils - effects of no-tillage. *Agronomie*22, 755-775.

Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Rimmer, V. R., Hopkin, S. P., & Weeks, J. M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(7), 1800-1808.

Stork, N. E., & Eggleton, P. (1992). Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. *American journal of alternative agriculture*, 38-47

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

Timbrell J.A., Drapper R. et Waterfield C., (1994). - Biomarkers in toxicology : new uses for old molecules. *Toxicol. Ecotoxicol. News*, 1, 4-14.

Tiwari, R. K., Singh, S., Pandey, R. S., & Sharma, B. (2016). Enzymes of earthworm as indicators of pesticide pollution in soil. *Advances in Enzyme Research*, 4(04), 113.

Tsouzmer, A. , Pétrichina, O., (1985).zoologie

Van Haluwyn, C. et Lerond, M. (1993). Le guide des lichens, Lechevalier, Paris, 344p.

Wang, G., Shi, H., Du, Z., Chen, H., Peng, J., & Gao, S. (2017). Bioaccumulation mechanism of organophosphate esters in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 229, 177-187.

Whalen, J. K. et Parmelee, R. W.,(1999). Growth of *Aporrectodea tuberculata* (Eisen) and *Lumbricus terrestris* L. under laboratory and field conditions. *Pedobiol.* 43, 1-10.

Xue, Y., Gu, X., Wang, X., Sun, C., Xu, X., Sun, J., & Zhang, B. (2009). The hydroxyl radical generation and oxidative stress for the earthworm *Eisenia fetida* exposed to tetrabromobisphenol A. *Ecotoxicology*, 18(6), 693-699.

Les Sites web

Site1https://fr.123rf.com/images-libres-de-droits/vers_de_terre.html?sti=mbri34potc7lsm2rgb|

Site 2 <https://www.naturewatch.ca/wormwatch/fr/comment-surveiller/anatomie/>