

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun – Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT 3^{EME} CYCLE

Spécialité
Écologie et Préservation des Écosystèmes Terrestres

Présentée par
BOUKIRAT Dyhia

**Bioremédiation d'un sol agricole pollué par le plomb à l'aide de
l'interaction des macro-invertébrés terrestres (vers de terre :
Lumbricus sp) et des céréales (orge commune : *Hordeum vulgare*)**

Soutenue publiquement le 24/01/2018

Membres de jury :

Pr. DELLAL A. (Professeur, Université de Tiaret)	Président
Pr. MAATOUG M. (Professeur, Université de Tiaret)	Directeur de thèse
Pr. AYAD N. (Professeur, Université de Sidi Bel Abbes)	Examineur
Pr. BEGHALIA M. (Professeur, Centre Universitaire de Tissemsilt)	Examineur
Pr. MILOUDI A. (Professeur, Université de Mascara)	Examineur
Dr. AIT HAMMOU M. (MCA, Université de Tiaret)	Examineur

Une partie de cette thèse a été réalisée à l'Institut de Biosciences, TU Bergakademie Freiberg, Allemagne., et à l'Université de Lleida, ETSEA Campus, Espagne dans le cadre d'un projet de Mobilité Erasmus+ (2016/2017) entre l'Université Ibn-Khaldoun, Tiaret et L'Université de Lleida, Campus ETSEA, Espagne.

À mes chers parents

À mes sœurs

À mon frère et sa femme

À mon ange « DARIS »

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à témoigner toute ma gratitude aux personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de cette thèse. Mes remerciements vont également à mes parents, qui m'ont toujours soutenu au cours de mes études et m'ont permis d'arriver jusqu'à ce stade.

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à **Mr Maatoug M.**, professeur à l'université de Tiaret et directeur de ma thèse. Avec sa disponibilité, son savoir-faire, ses conseils, il m'a permis de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions. Sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle il a suivi et dirigé ce travail ont permis son aboutissement à temps.*

Je tiens à remercier :

***Mr DELLAL Abdelkader**, Professeur à l'université de Tiaret, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.*

***Mm. AYAD N.** Professeur à l'université de Sidi Bel Abbes ; **Mr BEGHALIA M.** Professeur au Centre Universitaire de Tissemsilt ; **Mr MILOUDI A.** Professeur à l'université de Mascara ; et **Mr AIT HAMMOU M.** Maître de Conférences à l'université de Tiaret pour avoir accepté de juger mon travail*

Mes remerciements vont aussi à

Mm Zerrouki, pour m'avoir proposé ce sujet,

Et particulièrement à Mr Abdelly M. pour son aide et ces précieux conseils,

Redouane, Leila et khalida qui m'ont précieusement aidé,

Également l'équipe du laboratoire d'écologie et foresterie de la faculté de SNV, Université de Tiaret.

Et tous mes enseignants.

En Espagne

Mes remerciements vont au Professeur Delfi Sanuy de L'université de Lleida.

Et au Professeur Angela Bosch de L'université de Lleida pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Également à Montserrat, Silvana ainsi qu'à Alcira qui m'a initié à l'identification des vers de terre.

En Allemagne

Mes remerciements vont au Professeur Heilmeyer H. de l'Institut de Biosciences, TU Bergakademie Freiberg, Allemagne pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Et à

Oliver Wiche et Christine Moschner de l'Institut de Biosciences, TU Bergakademie Freiberg, Allemagne qui m'ont aidé.

Je remercie aussi mon amie et frère, Hicham pour son aide précieuse ;

Hiba pour les moments que nous avons partagé au cours de nos multiples voyages et les aventures passées ensemble (ici et à l'étranger...)

Habiba, travailler ensemble nous a rendus amies, merci pour m'avoir tenu compagnie dans la serre

Leila merci pour m'avoir accueilli et aider en Allemagne.

Je remercie également : Nadia ; Hassiba, Benchorha, Walid, khaira, Fatiha, Habiba .D, Assma, Sebastia et joan,

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
Partie A : Synthèse Bibliographique	
I- LES MÉTAUX LOURDS.....	4
I.1. DÉFINITION DES MÉTAUX LOURDS.....	4
I.2. LES MÉTAUX LOURDS DANS L'ENVIRONNEMENT ET LE SOL.....	4
I.3. ORIGINE DE LA POLLUTION PAR LES MÉTAUX LOURDS.....	6
I.4. CONTAMINATION ET POLLUTION DES SOLS PAR LES MÉTAUX LOURDS.....	8
I.5. CYCLE DES MÉTAUX DANS LES SOLS.....	10
I.6. DISTRIBUTION DES MÉTAUX LOURDS DANS LE SOL.....	11
I.7. RÉTENTION DES MÉTAUX LOURDS DANS LE SOL.....	12
I.8. LES MÉTAUX LOURDS : OLIGOÉLÉMENTS OU ÉLÉMENTS TOXIQUES.....	14
I.9. POLLUTION PAR LE PLOMB.....	15
I.9.1. PROPRIÉTÉS FONDAMENTALES DU PLOMB.....	16
I.9.2. TOXICITÉ DU PLOMB.....	16
II-TECHNIQUES DE DÉPOLLUTION.....	18
II.1.BIOREMÉDIATION.....	18
II.1.1.DÉFINITION DE LA BIOREMÉDIATION.....	18
II.1.2.PRINCIPE DE LA BIOREMÉDIATION.....	18
II.1.3.FACTEURS DE LA BIOREMÉDIATION.....	19
II.1.4.TECHNOLOGIES DE LA BIOREMÉDIATION.....	19
II.1.5.LES AVANTAGES DE LA BIOREMÉDIATION.....	20
II.1.6.LIMITES TECHNIQUES.....	21
II.2.PHYTOREMÉDIATION.....	22
II.2.1.DÉFINITIONS DE LA PHYTOREMEDIATION.....	22
II.2.2.LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE PHYTOREMÉDIATION.....	22
II.2.3.AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DE LA PHYTOREMEDIATION.....	24
III.LES MACRO-INVERTÉBRÉS TERRESTRES « VERS DE TERRE ».....	26
III.1.LES VERS DE TERRE : ORGANISMES INGÉNIEURS DU SOL.....	26
III.2.CATÉGORIES ÉCOLOGIQUE DES VERS DE TERRE.....	26
III.3.DIVERSITÉ DES VERS DE TERRE.....	28
III.4.TAXINOMIE « TRADITIONNELLE » DES VERS DE TERRE.....	28
III.5.IMPACT FAVORABLE DES VERS DE TERRE.....	30
III.6.INTERACTIONS ENTRE LES VERS DE TERRE ET LES MÉTAUX LOURDS.....	30
III.6.1.IMPACT DES MÉTAUX LOURDS SUR LES VERS DE TERRE.....	32

III.6.2.EFFETS DES VERS DE TERRE SUR LA BIODISPONIBILITÉ ET MOBILITÉ DES MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS	34
III.6.2.1.RÔLE DE L'ESPÈCE ET DES CATÉGORIES ÉCOLOGIQUES DES VERS DE TERRE	34
III.6.2.2.VOIES D'ACCUMULATION DES MÉTAUX LOURDS DANS LES VERS DE TERRE	36
III.7.INTÉRÊTS DES VERS DE TERRE POUR LA PHYTOREMÉDIATION	37
RÉFÉRENCE	39

Partie B : Matériel et Méthodes

I.INTRODUCTION	54
II.COMPOSANTS DE L'EXPÉRIMENTATION	55
II.1.LE SOL	55
II.2.LE MATÉRIEL VÉGÉTAL (HORDEUM VULGARE L)	55
II.3.LES VERS DE TERRE (LUMBRICUS SP.)	55
II.4.CONTAMINATION DU SOL PAR LE PLOMB	57
III.MISE EN PLACE DE L'EXPÉRIMENTATION	58
IV.DÉMONTAGE DE L'EXPÉRIMENTATION ET RÉCOLTES DES ÉCHANTILLONS	60
IV.1.LA PLANTE :	60
IV.2.LES VERS DE TERRE	60
IV.3.LE SOL	60
V.ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL UTILISÉ	61
• ANALYSE GRANULOMÉTRIQUE	61
• LE PH	62
• LA CONDUCTIVITÉ ÉLECTRIQUE	62
• LA TENEUR EN MATIÈRE ORGANIQUE (MO)	62
• LA CAPACITÉ D'ÉCHANGE CATIONIQUE (CEC)	62
VI.DOSAGE DES MÉTAUX LOURDS	65
VI.1. SOL	65
VI.2.PLANTES ET VERS DE TERRE	65
VII.ANALYSE STATISTIQUE	66
RÉFÉRENCE	67

Partie C : Résultats et Discussion

CHAPITRE 1 : RÉTENTION DU PLOMB PAR LE SOL	70
1. TENEURS DU PLOMB DANS LE SOL	71
2. RÉTENTION DU PLOMB PAR LE SOL ET LES FACTEURS QUI L'INFLUENCENT :	73
3.CONCLUSION	75

RÉFÉRENCE.....	77
CHAPITRE 2 : EFFET DE L'ACTIVITÉ DES VERS DE TERRE SUR LE SOL.....	79
1. COMPARAISON DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS OBTENUS.....	80
1.1. EFFET DE L'ACTIVITÉ DES VERS DE TERRE SUR LE PH DU SOL.....	80
1.2. EFFET DE L'ACTIVITÉ DES VERS DE TERRE SUR LA CEC, LA MO ET LA CE.....	82
1.3. EFFET DES VERS DE TERRE SUR LA CONCENTRATION DES MÉTAUX ET NUTRIMENTS DU SOL.....	84
2. CONCLUSION.....	87
RÉFÉRENCE.....	88
CHAPITRE 3: PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.....	91
1. TENEURS DU PLOMB DANS LE SOL ET L'ORGE.....	91
2. INFLUENCE DES FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL SUR LA PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR L'ORGE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.....	92
2.1. INFLUENCE DU PH DU SOL.....	92
2.2. INFLUENCE DE LA CEC.....	93
2.3. INFLUENCE DU TAUX D'ARGILE (A%).....	95
2.4. INFLUENCE DU TAUX DE LA MATIÈRE ORGANIQUE (MO%).....	97
3. CORRÉLATION : PLOMB SOL -PLOMB ORGE.....	98
4. TAUX D'ACCUMULATION DE PLOMB PAR L'ORGE.....	100
5. CONCLUSION.....	101
RÉFÉRENCE.....	102
CHAPITRE 4 : BIOACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	105
1. CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL ET LES TISSUS DES VERS DE TERRE.....	106
2. CORRÉLATION PLOMB SOL -PLOMB VERS DE TERRE.....	107
3. IMPACT DES FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	108
3.1. IMPACT DU PH DU SOL SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	108
3.2. IMPACT DU TAUX D'ARGILE SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	110
3.3. IMPACT DE LA CAPACITÉ D'ÉCHANGE CATIONIQUE (CEC) SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	112
3.4. IMPACT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE (MO %).....	113
4. TAUX D'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	114
5. CONCLUSION.....	116

RÉFÉRENCE.....	117
CHAPITRE 5 : L'ASSOCIATION HORDEUM VULGARE –LUMBRICUS SP ET L'ACCUMULATION DU	
PLOMB.	121
1.TENEURS DU PLOMB DANS LE SOL, L'ORGE ET LES VERS DE TERRE	121
2.CORRÉLATION PLOMB SOL- PLOMB SYSTÈME, PLOMB ORGE ET PLOMB VERS DE TERRE	122
3.INFLUENCE DES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL SUR LA BIOACCUMULATION DU	
PLOMB PAR L'ASSOCIATION HORDEUM VULGARE –LUMBRICUS SP.....	123
3.1.EFFET DU PH DU SOL SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB	123
1* CAS DE L'ORGE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE	123
2*CAS DES VERS DE TERRE EN PRÉSENCE DE LA PLANTE :	124
3.2.EFFET DE LA CEC SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB	126
1* CAS DE L'ORGE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE	126
2* CAS DES VERS DE TERRE EN PRÉSENCE DE LA PLANTE :	127
3.3.EFFET DU TAUX D'ARGILE DANS LE SOL SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB.....	128
1* CAS DE L'ORGE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE	128
2*CAS DES VERS DE TERRE EN PRÉSENCE DE LA PLANTE	129
3.4.EFFET DE LA MO % SUR L'ACCUMULATION DU PLOMB	130
1* CAS DE L'ORGE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE	130
2*CAS DES VERS DE TERRE EN PRÉSENCE DE LA PLANTE :	131
4.TAUX D'ACCUMULATION DU PLOMB PAR L'ASSOCIATION HORDEUM VULGARE – LUMBRICUS SP.....	133
5.CONCLUSION	134
RÉFÉRENCE.....	135
CHAPITRE 6 : EFFET DU PLOMB SUR LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE.....	138
1.VARIATION DE LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE INTER- SYSTÈMES	138
2.VARIATION DE LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE INTRA-SYSTÈMES.....	139
3.CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL ET LA BIOMASSE DES	
VERS DE TERRE.....	140
4.INFLUENCE DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES SUR LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE.....	141
5.CONCLUSION	144
RÉFÉRENCE.....	145
CHAPITRE 7 : EFFET DE L'INTERACTION PLANTE / VERS DE TERRE SUR LA BIOREMÉDIATION DU	
PLOMB	146
1.CONCENTRATIONS TOTALES DU PLOMB DANS LES 3 SYSTÈMES ACCUMULÉES PAR LA PLANTE ET	
LES VERS DE TERRE.	147

2.INTERACTION PLANTE/VERS DE TERRE/PLOMB	148
2.1.CONCENTRATION DU PLOMB DANS LES VERS DE TERRE ENTRE PRÉSENCE/ ABSENCE DE LA PLANTE	149
2.2.CONCENTRATION DU PLOMB DANS LA PLANTE ENTRE PRÉSENCE/ ABSENCE DES VERS DE TERRE	150
3.CONCLUSION	152
RÉFÉRENCE.....	153
1.RELATIONS ENTRE LES CARACTÉRISTIQUES DU SOL ET LA BIOACCUMULATION DU PLOMB PAR LES DEUX ORGANISMES PAR L'ANALYSE CANONIQUE DES CORRESPONDANCES	156
RÉFÉRENCE.....	160
CONCLUSION GÉNÉRALE	162
RÉFÉRENCE.....	169
ARTICLE.....	171
COMMUNICATIONS AFFICHÉES	182
RÉSUMÉ	186

Liste des figures

Partie A : Synthèse Bibliographique

FIGURE 1: SOURCES DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES DANS LES SOLS. [D'APRÈS ROBERT ET JUSTE, 1999].....	6
FIGURE 2: DIFFÉRENTES FORMES ET MÉCANISMES DE FIXATION DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES DANS LES SOLS [MASON ET AL., 1999].....	12
FIGURE 3: LES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS DE PHYTOREMÉDIATION ET LE RÔLE DES PLANTES [MOREL, 2010].....	22
FIGURE 4: SCHÉMA DES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUE UTILISÉS POUR L'IDENTIFICATION CHEZ LES VERS DE TERRE [BOUCHÉ, 1972].....	29
FIGURE 5: STRUCTURES CONSTRUITES PAR DES VERS DE TERRE (A) GALERIE, (B) DÉJECTION DANS LES GALERIES (FÈCES) ET (C) À LA SURFACE (TURRICULES) [HUYNH T.M.D., 2009].....	30

Partie B : Matériel et Méthodes

FIGURE 6: ÉTAPE DE LA RÉCOLTE DES VERS DE TERRE [CLICHÉ : BOUKIRAT, 2016].....	566
FIGURE 7: VER DE TERRE RÉCOLTÉ [CLICHÉ : BOUKIRAT, 2016].....	57
FIGURE 8: DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL	58
FIGURE 9: DISPOSITION DES POTS DANS LA SERRE [CLICHÉ : BOUKIRAT, 2016].....	59
FIGURE 10: DÉMONTAGE DES POTS [CLICHÉ : BOUKIRAT, 2016].....	61

Partie C : Résultats et Discussion

FIGURE 11: CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL DE L'EXPÉRIMENTATION	72
FIGURE 12: EFFET DE L'ACTIVITÉ DES VERS DE TERRE SUR LE PH DES SOLS DE L'EXPÉRIMENTATION (S: SOL POLLUÉ, T: SOL TÉMOIN)	80
FIGURE 13: VARIATION DE LA MO (A), LA CEC (B) ET LA CE (C) DU SOL EN PRÉSENCE/ABSENCE DES VERS DE TERRE ET/OU DE LA PLANTE.....	83
FIGURE 14: CONCENTRATIONS DES MÉTAUX ET NUTRIMENTS DANS LES SOLS DE L'EXPÉRIMENTATION CU (A); ZN (B); CR (C) ; Cd (D) ; MN (E); FE (F).....	85
FIGURE 15: CORRÉLATION ENTRE LE PH DU SOL ET LA PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES	93
FIGURE 16: CORRÉLATION ENTRE LA CEC ET LA PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.....	94

FIGURE 17: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DES ARGILES (%) ET LA PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.....	96
FIGURE 18: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DE LA MO (%) ET LA PHYTOEXTRACTION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.	97
FIGURE 19: CORRÉLATION : Pb SOL – Pb PLANTE (HORDEUM VULGARE) EN CONDITIONS CONTRÔLÉES.....	99
FIGURE 20: POURCENTAGE D'ACCUMULATION DU PLOMB PAR L'ORGE	100
FIGURE 21: CORRÉLATION ENTRE LE PLOMB DU SOL ET LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LES TISSUS DES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	107
FIGURE 22: CORRÉLATION ENTRE LE PH DU SOL ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP	109
FIGURE 23: CORRÉLATION ENTRE L'A% DU SOL ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.	111
FIGURE 24: CORRÉLATION ENTRE LA CEC ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP	112
FIGURE 25: CORRÉLATION ENTRE LA MO% ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	113
FIGURE 26: POURCENTAGE D'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LUMBRICUS SP.	115
FIGURE 27: CORRÉLATION ENTRE LE PLOMB DU SOL ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR L'ORGE, LES VERS DE TERRE ET LE Pb SYSTÈME	122
FIGURE 28: CORRÉLATION ENTRE LE PH DU SOL ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	124
FIGURE 29: CORRÉLATION ENTRE LE PH DU SOL ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	125
FIGURE 30: CORRÉLATION ENTRE LA CEC ET LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS HORDEUM VULGARE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP	126
FIGURE 31: CORRÉLATION ENTRE LA CEC ET LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LES VERS DE TERRE.....	127
FIGURE 32: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DES ARGILES (%) ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	128
FIGURE 33: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DES ARGILES (%) ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE.....	129
FIGURE 34: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DE MO (%) ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR HORDEUM VULGARE EN PRÉSENCE DES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	131
FIGURE 35: CORRÉLATION ENTRE LE TAUX DE MO (%) ET L'ACCUMULATION DU PLOMB PAR LES VERS DE TERRE LUMBRICUS SP.....	132

FIGURE 36: POURCENTAGE D'ACCUMULATION DU PLOMB PAR L'ORGE ET LES VERS DE TERRE DANS LE SYSTÈME 3.	133
FIGURE 37: VARIATION DE LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE ENTRE LES SOLS POLLUÉS ET LES SOLS TÉMOINS.	138
FIGURE 38: ANALYSE DE VARIANCE DE LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE (G) DANS LES DIFFÉRENTS BLOCS DE SYSTÈME 2 ET 3.....	140
FIGURE 39: CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL ET LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE DANS LE SYSTÈME 2 (A) ET LE SYSTÈME 3 (B).	141
FIGURE 40: CORRÉLATION ENTRE LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE ET LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL : PH (A), MO (B), CE (C), CEC (D), ARGILE (E), LIMON (F) ET SABLE (G).	142
FIGURE 41: CONCENTRATIONS DU PLOMB EXTRAÏT DU SOL DANS LES TROIS SYSTÈMES (S1: SOL_PLANTE ; S2: SOL_VERS DE TERRE; S3: SOL_PLANTE_VERS DE TERRE).....	147
FIGURE 42: EFFET DE L'INTERACTION BLOC X Pb CONCENTRATION DANS LA PLANTE, VERS DE TERRE, SOL ET Pb SYSTÈME	148
FIGURE 43 : CONCENTRATION DU PLOMB DANS LES VERS DE TERRE EN PRÉSENCE (S3-T3) ET EN ABSENCE (S2-T2) DE LA PLANTE.	149
FIGURE 44 : CONCENTRATION DU PLOMB DANS LA PLANTE EN PRÉSENCE (S3-T3) ET EN ABSENCE (S1-T1) DES VERS DE TERRE.	150
FIGURE 45 : RÉSULTATS DE L'ANALYSE CANONIQUE DES CORRESPONDANCES, PROJECTION DANS LES DIMENSIONS 1 ET 2 DES VARIABLES : CARACTÉRISTIQUES DU SOL: PH, CEC, CE, MO%, A%, S%, L% ; LE TYPE D'INTERACTION REPRÉSENTÉ PAR LES 3 SYSTÈMES; LES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL, PLANTE ET VERS DE TERRE ET LA BIOMASSE DES VERS DE TERRE.....	157

Liste des tableaux

Partie A : Synthèse Bibliographique

TABLEAU 1: FOND GÉOCHIMIQUE NATUREL DES MÉTAUX LOURDS COURAMMENT OBSERVÉS DANS LES SOLS EN FRANCE [BAIZE. 1997].....	9
TABLEAU 2: NORMES INTERNATIONALES POUR LA CONTAMINATION DES SOLS EN ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES EN PPM. [CITÉ IN ZERROUKI, 2014].....	10
TABLEAU 3: PRINCIPAUX POLLUANTS TRAITÉS PAR PHYTOREMÉDIATION D'APRÈS SUSARLA ET AL. [2002].	24

Partie C : Résultats et Discussion

TABLEAU 4: CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL	71
TABLEAU 5: CORRÉLATION ET ANALYSE DE VARIANCE ENTRE LE PLOMB DU SOL ET LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL.	73
TABLEAU 6: STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SOL ET L'ORGE DU SYSTÈME 1 (SOL-PLANTE)	91
TABLEAU 7: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE PH	92
TABLEAU 8: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA CEC	94
TABLEAU 9: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DES ARGILES.....	95
TABLEAU 10: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA MO %	97
TABLEAU 11: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS Pb SOL	98
TABLEAU 12: STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CONCENTRATIONS DU PLOMB (UG/G) DANS LE SOL ET LES VERS DE TERRE.....	106
TABLEAU 13: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS Pb SOL	107
TABLEAU 14: ANALYSES DE VARIANCE À UN SEUL FACTEUR CAS DE PH.....	108
TABLEAU 15: ANALYSES DE VARIANCE À UN SEUL FACTEUR CAS DE L'A%.	110
TABLEAU 16: ANALYSES DE VARIANCE À UN SEUL FACTEUR CAS DE LA CEC.....	112
TABLEAU 17: ANALYSES DE VARIANCE À UN SEUL FACTEUR CAS DE MO%.....	113
TABLEAU 18: STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CONCENTRATIONS DU PLOMB DANS LE SYSTÈME 3 (SOL – PLANTE - VERS DE TERRE).....	121
TABLEAU 19: VALEURS DES COEFFICIENTS DE CORRÉLATION « R » ET DE « P » ANOVA A UN SEUL FACTEUR POUR LE Pb- SOL.....	122
TABLEAU 20: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE PH.....	124
TABLEAU 21: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE PH.....	124

TABLEAU 22: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA CEC	126
TABLEAU 23: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA CEC.....	127
TABLEAU 24: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE L'ARGILE (%).....	128
TABLEAU 25: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE L'ARGILE (%).....	129
TABLEAU 26: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA MO (%).....	130
TABLEAU 27: ANALYSE DE LA VARIANCE À UN SEUL FACTEUR : CAS DE LA MO (%).....	131
TABLEAU 28: TAUX RELATIF DE CROISSANCE DES VERS DE TERRE (LUMBRICUS SP) EN PRÉSENCE ET/OU ABSENCE DE L'ORGE.....	139

Introduction

Introduction

Les vers de terre, l'un des groupes dominant des macro-invertébrés du sol dans plusieurs écosystèmes terrestres représentant près de 80% de la biomasse du sol, ils sont identifiés comme étant des ingénieurs de l'écosystème pour leurs effets à long terme sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol [Edwards and Bohlen, 1996; Blouin *et al.*, 2013, Bityutskii, 2016]. Dus à Leur contact permanent et leur forte interaction avec le sol, les vers de terre peuvent être profondément affectés par la pollution des sols et accumulés les contaminants dans leur corps, ses caractéristiques entre autres, on permet leur utilisation comme des organismes indicateurs de la contamination du sol. [Lanno *et al.*, 2004; Xiao *et al.*, 2006].

Les vers de terre peuvent bioconcentrer certains produits chimiques en faisant intervenir des mécanismes d'absorption sélective et d'excrétion, qui varient suivant les espèces de vers et les familles de produits chimiques. Les effets toxiques d'un grand nombre de substances chimiques, ainsi que l'analyse de leur absorption et de leur métabolisme ont été répertoriés par Edwards & Bohlen [1992], qui soulignent l'intérêt des vers de terre dans la biosurveillance de la qualité des sols [De Vaufleury *et al.*, 2013].

Les activités anthropiques sont à l'origine de la contamination des sols par divers composants organiques et inorganiques. Les métaux lourds produits par les activités industrielles, l'agriculture et le trafic routier ont atteint des niveaux élevés dans le sol , voir toxiques pour certains, dans de nombreuses régions [Ha *et al.*, 2011;. Jiang *et al.*, 2012 ; Adriano, 2001 ; Alkorta *et al.*, 2004]. Parmi les métaux lourds dont les niveaux dans le sol reçoivent une grande attention en raison de leurs effets toxicologiques aigus et chroniques sur les plantes et les animaux : le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le plomb (Pb), et le cadmium (Cd) [Cheng et Wong 2002 ; Li, M. *et al.*, 2009;. Li, NY *et al.*, 2009].

Le Plomb (Pb) est l'un des métaux lourds les plus toxiques provoquant la contamination de l'environnement. Il est généralement plus abondant dans les

horizons de surface que dans des horizons plus profonds. Cela peut être une cause naturelle, mais elle est considérablement augmentée par les contaminations anthropiques atteignant le sol par la surface [Baize, 1997].

Des taux excessifs de plomb sont toxiques ou nocif, même à faible concentration pour de nombreux organismes vivants [Uzu, 2009], dans le sol il inhibe la croissance normale de la plante, perturbe l'équilibre de l'écosystème et a un impact extrêmement négatif sur l'environnement écologique et la santé humaine [Mishra *et al.*, 2006; Zeng *et al.*, 2006].

Plusieurs études ont été mené en utilisant l'association (plante/vers de terre) pour la décontamination des sols ; les vers de terre augmentent la disponibilité des métaux lourds dans certaines situations et aider à maintenir la structure et la qualité du sol. L'introduction des vers de terre dans les sols contaminés par des métaux a été suggéré comme une aide pour les processus de phytoremédiation [A. Lemtiri, *et al.*, 2016. Jusselme *et al.*, 2012].

L'objectif principal de cette étude est (1) d'étudier la capacité des vers de terre à accumuler le plomb et (2) l'impact de ces derniers sur la phytoextraction des métaux lourds par la plante (l'orge) et (3) sur le sol.

Pour atteindre ces objectifs, une expérimentation sous conditions contrôlées a été menée avec la plante hyperaccumulatrice (*Hordeum vulgare* L.) et les vers de terre (*Lumbricus* sp) dans un sol contaminé par l'ajout d'une solution de Pb à différentes concentrations.

Les résultats obtenus sont présentés dans cette thèse articulés autour de 3 parties :

- Une synthèse bibliographique qui retrace les connaissances actuelles sur les métaux lourds dans le sol, sur les techniques de dépollutions, et sur les macro-invertébrées (vers de terre).
- Une partie matériel et méthode où sont décrits le matériel biologique utilisé, le protocole expérimental et les techniques d'analyse.

- La troisième partie présente les résultats obtenus et la discussion dans les 6 chapitres :

Chapitre 1: Rétention du plomb par le sol

Chapitre 2 : Effet de l'activité des vers de terre sur le sol

*Chapitre 3 : Phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées*

Chapitre 4: Bioaccumulation du plomb par les vers de terre

*Chapitre 5 :L'association *Hordeum vulgare* –*Lumbricus sp* et l'accumulation du plomb*

Chapitre 6 : Effet du plomb sur la biomasse des vers de terre

Chapitre 7 : Effet de l'interaction plante / vers de terre sur la bioremédiation du plomb

- Une étude des relations entre les caractéristiques du sol et la bioaccumulation du plomb par les deux organismes par l'analyse canonique des correspondances fait l'objet d'une conclusion de la discussion.

Nous concluons ce travail par une conclusion générale.

Partie A : Synthèse Bibliographique

I. Les Métaux Lourds

I.1. Définition des Métaux Lourds

L'expression « métal lourd » désigne des métaux de numéros atomiques élevés, de densité supérieure ou égale à 5 g.cm⁻³ et qui forment des sulfures insolubles. Ces éléments sont aussi de façon plus scientifique souvent appelés éléments traces métalliques (ETM). Le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le cobalt (Co), le chrome (Cr), le mercure (Hg), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sont des ETM très souvent rencontrés dans l'environnement, et plus particulièrement en milieu urbain [Almasoud et *al.* 2014; McBride et *al.* 2014]. D'autres éléments comme l'arsenic (As) ont des propriétés proches des métaux et sont nommés métalloïdes.

I.2. Les métaux lourds dans l'environnement et le sol

La lithosphère se compose à 99% de 10 éléments (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, Ti et P). Le terme "éléments traces" (ET) désigne tous les autres éléments, métaux et non métaux (As), présents à l'état de traces (<0,1%) dans la croûte terrestre. Les métaux sont naturellement présents en proportions diverses dans tous les compartiments de la biosphère, incluant les êtres vivants. Certains de ces éléments, comme le zinc, le cuivre et l'arsenic, sont même indispensables aux végétaux et animaux à faible dose.

Durant des siècles, les teneurs en métaux dans le milieu naturel ont peu varié, mais avec l'avènement de l'ère industrielle, les activités humaines sont devenues une nouvelle source d'émission de métaux, les concentrant dans l'air [Nriagu, 1989], l'eau [Stumm et Morgan, 1996] et les sols [Alloway, 1995 a ; Baize, 1997], et représentent un risque de contamination de la faune et la flore. Les sols constituent naturellement les réceptacles de tous les polluants métalliques (et organiques). Les métaux y sont plus ou moins fortement fixés sur les constituants secondaires des sols (argiles, oxydes et hydroxydes (Fe, Mn, Al), matière organique).

La toxicité des métaux dépend évidemment de leur teneur dans le milieu, mais surtout de leur spéciation ou leur forme chimique, qui est elle-même conditionnée par les caractéristiques physico-chimiques et minéralogiques du milieu. En effet, c'est la spéciation qui gouverne la mobilité et la biodisponibilité d'un élément, c'est-à-dire son

aptitude à passer d'un compartiment quelconque du sol à un être vivant (bactérie, végétal, animal, homme) [Baize, 1997].

Les éléments en traces métalliques (ETM) peuvent être des métaux (Pb, Zn, Cu etc...), des métalloïdes (As, B, Se) ou des non métaux (N, F, Cl, Br), ils sont naturellement présents dans les sols en faibles quantités inférieure à 0.1% [Baize, 1997]. Le terme métaux lourds regroupe les 65 éléments traces pouvant avoir un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes végétaux et animaux.

Dans les études environnementales, le terme est souvent associé au qualificatif de toxique en omettant de signaler qu'en faibles concentrations certains ETM sont des nutriments indispensables pour les êtres vivants. Les ETM sont en partie libérés lors de l'altération de la roche mère et constituent le pool endogène appelé fond pédogéochimique : concentration naturelle d'une substance dans un horizon de sol, résultant de l'évolution géologique et pédologique, à l'exclusion de tout apport d'origine anthropique [Baize, 1997]. Un second pool, plus ou moins important selon la situation géographique, issu d'apports exogènes provient essentiellement de l'activité humaine

- de façon diffuse, émis par l'activité industrielle, les moyens de transport et amené par voie atmosphérique, ou
- localement soit de façon ponctuelle par l'apport de déchets contaminés (pollution souvent aiguë), soit de façon répétée et cumulative par l'activité agricole [Godin et al., 1985].

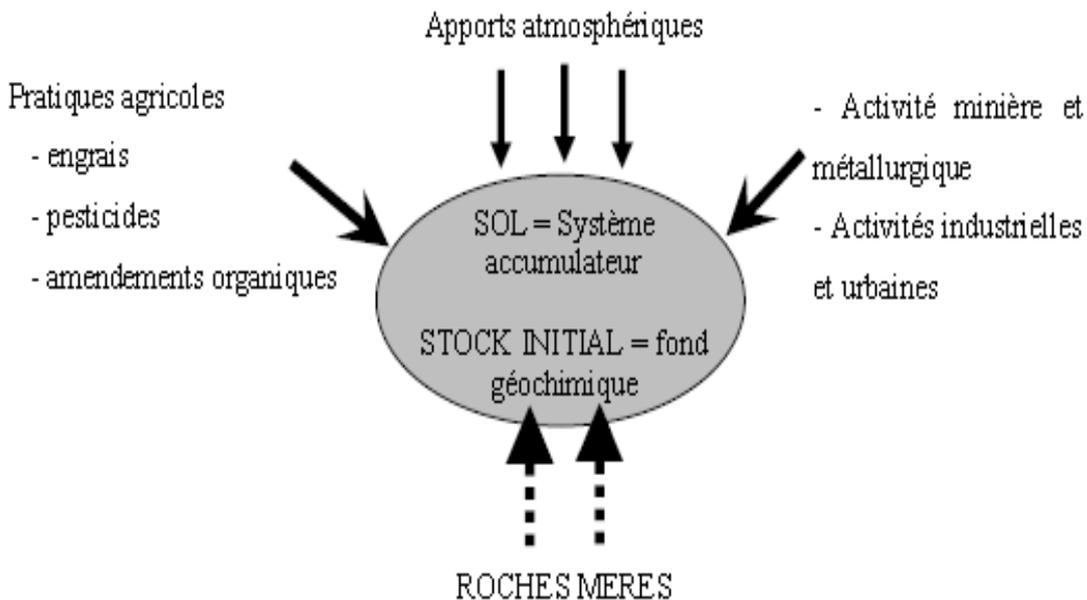


Figure 1: Sources des éléments traces métalliques dans les sols. [D'après Robert et Juste, 1999].

I.3. Origine de la pollution par les métaux lourds

Les sols contiennent naturellement des métaux, héritage de l'érosion de la roche mère et des retombées atmosphériques naturelles provenant du volcanisme. Le terme "fond géochimique" est souvent employé pour désigner la concentration en métaux d'origine naturelle que l'on mesure dans les sols et les sédiments. Le fond géochimique dépend principalement de la composition de la roche mère [Baize, 2000].

L'industrie métallurgique des métaux a été largement développée dans le monde [Thiry et Van Oort, 1999]. Les métaux exploités sont principalement présents dans le minerai sous forme de sulfures, tels que la sphalérite (ZnS) et la galène (PbS), qui contiennent en impureté de nombreux autres métaux (Cd, Cu, et Ag entre autres) et non métaux (principalement As).

Cette exploitation a généré de grandes quantités de scories et de débris de creusets, souvent encore très riches en métaux, qui étaient stockés à l'air libre et sans précautions, conduisant à une contamination directe du site. Ces déchets sont issus des procédés d'extraction mis en œuvre, qui ont des rendements souvent

faibles. Plus de 30 minéraux métallifères ont été identifiés dans des remblais issus de l'activité métallurgique, parmi lesquels des sulfures (Zn, Pb, Cd, Fe, Cu), de la franklinite ($ZnFe_2O_4$), de la magnétite-Zn ($[Zn,Fe]Fe_2O_4$) (Juillot, 1998), de la gahnite ($ZnAl_2O_4$), de la zincite (ZnO) et de la willémitte (Zn_2SiO_4) [Thiry et Van Oort, 1999]. Les cheminées des fonderies ont également dégagé des poussières riches en métaux dans l'atmosphère. Leurs émissions, ainsi que la dispersion éolienne des scories, font des retombées atmosphériques la principale source de contamination des sols et des sédiments environnant les fonderies [Buatier et al., 2001].

Les eaux naturelles ayant ruisselées sur les déchets miniers sont généralement très acides et riches en métaux, ce qui peut contribuer à la contamination des sédiments [Fajtl et al., 2002]. En plus d'une contamination du milieu en métaux, certains procédés d'extraction des métaux qui oxydent les sulfures dégagent de grandes quantités de dioxyde de soufre (SO_2) dans l'atmosphère. Ce gaz peut se répandre sur de vastes étendus et acidifier les sols [Alloway, 1995b], ce qui peut accroître la mobilité des métaux en cas de contamination de ces milieux.

De nombreux fertilisants organiques et minéraux employés en agriculture contiennent des métaux pouvant engendrer divers types de pollutions :

- Les fumiers, et particulièrement les déjections de porcs et de volailles, contiennent principalement du zinc et cuivre. En 1980, au Royaume-Uni, la teneur moyenne de ces fumures était respectivement de 600 mg.kg⁻¹ et 870 mg.kg⁻¹, pour le zinc et le cuivre [Alloway, 1995b].
- Les boues urbaines qui proviennent du traitement des eaux usées contiennent du zinc, du plomb, du cuivre, du chrome, et du cadmium. Malgré une nette amélioration de la qualité de ces boues depuis une dizaine d'années, leurs teneurs en métaux sont estimées trop élevées pour leur valorisation agricole [Baize, 1997].
- Les engrais à base de chaux peuvent s'avérer riches en plomb, et dans une moindre mesure en zinc, cuivre et cadmium. Les engrais phosphatés contiennent également ces métaux, avec, dans le cas des engrais naturels phosphatés, des teneurs en cadmium qui peuvent s'avérer importantes (jusqu'à 170 ppm), selon leur provenance géographique.

- Les pesticides sont également riches en métaux (Cu, As, Hg, Pb, Zn), comme l'arsenate de plomb ($PbHAsO_4$), qui a longtemps été employé. Les sels de cuivre employés comme traitement fongicide sont à l'origine de la contamination en cuivre dans de nombreux sols de vignobles [Chaignon, 2001].

Parmi les autres sources anthropiques on peut également citer les activités industrielles (électronique, peinture, traitement de surfaces...), domestiques et urbaines (combustion des énergies fossiles, décharges, rejet des eaux usées), et militaires.

I.4. Contamination et pollution des sols par les métaux lourds

La contamination se produit lors de l'augmentation de la concentration d'un élément dans l'environnement, au-delà des valeurs habituellement rencontrées, sans préjuger de la modification de qualité qui peut en résulter [Alloway, 1997] et de pollution en cas d'accumulation en quantité telle que sa présence peut présenter un danger pour les êtres vivants ou compromettre l'usage qui est fait habituellement de l'environnement [Juste et *al.*, 1988]. En termes de réglementations des teneurs maximales autorisées en métaux potentiellement toxiques dans les sols, les normes internationales ne tiennent compte que des valeurs totales en métaux, qui ne sont le plus souvent pas révélatrices des véritables propriétés de mobilité et de biodisponibilité des éléments traces dans les sols [Baize, 2002].

Le sol constitue une interface entre la roche, l'atmosphère et l'hydrosphère. Il s'est formé à partir des roches et comprend des constituants secondaires minéraux ou organiques dotés de propriétés spécifiques. Les éléments traces métalliques présents dans les roches, se concentrent au cours de la pédogenèse dans certains horizons et constituent des stocks, appelés fonds pédogéochimiques, qui préexistent dans le profil avant toute intervention humaine. D'après [Baize, 1997], le fond pédogéochimique naturel local résulte de phénomènes naturels géologiques et pédologiques. Les teneurs en métaux lourds des fonds pédogéochimiques peuvent être extrêmement variables d'un sol à l'autre (Tableau 1).

Tableau 1: Fond géochimique naturel des métaux lourds couramment observés dans les sols en France [Baize, 1997].

<i>Éléments</i>	<i>Cd</i>	<i>Co</i>	<i>Cr</i>	<i>Cu</i>	<i>Ni</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>	<i>Mn</i>	<i>Fe</i>
<i>Concentrations moyennes dans les sols français (mg kg⁻¹ MS)</i>	0.4	17.1	75.0	14.9	41.3	64.8	149	1585	3.6

Il est indispensable de différencier la part des éléments traces métalliques qui est naturelle (géogène), constituant le fond pédogéochimique local, de celle qui résulte de contaminations d'origine humaine (anthropogène). Les métaux provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques très supérieurs aux métaux d'origine naturelle qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes.

D'après Juste cité dans [Baize, 1997], « contamination » doit être employée pour les sols lorsqu'il y a des apports anthropiques importants mais sans effet apparent pour l'environnement. Par contre, il préconise le terme « pollution » lorsque des apports liés à des activités humaines ont des effets négatifs visibles sur l'environnement.

A la notion de contamination on peut associer deux idées :

- un accroissement des teneurs suite aux activités humaines, locales ou générales
- et un accroissement du risque de nuire aux fonctions des sols naturels.

Pour [Ramade, 1993], le contaminant est un polluant présent à des quantités décelables dans l'environnement. Pour [Rivière, 1998], le polluant est défini comme un élément dangereux susceptible de présenter un risque pour les milieux et les organismes vivants.

Les termes « polluant » et « contaminant » sont la plupart du temps synonymes, et dans la suite de ce mémoire, on emploiera indifféremment l'un ou l'autre.

Enfin, il faut apprendre à gérer les sols sur le moyen et le long terme, qui comme l'eau, font partie du patrimoine national. Des normes fixant les teneurs limites en métaux lourds dans les sols ont été définies dans divers pays: Allemagne, Pays Bas, Suisse, Canada (Tableau 2).

Tableau 2: Normes internationales pour la contamination des sols en éléments traces métalliques en ppm. [cité in Zerrouki, 2014]

ETM	Valeurs seuils en ppm				
	Directive 86/278/EEC	Arrêté de 8 Janvier 1998	Projet de révision de la directive européenne (2000)		
			5<pH<6	6<pH<7	7<pH
Pb	50 à 300	100	70	70	100
Zn	150 à 300	300	60	150	200
Cu	10 à 20	50	0,3	0,8	11

I.5. Cycle des métaux dans les sols

Les métaux géogènes sont initialement présents dans les minéraux constitutifs de la roche mère. Ils se retrouvent dans le sol après altération météorique de la roche mère. Cette altération libère des minéraux primaires qui, en s'altérant, vont former des minéraux secondaires et alimenter en partie la solution de sol. Les minéraux secondaires, minéraux de transformation ou de néogénèse, et la matière organique qui se forme dans les sols par minéralisation et transformation après mort et décomposition d'organismes vivants, peuvent sorber les métaux présents en solution. Ces surfaces constituent donc des sources mais également des puits de métaux. Cet équilibre dynamique constitue le cycle géogène des métaux. Si on considère le sol comme un compartiment unique, les sorties se feront d'une part vers les plantes qui vont stocker temporairement des métaux et d'autre part vers les aquifères souterrains via les eaux de drainage, ce qui constitue une perte nette de métaux pour le système [Barbante et al., 2004]. A ce cycle vient s'ajouter une entrée atmosphérique via les pluies et les retombées éoliennes sèches. Il a en effet été démontré que toute surface terrestre recevait une contamination diffuse, y compris les milieux naturels a priori les mieux préservés (Antarctique, glaciers, forêts, etc.) [Gabielli et al., 2005]. En effet, une partie de ces retombées a une origine naturelle : cendres volcaniques, émissions biogéniques, feux de forêts [Nriagu and Becker, 2004]. On estime que 68% du plomb et 40% du cadmium qui s'accumulent dans les sols proviendraient des retombées atmosphériques diffuses alors que seulement 1% du plomb et 2% du cadmium proviendraient de l'utilisation d'engrais [Miquel, 2001].

I.6. Distribution des métaux lourds dans le sol

La distribution spatiale des ETM dans les sols n'est pas uniforme [Meuli et *al.*, 1998], elle peut varier à l'échelle microscopique ou macroscopique, même lorsque les sources diffuses et les dépôts sont homogènes, les hétérogénéités des processus du sol sont telles qu'ils induisent des variations dans les concentrations [Atteia et *al.*, 1994].

La toxicité des métaux ne dépend pas uniquement de la concentration totale mais aussi de leur réactivité et mobilité avec les autres composants de l'écosystème. De nombreux auteurs classent cette réactivité selon l'ordre Ni>Zn>Cu>Pb [Kabala et Szerszen, 2002].

De manière générale, la mobilité des métaux augmente avec l'acidité du milieu [Kabala and Szerszen, 2002]. Cependant certains composants des sols peuvent jouer un rôle tampon vis à vis de cette mobilité. Ainsi les silicates, carbonates, phosphates, oxydes, argiles et matières organiques peuvent contribuer à la rétention des métaux. En effet le pH influence la CEC et la nature et la décomposition des matières organiques via la faune et la flore du sol. Les constituants du sol ainsi modifiés vont voir augmenter ou diminuer la capacité de complexation des éléments et ainsi la mobilité et biodisponibilité des ETM [Sauvé et McBride, 1998]. Cependant les métaux sont plus ou moins sensibles aux différents paramètres [McBride et *al.*, 1997].

La distribution verticale des métaux dépendante de l'environnement physico-chimique de l'élément et de son mode de transport. On retrouve cependant certaines distributions caractéristiques pour les sols soumis aux phénomènes de pollution atmosphérique, avec de fortes accumulations en surface et une décroissance rapide de la pollution avec la profondeur [Sterckeman et *al.*, 2000; Sterckeman et *al.*, 2002; van Oort et *al.*, 2002].

Les processus chimiques les plus importants affectant le devenir et la mobilité des éléments traces métalliques dans les sols, sont les transferts de la phase solide vers la phase liquide et inversement.

Plusieurs mécanismes physico-chimiques interviennent au cours de ces transferts : l'échange ionique (ou adsorption non spécifique), l'adsorption spécifique (complexation de surface) sur les phases minérales, la complexation avec la matière organique et la précipitation et co-précipitation (Figure 2). La solubilité des métaux lourds dépend de leur réactivité à l'interface solide-liquide.

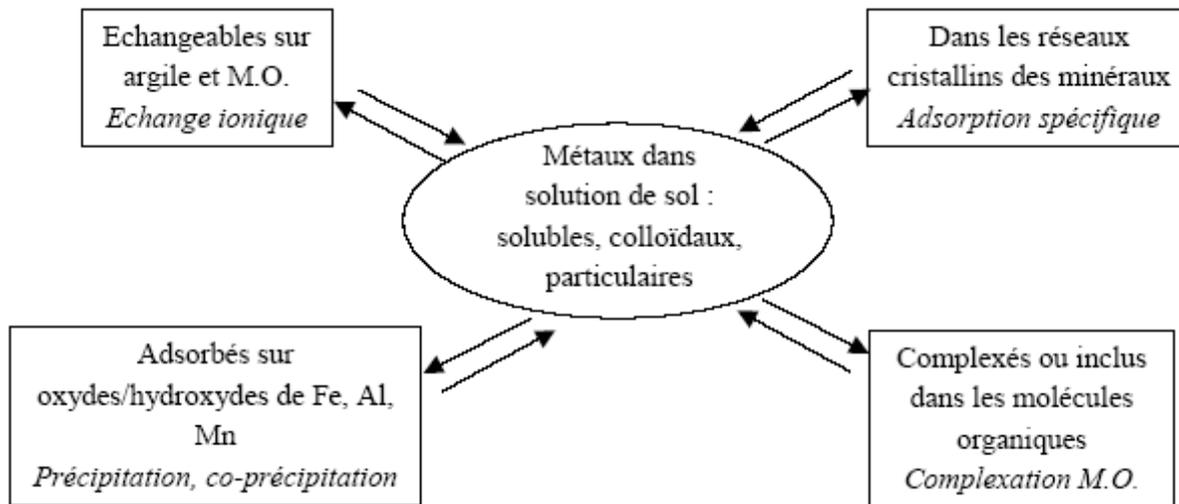


Figure 2: Différentes formes et mécanismes de fixation des éléments traces métalliques dans les sols [Mason et al., 1999].

Les principaux constituants des sols susceptibles de fixer les éléments traces métalliques sont les argiles, les carbonates, la silice, les (hydr)oxydes de métaux principalement ceux de fer ou de manganèse et la matière organique. Les processus physico-chimiques de rétention peuvent intervenir simultanément avec une plus ou moins grande importance sur l'interaction totale entre les contaminants et les constituants du sol. Selon les conditions physico-chimiques du milieu un processus peut être prédominant, par rapport aux autres, mais il n'est jamais seul et il est souvent difficile pour les milieux complexes tels que les sols de déterminer quels mécanismes sont à l'origine de la fixation sur le sol [Singh et Steinness, 1994].

I.7. Rétention des métaux lourds dans le sol

Les métaux lourds ont une affinité plus ou moins grande vis-à-vis des matières en suspension (MES). De manière générale, ils sont plus facilement retenus par les particules de petite taille [Colandini, 1997]. La granulométrie des particules en

suspension, mais aussi celle du sol à donc une réelle importance. De plus, elles participent au colmatage du sol et donc à la diminution de la porosité, qui a une influence directe notamment sur la cinétique d'infiltration et sur la filtration mécanique. Leur transport à travers le sol se fera donc par lessivage ou lixiviation selon qu'ils se trouvent sous forme particulaire ou dissoute. Les proportions de métal adsorbé aux matières en suspension varient fortement d'une observation à l'autre. Ainsi, la quantité de cadmium associée aux particules en suspension varie entre 10 et 100%, cette variation est de 30 à 100% pour le zinc. Seul, le plomb présente un comportement relativement homogène d'une étude à l'autre et son taux de fixation aux particules en suspension semble être compris entre 80 et 100%. D'après Chebbo [1992], la fraction dissoute des métaux tels que Zn, Pb, Cd, Cu, dans les eaux de ruissellement pluvial, ne représenterait pas plus de 5% de la quantité totale.

La présence de particules en suspension ne suffit pas à prévoir la fraction dissoute des métaux lourds. En fait et étant donné le caractère arbitraire de la différenciation entre la fraction dissoute et particulaire (en deçà de 0,45 μm les composés sont considérés comme dissous), la répartition granulométrique des particules sur lesquelles peuvent être fixés les métaux et la comparaison à la porosité du sol récepteur nous informera sur la capacité de filtration mécanique du sol plus que ne le ferait la répartition entre les fractions dissoute et particulaire. Ce qui ne sera pas retenu mécaniquement pourra éventuellement circuler sous forme particulaire, colloïdale ou dissoute, ou être retenu par des processus physico-chimiques.

Cependant, la rétention des métaux qu'elle soit mécanique (par filtration des particules) ou physico-chimique ne peut pas être considérée comme définitive. En effet, même s'ils sont liés aux particules de la matrice solide, les métaux peuvent être remobilisés et à nouveau transportés lors de variation des conditions physico-chimiques du milieu environnementales. La rétention des métaux lourds par les particules doit être corrélée aux conditions physico-chimiques du milieu (pH), qui déterminent la forme chimique des éléments mais aussi à la composition (minérale ou organique) et à la granulométrie des particules mises en jeu.

Les métaux lourds peuvent être liés aux particules par différents mécanismes. La plupart des schémas d'extraction distinguent cinq fractions :

- La fraction échangeable regroupe les métaux adsorbés physiquement (adsorption non spécifique) facilement re-mobilisable par échange d'ions.
- La fraction acido-soluble liée aux carbonates.
- La fraction réductible liée à des oxydes métalliques (Fe, Mn, Al).
- La fraction oxydable (ou organique) regroupe les métaux liés à la matière organique. Lorsque cette matière organique (en milieu oxydant) est dégradée, les métaux sont alors relargués.
- La fraction résiduelle qui représente les métaux faisant partie intégrante de la matrice solide, ils sont difficilement remobilisables.

D'après Colandini [1997], la proportion de métaux lourds remobilisables lors d'une variation des conditions physico-chimiques se situe entre 80 et 90%. Le risque de relargage du cadmium est plus élevé que celui du zinc. Le plomb et le cuivre présentent un risque de relargage équivalent, un peu plus faible que celui des deux autres métaux. Finalement, la contamination des eaux souterraines par les métaux lourds n'incombe pas uniquement à la fraction dissoute des métaux contenus dans les eaux de ruissellement pluvial mais aussi, et principalement, au relargage éventuel lors d'un changement des conditions environnementales du milieu. Plutôt que de s'intéresser à la rétention des éléments traces dans le sol, il serait plus judicieux, d'un point de vue écologique de s'intéresser à leur relargage éventuel. La plupart des autres s'accordent à dire que des facteurs tels que le pH, la CEC, la teneur et la qualité de l'humus et la teneur en argile sont des paramètres qui affectent la mobilité des métaux lourds. C'est en cela que leurs variations peuvent représenter un sérieux problème de contamination notamment de la flore [Bielek, 1998].

I.8. Les métaux lourds : oligoéléments ou éléments toxiques

Si certains éléments métalliques ou oligo-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni), présents à l'état de traces, sont essentiels pour l'organisme, l'accroissement de leur concentration peut représenter un danger pour les êtres vivants. Les autres éléments sont neutres ou toxiques [Marschner, 1995]. A cette catégorie appartiennent différents éléments, dont la présence est fortement aggravée par les activités

humaines dans l'environnement, tels le plomb, le mercure, le cadmium... [Adriano, 2001 ; Alkorta et al., 2004]. A l'exception du mercure (27,5 %), pour les autres éléments, l'émission anthropogénique dépasse l'émission naturelle. Le facteur d'interférence atmosphérique (FIA) qui définit le rapport de ces deux émissions est par exemple de 34 583 % pour le Pb et de 1 897 % pour Cd.

I.9. Pollution par le Plomb (Pb)

Le plomb est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36^e élément de la croûte terrestre), généralement sous forme peu soluble. Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en micro-traces chez les organismes vivants. Les sols non contaminés contiendraient de 10 à 30 mg.kg⁻¹ [Nriagu, 1978 ; Baize, 2002].

Son origine dans les sols étant liée à sa présence dans la roche mère. Ceci peut cependant conduire parfois à des teneurs sensiblement plus élevées dans certains gisements. Mais, ce sont surtout les dépôts continus de métaux et métalloïdes par les activités humaines qui ont conduit à leur accumulation dans les différents compartiments de l'environnement. Ceci surtout au voisinage des centres urbains et industriels, mais également dans des zones plus reculées [Cecchi, 2008]

Dans le sol, le Pb peut se retrouver sous forme ionique, dissoute, ou liée plus ou moins fortement aux particules [Raskin et Ensley, 2000]. L'accumulation de Pb, provenant des retombées atmosphériques, ou de déchets contaminés déposés sur le sol, se fait principalement dans les horizons de surface [Steckeman et al., 2000 cité in Huynh T.M.D., 2009] et plus précisément dans les horizons riches en matière organique. Les teneurs en Pb diminuent, ensuite, plus en profondeur [Abreu et al., 1998 cité in Huynh T.M.D., 2009]. Ceci s'explique par le fait que le Pb est peu mobile. Étant principalement associé aux argiles, aux oxydes, aux hydroxydes de fer et à la matière organique, il n'est mobile que lorsqu'il forme des complexes organiques solubles et/ou que le sol a dépassé sa capacité d'absorption pour le Pb [Morlot, 1996 ; Raskin et Ensley, 2000]. Les principales sources de contamination en Pb sont les rejets anthropiques.

Ils proviennent principalement des industriels qui extraient et purifient le Pb naturel et qui recyclent les composants contenant du Pb comme les batteries et du trafic routier.

I.9. 1. Propriétés fondamentales du plomb

Le plomb existe sous trois formes essentielles : le plomb dissous, le plomb colloïdal et le plomb particulaire:

- Sous forme dissoute, les espèces dominantes dans l'eau sont PbCO_3 , PbCl_2 ou PbCl^+ . Cette répartition ne prend pas en compte la matière organique dissoute et le fait que le plomb, dans l'eau, se trouverait essentiellement sous forme de complexes organiques labiles. De même que pour le mercure, le plomb peut être méthyle par les bactéries dans les sédiments, mais ce phénomène revêt une moindre importance.
- Aussi, le plomb présente une forte affinité pour la matière particulaire. A peine 10 % du plomb se trouve sous cette forme dans l'eau. L'adsorption du plomb sur la matière particulaire est fonction du pH et augmente avec ce dernier [Chiffolleau et al, 2001].

I.9.2. Toxicité du plomb

Les doses létales du plomb, sous la forme de sel minéral, sont souvent supérieures à sa limite de solubilité dans l'eau de mer, c'est à dire 4 mg.L^{-1} . Le plomb inorganique peut donc être considéré comme toxique (Concentration létale de 1 à 10 mg.L^{-1}) ou modérément toxique (concentration létale de 10 à 100 mg.L^{-1}).

Des effets sur la croissance de certaines espèces phytoplanctoniques ont été marqués à partir de $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$. Les invertébrés marins aux stades embryonnaires sont plus sensibles que les adultes. L'effet toxique du plomb peut se traduire par une compétition avec des métaux essentiels.

Chez l'homme le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication humaine par le plomb. Ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. Cette maladie se caractérise par une anémie et une perturbation du métabolisme par compétition avec les ions Ca^{2+} .

Le plomb s'accumule dans note organisme, principalement dans les os, les dents, les cheveux, le foie, le cerveau et la moelle osseuse. Il bloque ainsi la synthèse de l'hémoglobine : suite au blocage de certaines réactions biochimiques.

Il augmente le fer sérique suite au blocage de l'hème-synthétase. Le malade peut présenter des troubles abdominaux (colique de plomb) et des paralysies musculaires (Hypotonie) [Marchand et Kantin, 1997].

Le plomb affecte la croissance et la morphogénèse des plantes, en perturbant de très nombreux mécanismes physiologiques. Il inhibe fortement la germination et la croissance des plantes, entraînant la formation de plantes de taille réduite. Le plomb affecte considérablement la morphologie des racines, en diminuant la taille des racines primaires ainsi qu'en réduisant le nombre de racines secondaires. L'inhibition de la division et de l'élongation cellulaire sont les phénomènes les plus souvent reportés pour expliquer ces effets du plomb sur les racines [Seregin et Ivanov, 2001 ; Malkowski et al, 2002 ; Patra et al., 2004 ; Kopittke et al., 2007].

Les concentrations en plomb toxiques pour les végétaux varient considérablement selon les études. Cette toxicité dépend fortement des interactions du plomb avec les espèces végétales considérées, mais également du mode de culture et des facteurs environnementaux. Les travaux de Rooney et al. [1999] ont montré que pour des concentrations extractibles à l'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétracétique) dans un sol atteignant 800 mg.kg⁻¹, la croissance du Raygrass n'était pas affectée. Päivöke [2002], quant à lui a montré que la toxicité du plomb vis-à-vis du pois dépendait fortement de l'âge de la plante en plus de la concentration en plomb dans le sol. Cependant, il reporte des effets néfastes sur la croissance des plantes pour des concentrations en plomb inférieures à 500 mg.kg⁻¹. Liu et al. [2003] ont démontré que la sensibilité ou la tolérance des plantes au plomb était cultivar-dépendante ; la toxicité du plomb dépend fortement du comportement des plantes vis-à-vis de ce métal.

II. Techniques de dépollution

Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sites contaminés qu'il faut réhabiliter. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées *in situ* et *ex situ* présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en oeuvre [Gadd, 2000 ; Raskin *et al.*, 1994 ; Salt *et al.*, 1995]. De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante.

II-1. Bioremédiation

II-1.1. Définition de la bioremédiation

La bioremédiation est une option qui offre la possibilité de détruire ou de rendre moins toxiques les polluants, en utilisant des activités biologiques naturelles. En tant que telle, elle utilise des techniques relativement peu coûteuses et à faible technologie, qui ont généralement une grande acceptation du public et peuvent souvent être effectuées sur le site. [M Vidali .2001].

L'emploi de procédés biologiques pour éliminer les polluants industriels qui contaminent le cycle biogéochimique des substances naturelles, est une option avantageuse pour diminuer la pression exercée sur l'environnement. La bioremédiation consiste à utiliser des systèmes biologiques pour réduire le niveau de pollution présents dans l'air, l'eau ou le sol. Ce sont des microorganismes ou des plantes qui sont normalement utilisés comme systèmes biologiques. Le plus souvent on choisit de mener les opérations de bioremédiation en laissant faire les biodégradations à des microorganismes. [Abdelly C, 2007]

II-1.2. Principe de la bioremédiation

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes. La plupart du temps, microscopiques (bactéries, micro algues champignons), à dégrader le polluant en composés inertes, tels que

l'eau ou le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivés en laboratoire puis réintroduits dans le sol (Bioaugmentation). La bioremédiation se déroule généralement en conditions d'aérobies, cependant l'application de systèmes de bioremédiation en conditions anaérobies permet la dégradation d'un certain nombre de molécules récalcitrantes [M Vidal .2001].

II-1.3. Facteurs de la bioremédiation

Le contrôle et l'optimisation des procédés de bioremédiation est très complexe et dépend de plusieurs facteurs dont les principaux sont : l'existence d'une population microbienne capable de dégrader les polluants, la disponibilité du polluant pour la population microbienne, les facteurs environnementaux (type de sol, température, pH, présence d'oxygène ou autres accepteurs d'électrons et les éléments nutritifs)..

II-1.4. Technologies de la bioremédiation

Les principales technologies utilisées dans la bioremédiation sont les suivantes :

- ***La bioaugmentation***

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Cette technologie est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures : Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d'une grande capacité de digestion de ces hydrocarbures. [M Vidal .2001].

- ***La biofiltration***

Consiste à l'utilisation d'un biofiltre pour traiter les émissions gazeuses : Le principe consiste à utiliser des microorganismes pour dégrader les polluants contenus dans l'air à traiter Cette technologie est par exemple utilisé pour traiter l'air polluer par le xylène ou par des composés azotés [M Vidal .2001].

- **La biostimulation**

Cette technologie consiste à stimuler l'activité des populations microbiennes indigènes (présentes dans le sol ou dans les eaux souterraines) par apport de nutriments et par ajustement des conditions du milieu (potentiel d'oxydo-réduction, humidité). [M Vidali .2001].

- **Le compostage**

Peut être défini comme un procédé biologique contrôlé qui assure la transformation et la valorisation des matières organiques (sous produits de la biomasse, déchets organiques d'origine biologique) en un produit stabilisé, hygiénique, semblable à un terreau riche en composés humiques le compost. C'est la fermentation des ordures ménagères organiques (résidus alimentaires) et des déchets verts (feuillages, résidus de jardinage) afin de produire un compost réutilisable en agriculture ou dans le jardin pour fertiliser la terre. L'aération et l'humidité sont deux éléments indispensables pour entretenir les conditions d'une bonne fermentation. Le compostage peut se faire chez soi ou collectivement par des procédés industriels. [M Vidali .2001].

- **La biolixiviation.**

C'est la lixiviation favorisée par la voie biologique (généralement bactérienne). Elle correspond à une méthodologie de solubilisation des métaux lourds grâce à des bactéries acidophiles fonctionnant en présence ou en l'absence d'oxygène. Deux facteurs sont importants pour la biolixiviation : la température qui doit être comprise entre 25 et 35 °C. La taille des particules qui doivent être très proches de celle des bactéries. [M Vidali .2001].

II-1.5. Les avantages de la bioremédiation

Elle est souvent applicable sur le site (bioremédiation *in situ*) ou à proximité immédiate (quand des installations *ex situ* sont nécessaires), ce qui réduit les coûts de transport et de manutention.

Elle perturbe généralement moins le biotope que les méthodes physico-chimiques (sauf pour les sols excavés).

Elle élimine le polluant en permanence et, appliquée *in situ*, rend le biotope apte à relancer un processus d'autoépuration en cas de nouvelle pollution du même genre.

Elle élimine les effets à long terme possibles avec les méthodes fondées sur le confinement.

On peut associer, dans une chaîne de traitement, plusieurs techniques biologiques (exemples : un composteur et un biofiltre; deux ou plusieurs réacteurs en cascade, etc...).

Les techniques biologiques peuvent également être couplées aux techniques de dépollution physico-chimiques. [M Vidali .2001].

II-1.6. Limites techniques

La bioremédiation se heurte à des difficultés techniques multiples liées :

La nature, la concentration et le volume des produits à traiter. Les microflores sont plus efficaces à des dilutions relativement faibles, situées entre un seuil minimum nécessaire pour induire l'activité enzymatique (ou un co-métabolisme) et un seuil maximum inhibiteur de l'activité microbienne.

La non existence ou aux difficultés d'adaptation des souches indigènes et/ou à l'obtention de souches efficaces *in situ*.

L'hétérogénéité de la dispersion du polluant dans le biotope, liée elle-même à la nature du sous-sol et à la porosité de celui-ci. Dans certains sols très hétérogènes sur le plan granulométrique, la circulation (naturelle ou forcée) des fluides (gaz et eaux) utilisés pour une dépollution *in situ* se fait uniquement par les zones de grande perméabilité, excluant de la dépollution une grande masse de sol.

Les modifications physico-chimiques qui surviennent dans ce biotope. Et modifications des teneurs en oxygène et variations de température saisonnières qui rendent la bioremédiation inefficace en hiver, dilution due aux pluies,...etc

Les effets négatifs possibles sur l'environnement. Par exemple, la transformation microbienne de polluants peut produire des composés plus toxiques que le composé d'origine ; l'utilisation des réacteurs à boue est destructrice de la structure du sol. [M Vidali .2001].

II-2. Phytoremédiation

II-2.1. Définitions de la phytoremédiation

Connue sous le nom de phytoremédiation « phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, remédiation, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et aussi inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) [Salt *et al.*, 1998].

Selon la définition énoncée par l'ADEME en 2006, la phytoremédiation est :

« Un procédé basé sur l'utilisation de la capacité de certains végétaux (herbacées, plantes, arbustes, arbres) à se développer en milieux contaminés. En effet, ces végétaux peuvent bloquer, extraire, accumuler, transformer ou détruire un polluant. Ce procédé peut s'appliquer au traitement des sols, des boues, des sédiments, des effluents liquides voire gazeux. Les polluants traités sont les métaux, les solvants, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les explosifs, les produits phytosanitaires, ... ».

II-2.2. Les différentes techniques de phytoremédiation

Les études réalisées à ce jour permettent d'envisager cinq types de stratégies de phytoremédiation (Figure 3) particulièrement prometteuses.

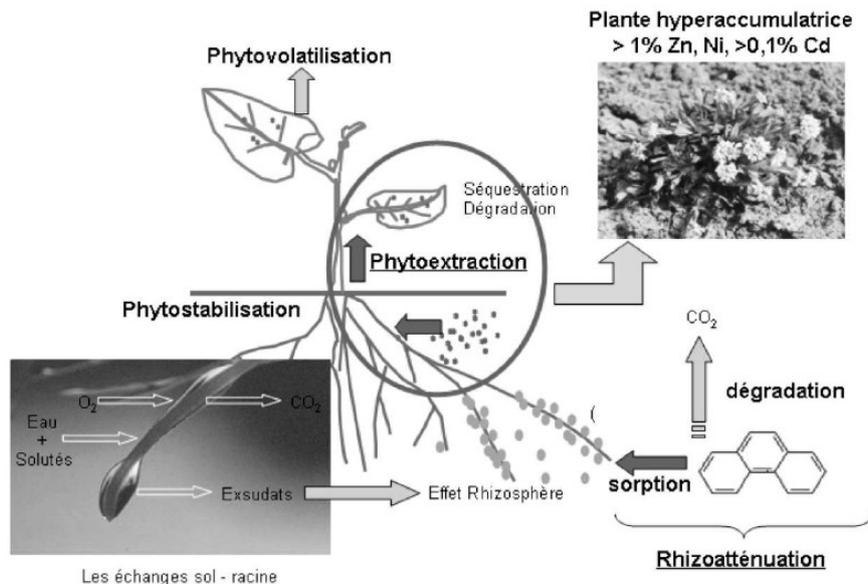


Figure 3: Les différents procédés de phytoremédiation et le rôle des plantes [Morel, 2010].

- **Phyostimulation ou rhizoatténuation**

Les plantes sécrètent des exsudats racinaires qui peuvent être utilisés par les communautés microbiennes et promouvoir leur développement et leurs activités. Cette stimulation microbienne dans la rhizosphère modifie la bioaccumulation, oxydation/réduction biologique et biométhylation des métaux lourds [McGrath, 1998].

- **Phytovolatilisation**

Utilisation des plantes qui absorbent des contaminants organiques et autres produits toxiques, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles [McGrath, 1998].

- **Rhizophiltration**

Cette méthode s'applique à la restauration des eaux de surface et souterraines polluées. Le principe est d'utiliser les capacités élevées du système racinaire de certaines espèces végétales pour extraire par absorption ou adsorption les polluants d'un milieu liquide.

- **Phytoextraction**

Elle est basée sur l'utilisation de végétaux hyperaccumulateurs, qui absorbent les ETM du sol de façon sélective et les accumulent dans les organes aériens faciles à récolter [McGrath, 1998]. Ces espèces végétales doivent posséder une biomasse aérienne importante, être compétitives et tolérantes à la contamination et à des conditions agronomiques défavorables [Pilon-Smits, 2005].

- **Phytostabilisation**

Elle permet de réduire de manière chimique ou biologique la fraction disponible des polluants dans le sol rhizosphérique, en les stockant dans le système racinaire ou en favorisant leurs insolubilisations dans la rhizosphère. L'implantation de plantes vivaces sur le sol permet de limiter la dispersion et le transfert des polluants vers d'autres milieux [Alvarenga *et al.*, 2008 ; Kumpiene *et al.*, 2009].

Le recours aux végétaux supérieurs dans les stratégies de dépollution est donc considéré aujourd'hui avec un intérêt croissant. Sur le continent Nord-Américain, les techniques de phytoremédiation sont particulièrement utilisées, Certains d'entre eux protègent une méthodologie spécifique et bénéficient d'une couverture internationale [Raskin *et al.*, 1994].

Tableau 3: Principaux polluants traités par phytoremédiation d'après Susarla et al. [2002].

Procédé de Phytoremediation	Polluants traités
Phytoaccumulation	ETM et quelques composés organiques : BTEX (benzène, éthylbenzène, toluène, xylène), pentachlorophénol.
Rhizofiltration	ETM et composés organiques.
Phytovolatilisation	Sélénium, mercure, quelques solvants chlorés (tri- et tétra-chloroéthane, tétrachlorométhane).
Phytostabilisation	ETM, potentialité pour des solvants chlorés (tri- et tétrachlorométhane).
Phytodégradation	Organiques : explosifs (HMX, nitrobenzène, nitrométhane, nitrotoluène, acide picrique, RDX, TNT), pesticides (atrazine, DDT, pesticides chlorés et/ou phosphorés), PCB, solvants chlorés (chloroforme, tétrachlorure de carbone di-, tri-, tétra, hexa-chloroéthane, chlorure de vinyle, di- et tri-chloroéthanol, acide mono-, di-, et tri-chloroacétique, tri-, et tétra-chlorométhane), bromure de méthyle, tétrabromoéthane
Rhizodégradation	Organiques : HAP, BTEX, pesticides (atrazine, alachlor), PCB, solvants chlorés (tri- et tétra-chloroéthane)

II-2.3. Avantages et inconvénients de la Phytoremediation

a. Avantages

La Phytoremediation est un processus naturel et est donc perçue par le public comme un acceptable processus de traitement des déchets de matériaux contaminés, comme les sols.

- La Phytoremediation est théoriquement utile pour la destruction complète d'une grande variété de contaminants. De nombreux composés qui sont légalement considérés comme dangereux peuvent être transformés en produits dangereux. Cela élimine le risque de futurs associés à la responsabilité de traitement et d'élimination des matières contaminées.
- Au lieu de transférer les contaminants d'un milieu à l'autre, par exemple, à partir de la terre à l'eau ou l'air, la destruction complète de l'objectif de polluants est possible.

- La Phytoremediation peut souvent être réalisée sur place, souvent sans provoquer de perturbation majeure des normales activités. Cela élimine aussi la nécessité de transporter les quantités de déchets hors site et le potentiel menaces pour la santé humaine et l'environnement qui peuvent survenir au cours du transport.
- La Phytoremediation peut s'avérer moins coûteux que d'autres technologies qui sont utilisées pour le nettoyage de déchets dangereux et des écosystèmes. cité in Zerrouki, . [2014]

b. Inconvénients

La phytoextraction comme d'autres techniques de dépollution comporte des désavantages. Cette idée a été initialement introduite par Baker *et al.*, [1989]. Malheureusement, la majorité des plantes hyperaccumulatrices présentent une faible production de biomasse et une vitesse de croissance lente demandant un investissement en temps assez important, et/ou en argent avec l'adjonction de chélateurs ou autres substances « starter ». La concentration et le type de métaux lourds influencent la phytotoxicité, et dans certains cas, la croissance des plantes peut être réduite [Shah *et al.*, 2007 ; Salt *et al.*, 1998 ; Singh *et al.*, 2003]. Pour palier ces inconvénients et développer avec succès une phytoextraction, la plupart des études ont pour objectif de découvrir des plantes hyperaccumulatrices ayant une forte production de biomasse. La transformation par génie génétique des plantes sensibles à forte production de biomasse en plantes hyperaccumulatrices pourrait également être envisagée. Pour cela, il est nécessaire de comprendre les mécanismes biochimiques et moléculaires intervenant dans la réponse de la plante survenant lors d'un stress aux métaux lourds.

III. Les macro-invertébrés terrestres « Vers de terre »

III-1. Les vers de terre : organismes ingénieurs du sol

Les vers de terre appartiennent à la macrofaune du sol et sont considérés comme des organismes « **ingénieurs de l'écosystème** ». Selon Jones *et al.* [1994] : « les ingénieurs des écosystèmes sont des organismes qui influencent directement ou indirectement la disponibilité des ressources pour les autres organismes, à travers des modifications physiques du milieu (biotiques et abiotiques), on cite les vers de terre, fourmi et termites qui sont considérés comme principaux ingénieurs de l'écosystème sol » [Jones *et al.*, 1994 ; Lavelle, 1996].

Les vers de terre, aussi appelés lombriciens (annélides, oligochètes) représentent une composante majeure de la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres [Huynh T.M.D., 2009]. Ils peuvent constituer jusqu'à 90% de la biomasse des invertébrés dans les sols.

Ils sont connus pour jouer un rôle clé dans la modification physico-chimique et biologique des sols. Ainsi, ils assurent de nombreuses fonctions dans les sols et sont à l'origine de nombreux services écosystémiques tels que l'incorporation de la matière organique dans les sols, le fonctionnement des cycles biogéochimiques, et le maintien de conditions physico-chimiques favorables pour les plantes et les autres organismes du sol, [Brown *et al.*, 1999, 2000; Lavelle *et al.*, 1988, 1998, 2006; Blouin *et al.*, 2013].

III-2. Catégories écologique des vers de terre

Selon des critères morphologiques et comportementaux les vers de terre se répartissent en trois grandes **catégories écologiques** : les épigés, les anéciques et les endogés (Bouché, 1977)

- **Les espèces épigées** [Bouché, 1977 ; Lee, 1985] sont de petite taille (10 à 30 mm) vivent en surface dans les premiers centimètres du sol et dans les amas organiques (fumier, compost, litière de feuilles, écorce). Leur régime est à base de matière organique morte (fragments de végétaux, de

champignons); ils sont saprophages. Ils participent activement au fractionnement de la MO. Ces espèces, localisées en surface, sont particulièrement sensibles à la prédation, aux variations climatiques et aux facteurs anthropiques tels que la disparition des horizons organiques par le labour et l'usage des traitements phytosanitaires.

- **Les espèces anéciques** [Bouché, 1977] sont des individus de taille moyenne à géante, dans le cas des espèces méditerranéennes, (10 à 110 cm) forment des galeries essentiellement verticales et permanentes dans le sol plus ou moins ramifiées et s'ouvrant en surface. Ils se nourrissent de matière organique en état de décomposition intermédiaire, à la surface du sol qu'ils enfouissent dans leur galerie. Ils sont géo-saprophages. Ils brassent et mélangent la matière organique et minérale. Ce sont généralement les vers les plus gros. Ces espèces, localisées sur toute la hauteur du profil de sol, sont sensibles aussi aux travaux mécaniques du sol et aux intrants.
- **Les espèces endogées** [Bouché, 1977] sont de taille variable (1 à 20 cm) représentent le groupe le plus important ; 20 à 50% de la biomasse des terres fertiles. Les endogés vivent en permanence dans le sol où ils creusent des galeries temporaires horizontales très ramifiées. Ils ne sont en général pas pigmentés. Ils se nourrissent de sol plus ou moins riche en matière organique : ce sont des géophages. Cette classification a été précisée en fonction de la richesse en MO du milieu où le ver évolue : les oligohumiques vivent dans des milieux pauvres en MO, les polyhumiques dans des milieux riches en MO, et les mésohumiques dans des milieux intermédiaires. De plus, les endogés passent le plus de temps dans le sol et seraient donc susceptibles d'être le plus impactés par la contamination des sols.

Cette classification des vers de terre a été mise en place en milieu tempéré, et pourrait ne pas toujours s'appliquer aux milieux tropicaux. Les espèces épigées et endogées peuvent être notamment différenciées par leur pigmentation, cependant ce critère n'est pas applicable pour les espèces anéciques.

Les vers de terre sont donc des acteurs importants dans les sols, où ils assurent de nombreuses fonctions. Il apparaît important de connaître et d'estimer leur diversité et leur comportement dans les sols, en particulier dans un contexte où les sols sont de plus en plus anthropisés et contaminés.

III-3. Diversité des vers de terre

Chez les vers de terre, environ 3700 espèces ont été décrites à ce jour, ce qui représente une proportion significative des 6000 espèces estimées pour la biodiversité totale de ce groupe [Decaëns *et al.*, 2013]. Cependant, les vers de terre appartiennent à un groupe dont la taxinomie est incomplète et difficile à compléter, et ce pour diverses raisons regroupées sous le terme « taxonomic impediment » [Decaëns *et al.*, 2006, 2008; Rougerie *et al.*, 2009]. Cela tient au fait, entre autres, que les espèces manquantes, non décrites et non identifiées se trouvent pour la plupart dans des zones tropicales comme le bassin amazonien. De plus, de récentes découvertes suggèrent que la taxinomie actuelle connue du groupe des vers de terre n'est pas si précise qu'on le pensait initialement. A ce jour, la taxinomie morphologique traditionnelle se voit utilement complétée par des outils moléculaires dans le but d'évaluer efficacement la diversité taxinomique des vers de terre dans les sols tempérés et tropicaux en particulier.

III-4. Taxinomie « traditionnelle » des vers de terre

La méthode traditionnelle d'identification des espèces de vers de terre est basée sur la morphologie. Cette méthode requiert des compétences en systématique. Or il y a peu de taxonomistes de vers de terre [Brown & Fragoso, 2007; Decaëns *et al.*, 2013]. De plus, cette méthode est difficilement applicable due au manque de caractères morphologiques stables et facilement identifiables, ainsi qu'à la variabilité des caractères induite par l'environnement [Richard *et al.*, 2010]. L'identification des espèces requiert l'observation de différents caractères externes tels que la position et la forme du prostomium et du clitellum (Figure 4), et l'observation de caractères internes de vers adultes tels que la position des coeurs ou d'autres organes sur les différents segments des vers [Bouché, 1972].

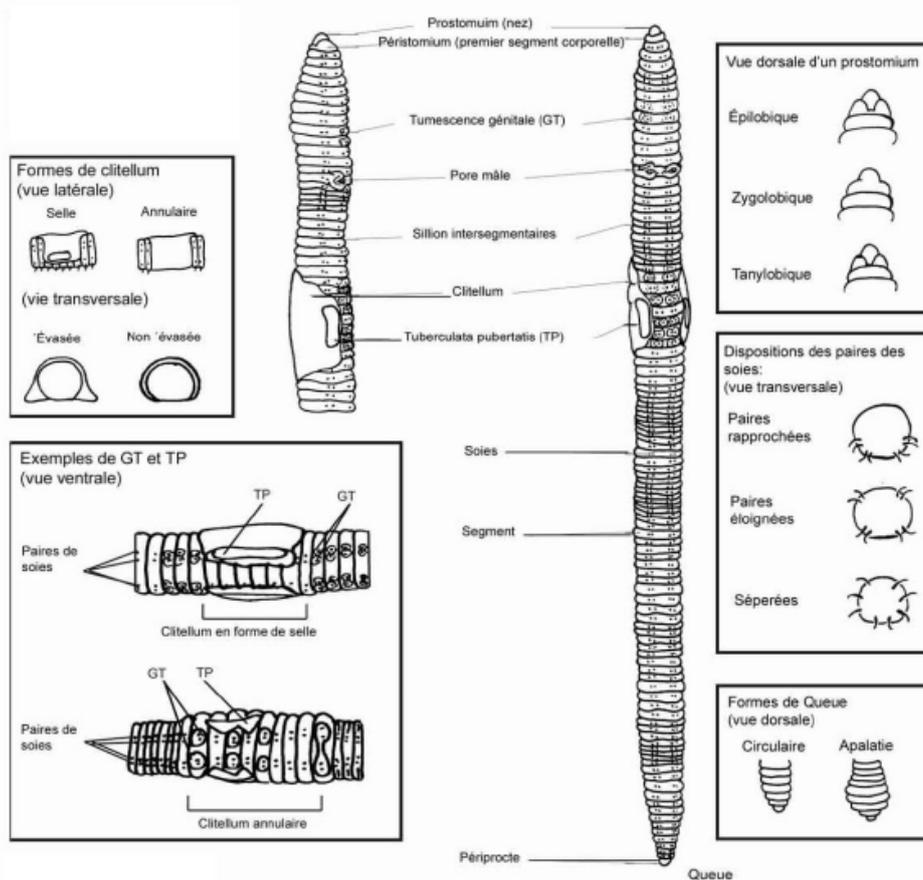


Figure 4: Schéma des caractères morphologique utilisés pour l'identification chez les vers de terre [Bouché, 1972].

Le problème d'identification se pose alors pour les cocons et les juvéniles d'espèces proches qui sont souvent exclus des études de terrain, ainsi que les fragments qui peuvent être collectés dû aux méthodes d'échantillonnage manuelles [Richard *et al.*, 2010]. L'utilisation exclusive de données morphologiques peut également sous-estimer le nombre d'espèces. En effet, certaines espèces différentes se ressemblent morphologiquement et ne peuvent être distinguées l'une de l'autre par ces caractères : on parle d'espèces cryptiques. Par exemple, l'étude de James *et al.*, [2010] a montré à l'aide des outils moléculaires que l'espèce *Lumbricus terrestris* est en réalité composée de deux espèces distinctes qui n'ont pas été distinguées dans la littérature : *L. terrestris* et *L. herculeus*.

Il apparaît évident que de nouvelles méthodes sont requises pour contrer ce déficit taxinomique et permettre une évaluation correcte de la diversité dans ce

groupe. C'est pourquoi depuis le début des années 2000, des outils moléculaires ont été développés [Decaëns *et al.*, 2013].

III-5. Impact favorable des vers de terre

L'impact des vers de terre sur le sol varie selon leur catégorie écologique. Les endogés et les anéciques sont les plus influents [Bouché, 1977]. Les activités mécaniques principales des vers comprennent (i) l'élaboration de réseaux de galeries dans lesquelles ils se déplacent et (ii) l'excrétion de déjections dans les galeries (fèces) ou en surface du sol (turricules) (Figure 5). La « drilosphère » est la zone d'influence des vers de terre sur le fonctionnement des sols.

Elle comprend toutes les structures physiques dépendantes des vers telles que le contenu du tube digestif, les turricules, et les galeries ainsi que les communautés d'invertébrés et de micro-organismes qui y sont présentes. La structure et l'importance relative de la drilosphère sont déterminées par le climat, les paramètres du sol et la qualité des apports organiques [Lavelle *et al.*, 1998].

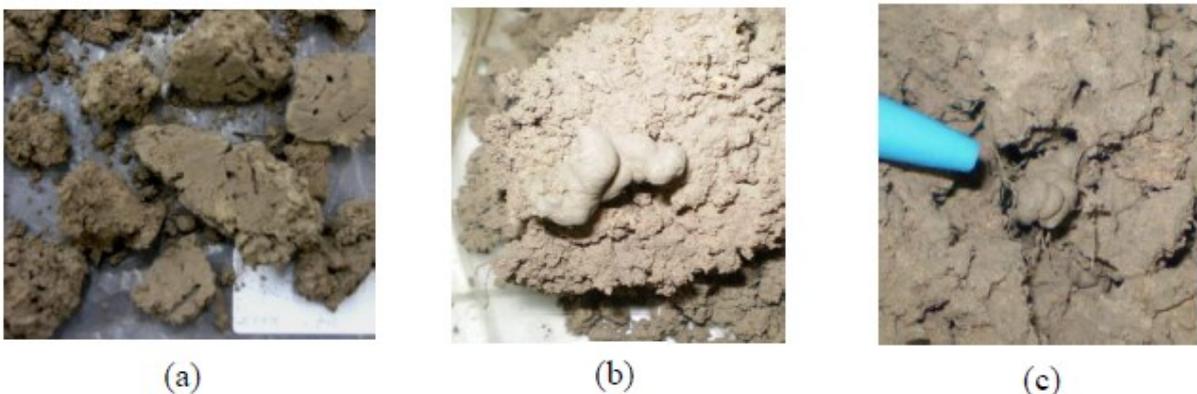


Figure 5: Structures construites par des vers de terre (a)galerie, (b) déjection dans les galeries (fèces) et (c) à la surface (turricules) [HUYNH T.M.D., 2009].

III-6. Interactions entre les vers de terre et les métaux lourds

Les vers de terre sont plus sensibles aux teneurs en métaux lourds que les autres invertébrés dans le sol [Bengtsson *et al.*, 1992] et leur capacité à accumuler des métaux lourds souvent plus élevée que pour d'autres espèces animales [Beyer *et al.*, 1982]. Cependant, les métaux lourds ont des effets variables en fonction des

espèces, du stade de développement, du mode de vie (lieu de vie et régime alimentaire) et de leur capacité d'adaptation face à la pollution. Ces effets varient également suivant la nature du métal, sa forme chimique et les propriétés du sol.

L'augmentation de la teneur en métaux lourds au delà d'un certain seuil réduit la densité des vers [Pizl et Josen, 1995] et influe négativement sur leur croissance pondérale, leur développement sexuel et la production de cocons [Spurgeon et Hopkin, 1996, 1999]. Spurgeon *et al.* [2000] ont observé une réduction significative du taux de survie de 4 espèces de vers de terre pour des concentrations en zinc comprises entre 2000 – 3600 ppm. De plus, ils ont noté des pertes significatives de poids à partir de 1200 – 2000 ppm de zinc. Par ailleurs, Depta *et al.* [1999] indiquent que l'un des mécanismes potentiels d'adaptation des vers à la pollution est l'évitement. Les vers, placés en sols pollués, seraient ainsi en mesure de différencier la matière organique selon son niveau de contamination.

La capacité d'accumulation de métaux lourds des vers (étudiée sur quelques espèces) a été reconnue dans la littérature dès la fin du 19ème siècle [Hopkin, 1989]. Chez les vers de terre, les métaux lourds s'accumulent notamment dans les tissus digestifs soit par voie orale après leur ingestion, soit par voie cutanée chez les vers de terre n'ayant pas de cuticule protectrice et vivant en contact permanent avec le sol. De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend ce processus de bioconcentration (i) l'espèce de ver et sa catégorie écologique, (ii) le type de métal et sa spéciation, (iii) les propriétés physiques et chimiques du sol, (iv) la saison et (v) quand il s'agit d'une pollution diffuse, la distance à la source de contamination. Ainsi, les métaux lourds complexes sont moins disponibles pour les vers de terre [Hartenstein et Hartenstein, 1981]. Enfin, l'étude de l'accumulation des métaux lourds dans les tissus des vers pourrait être un bon bioindicateur de disponibilité des métaux lourds dans le sol [Lanno et Mc carty, 1997 ; Conder et Lanno, 2000 ; Conder *et al.*, 2001 ; Oste *et al.*, 2001].

Par ailleurs, quelques études traitent également de l'impact des vers de terre eux-mêmes et de leurs activités sur la dynamique des métaux lourds dans le sol tels que la solubilité, l'extractibilité, la biodisponibilité [Wen *et al.*, 2004 ; Devliergher et Verstraete, 1997]. Ainsi, la présence du vers de terre *L. terrestris* augmente la

disponibilité du cuivre de 6% [Devliergheer et Verstraete, 1995]. Cependant, on considère que le rôle de ces organismes dans la biodisponibilité des métaux lourds pour les plantes est très modeste dans les sites contaminés [Abdul rida, 1996].

III-6.1. Impact des métaux lourds sur les vers de terre

L'impact des métaux lourds sur les vers de terre est variable en fonction des espèces, du stade de développement, du mode de vie (lieu de vie et régime alimentaire) et de leur capacité d'adaptation face à la pollution. Ces effets varient également suivant la nature de l'élément trace métallique étudié, sa forme chimique et les propriétés du sol. Les métaux lourds les plus étudiés sont le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le plomb (Pb) et le cadmium (Cd).

L'impact de différents éléments traces métalliques sur les vers de terre a été étudié au laboratoire, en conditions contrôlées. Les espèces épigées *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* ont été majoritairement étudiées car ce sont les espèces de vers modèles utilisées en écotoxicologie [Nahmani *et al.*, 2007a; OCDE, 2004]. L'impact des métaux lourds est généralement évalué sur la mortalité, la biomasse et la reproduction des vers de terre en utilisant des doses croissantes de polluants. Ces tests permettent d'en déduire des concentrations pour lesquelles 50% d'effet est observé (EC50) pour la biomasse et la reproduction en général et la concentration létale pour 50% de la population (LC50).

L'effet des métaux lourds sur les vers de terre a été finement étudié en laboratoire, au travers d'études en microcosmes, en conditions contrôlées. Les études écotoxicologiques donnent une bonne évaluation de la toxicité des métaux lourds et de leurs effets sur la croissance et la reproduction des vers. Cependant, ces résultats obtenus en conditions contrôlées posent des problèmes d'extrapolation car ils ne représentent pas les situations réelles rencontrées sur le terrain.

Les vers de terre représentent des organismes modèles pour évaluer l'effet des métaux lourds sur la macrofaune du sol via des études *in situ*. Les espèces de vers diffèrent de par leur préférence de niches écologiques, leur cycle de vie, et leur sensibilité aux polluants. De plus, ils sont présents dans de nombreux habitats et sont faciles à échantillonner sur le terrain [Spurgeon & Hopkin, 1999].

L'augmentation de la teneur en métaux lourds au-delà d'un certain seuil réduit la densité des vers [Pizl & Josens, 1995; Nahmani *et al.*, 2003; Klok *et al.*, 2007] et influe négativement sur leur croissance, leur développement sexuel et la production de cocons [Spurgeon & Hopkin, 1996; Spurgeon & Hopkin, 1999]. Spurgeon & Hopkin [1999] ont observé une réduction significative du taux de survie de quatre espèces pour des concentrations en zinc comprises entre 2000 et 3600 $\mu\text{g g}^{-1}$ sol. Des pertes significatives de poids ont de plus été observées à partir de 1200 $\mu\text{g Zn g}^{-1}$ sol. Un ratio important juvéniles/adultes a souvent été observé, suggérant un retard de maturation des vers de terre dans les sols contaminés [Klok *et al.*, 2007; Klok & Thissen, 2009]. Cependant, des espèces comme *Lumbricus rubellus* et *Dendrodrilus rubidus* semblent être peu sensibles au stress métallique [Klok *et al.*, 2007; Spurgeon & Hopkin, 1999].

Dans les études *In situ*, il existe de nombreux facteurs abiotiques et biotiques qui influencent l'abondance et la biomasse des espèces [Cortet *et al.*, 1999]. Les approches d'écologie du stress ont été développées dans le but de discriminer les effets des polluants des autres facteurs de stress (e.g. température, humidité, pH) [Van Straalen, 2003; van Straalen & van Gestel, 2008]. Cette approche est particulièrement utile dans le cas de pollutions diffuses. En effet, de nombreuses études se concentrent sur un gradient de pollution à partir d'une source locale, et les paramètres écologiques sont alors estimés en fonction de la distance à la source. Cependant, dans le cas de pollutions diffuses, de nombreuses sources contribuent à une distribution irrégulière du polluant, qui interagit avec des concentrations existantes dans l'environnement. Dans ces cas particuliers, les effets des polluants sont difficiles à isoler car ils sont dissimulés par les paramètres environnementaux [Van Straalen, 2003]. Dans cette approche, l'étude de Boivin *et al.* [2006] avait pour objectif de discriminer l'effet des métaux sur les communautés bactériennes des variations naturelles des sols. Les effets des métaux ont pu être filtrés de la variation totale grâce à des analyses multivariées.

III-6.2. Effets des vers de terre sur la biodisponibilité et mobilité des métaux lourds dans les sols

De par leurs activités dans le sol, les vers de terre peuvent modifier la mobilité des métaux lourds par différents mécanismes. Cependant, ces mécanismes restent encore peu démontrés, notamment leur importance relative. D'après différentes études, les vers peuvent agir soit directement en modifiant les paramètres physico-chimiques du sol (notamment le pH et le taux de carbone organique dissous (COD)), soit indirectement en modifiant les communautés de microorganismes présentes dans les sols [Sizmur & Hodson, 2009].

Les vers de terre affectent la distribution des métaux en redistribuant les métaux dans les sols [Zorn *et al.*, 2005], et en augmentant la disponibilité des métaux suite à la décomposition de la matière organique [Wen *et al.*, 2004]. D'autre part, des études ont montré que les vers de terre avaient la capacité d'augmenter le pH du sol via leurs urines alcalines, ce qui pourrait limiter la mobilité des éléments métalliques. Le pH a en effet été décrit comme un des facteurs affectant l'adsorption ou la désorption des métaux mais aussi leur biodisponibilité [Van Gestel, 2008]. Ils influencent également indirectement les flux de métaux par l'activation de microorganismes produisant des molécules acido-complexantes [Cheng & Wong, 2002; Wen *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2002]. Dans l'étude de Wen *et al.* [2004] en particulier, l'action du ver *Eisenia fetida* a augmenté la mobilité des métaux lourds dans les sols parallèlement à l'augmentation du taux de COD en (1) décomposant la MO en composants plus petits et solubles et (2) en augmentant l'activité microbienne accompagnée de la production de métabolites carbonés dans la solution des sols.

III-6.2.1. Rôle de l'espèce et des catégories écologiques des vers de terre

Bien que des études aient été réalisées avec des vers appartenant aux trois catégories écologiques (épigés, endogés, anéciques), l'intérêt d'utiliser des vers appartenant aux différentes catégories pour des études similaires est discuté. [Da Silva, 2013]

D'après les résultats obtenus, tous les vers semblent augmenter la disponibilité et la mobilité des métaux lourds dans les sols [Sizmur & Hodson, 2009].

De nombreuses différences de bioaccumulation ont été signalées entre des espèces de vers de terre écophysiologiquement distinctes [Morgan et al., 1986 ; Beyer et al., 1987 ; Morgan & Morgan, 1992, 1999 ; Morgan et al., 1993, 1999 ; Van Vliet et al., 2005 ; Kamitani & Kaneko, 2007].

Cependant, les vers endogés semblent être les meilleurs candidats pour déterminer l'effet des vers sur la mobilité et la biodisponibilité des métaux. En effet, les endogés sont en contact permanent avec les sols, ce qui n'est pas le cas des vers épigés et des anéciques. L'inconvénient majeur est la difficulté de faire un élevage des vers endogés en laboratoire [Lowe & Butt, 2007].

Encore peu d'études se sont intéressées à l'impact des vers sur la dynamique des métaux lourds dans les sols tropicaux contaminés. Cependant, deux études ont été publiées récemment utilisant l'espèce tropicale *Pontoscolex corethrurus* [Duarte et al., 2012; Jusselme et al., 2012]. La première a montré que *P. corethrurus* améliore la phytoextraction du Pb par la plante *Lantana camara* dans des sols artificiellement dopés à 500 et 1000 µg Pb g⁻¹ de sol [Duarte et al., 2012]. L'étude de Duarte et al. [2012] qui a mesuré l'impact de *P. corethrurus* sur la disponibilité du plomb et du manganèse dans des sols naturellement contaminés, a montré que la fraction soluble et échangeable du Pb est significativement diminuée en présence de vers.

L'effet des vers sur la mobilité des métaux lourds dans les sols a bien été démontré, mais pour différents éléments, avec différentes espèces de vers et ce, dans différents sols avec des caractéristiques différentes. L'hétérogénéité des résultats obtenus peut en partie être liée aux différentes conditions expérimentales mises en place (la nature des sols, les espèces utilisées, l'élément trace métallique étudié, ainsi que la notion abordée). On peut cependant noter l'importance de continuer à développer ces études afin de mettre en évidence les mécanismes mis en jeu dans les sols contaminés. En particulier, la biodisponibilité des métaux lourds est un facteur clé dans la prévention des risques associés. Par ailleurs, la capacité de bioaccumulation des métaux lourds par les vers peut être utilisée dans le domaine de la bioindication de la pollution métallique dans les sols.

III-6.2.2. Voies d'accumulation des métaux lourds dans les vers de terre

La capacité d'accumulation des vers de terre a été reconnue dans la littérature dès la fin du 19^{ème} siècle [Hopkin, 1989]. Chez les vers de terre, les métaux lourds s'accumulent notamment dans les tissus digestifs soit par voie orale après leur ingestion, soit par voie cutanée chez les vers de terre n'ayant pas de cuticule protectrice et vivant en contact permanent avec le sol [Hobbelen *et al.*, 2006]. De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend ce processus de bioconcentration : (i) l'espèce de ver et sa catégorie écologique, (ii) le type de métal et sa spéciation, (iii) les propriétés physiques et chimiques du sol, (iv) la saison et (v) quand il s'agit d'une pollution diffuse, la distance à la source de contamination [Dai, 2004; Ernst, 2007, 2008; Nahmani *et al.*, 2009, 2007; Rieder *et al.*, 2011].

En introduisant les vers *E. fetida* dans du fumier et en observant la biodisponibilité, des expériences ont montré que la bioaccumulation des métaux lourds dans les vers de terre dépendait fortement de l'élément étudié (Li *et al.*, 2010). Le mercure en particulier est accumulé de manière plus importante dans les tissus des vers endogés [Burton *et al.*, 2006; Ernst, 2007, 2008; Fu *et al.*, 2011; Rieder *et al.*, 2011].

Les métaux lourds se trouvent accumulés dans des cellules appelées chloragocytes, qui tapissent le tube digestif des vers [Vijver *et al.*, 2004]. Lors de la digestion, les déchets pouvant inclure les métaux comme le plomb ou le cadmium sont stockés dans les chloragocytes sous la forme de granules ou chloragosomes. Un chloragosome isolé possède des propriétés d'échange cationique et anionique qui lui permettent d'absorber et d'immobiliser certains éléments tels que le Pb. Le chloragosome joue donc un rôle primordial dans la concentration de certains éléments traces. L'élimination du Pb et du Cd peut être faite par les corps bruns ou par autotomie [Ablain, 2002].

Afin de prévenir la toxicité des métaux lourds, un second mécanisme de séquestration cellulaire existe dans le cytoplasme, impliquant une protéine spécifique se fixant aux métaux lourds : les métallothionéines. Ces molécules ont d'abord été

étudiées chez les vers de terre en réponse au cadmium (Cd) [Brulle *et al.*, 2007, 2010, 2011], mais peuvent être induites par différents ions métalliques y compris le mercure. Le fait que les vers produisent ces métallothionéines pourrait expliquer leur capacité à accumuler des quantités très importantes de mercure sans sembler être affectés par sa toxicité [Vijver *et al.*, 2004]. L'induction de métallothionéines joue donc un rôle important dans la tolérance des métaux lourds.

L'étude de l'accumulation des métaux lourds dans les tissus des vers pourrait être un bon indicateur de disponibilité des métaux dans le sol [Conder & Lanno, 2000; Conder *et al.*, 2001; Lanno *et al.*, 2004; Oste *et al.*, 2001]. En effet, les vers de terre semblent être de bons candidats pour servir d'indicateurs d'accumulation afin d'évaluer la biodisponibilité d'éléments traces métalliques dans les sols [Lanno *et al.*, 2004]. Pour le mercure en particulier, différentes études ont montré l'intérêt d'utiliser les vers comme bioindicateurs sur des sites contaminés par des activités d'orpaillage, notamment au Brésil [Hinton, 2002; Hinton & Veiga, 2002].

III-7. Intérêts des vers de terre pour la phytoremédiation

Les vers de terre peuvent augmenter la biomasse des plantes. Étant donné qu'ils peuvent dans certains cas survivre à des concentrations très élevées en métaux lourds et augmenter la disponibilité de nombreux polluants, leurs activités d'ingénieurs du sol doivent nécessairement être prises en compte dans les stratégies de phytoremédiation.

Les vers de terre du genre *Pheretima*, également appelé *Metaphire* (appartenant à la classe écologique des épigés) font partis des espèces les plus employées en Chine pour étudier les effets des lombrics sur l'absorption des métaux par les plantes dans le cadre de processus de phytoextraction d'anciens sites miniers [Sizmur et Hodson 2009] et pour la dépollution d'un sol artificiellement contaminé [Wang *et al.* 2006]. De cette étude, il ressort que les vers de terre ont augmenté la biomasse aérienne et racinaire ainsi que les concentrations en zinc dans les parties aériennes et racinaires, en raison d'une augmentation de la biodisponibilité de cet élément dans le sol. Cette même équipe a également conduit une seconde expérience en cultivant du ray-grass sur des sols contaminés artificiellement par du cuivre. Dans ce dernier cas, en plus de vers de terre *Metaphire Gillelmi*, les expérimentateurs ont ajouté de la paille afin d'enrichir le substrat de culture en

matière organique, potentiellement assimilable par les vers de terre et par les plantes après minéralisation. Comme précédemment, les vers de terre ont permis aux plantes d'accumuler plus de cuivre dans leurs organes souterrains et aériens.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>
- Abdelly C, (2007), Bioremédiation / Phytoremédiation, Université de Tunis
- Abdul Rida, A.M.M. (1996). Concentrations et croissance de Lombriciens et de plantes dans des sols contaminés ou non par Cd, Cu, Fe, Pb et Zn: Interactions plant-sol-lombricien. *Soil. Biol. Biochem.* 28, 1037-1044.
- Ablain, F., (2002). Rôle des activités lombriciennes sur la redistribution des éléments traces métalliques issus de boue de station d'épuration dans un sol agricole. 152 p.
- ADEME, (2006). Traitement biologique des sols pollués: recherche et innovation. 92p.
- Adriano, D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments: Biochemistry, bioavailability and risks of metals. Springer-Verlag, New York.
- Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I. et Garbisu C., (2004), Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic, *Environmental science and biotechnology*, vol.3, pp.71-90;
- Alloway B J., (1995). The mobilisation of trace elements in soils. Proceeding contaminated soils, 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris, France, 15-19 May, p.133.
- Alloway B. J. (1995), Heavy metals in soils, London, Blackie academic & professional.
- Alloway, B. J. (1997) The mobilisation of trace elements in soils. Contaminated soils. INRA. Paris (France): 133-145.
- Almasoud FI, Usman AR, Al-Farraj AS (2014) Heavy metals in the soils of the Arabian Gulf coast affected by industrial activities: analysis and assessment using enrichment factor and multivariate analysis. *Arab J Geosci* 1–13. doi: 10.1007/s12517-014-1298-x
- Alvarenga, P., Gonçalves, A.P., Fernandes, R.M., Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E., Cunha-Queda, A.C., (2008). Evaluation of composts and liming

- materials in the phytostabilization of a mine soil using perennial ryegrass. *Science of The Total Environment*, vol. 406 (1-2), pp. 43-56.
- Atteia, O., Dubois, J.P. & Webster, R., (1994). Geostatistical analysis of soil contamination in the Swiss Jura. *Environ. Pollut.*, 86, 315-327.
 - Baize D. (1997), *Teneurs totales en ETM dans les sols (France)*, Paris, INRA. p :408
 - Baize D. (2000), Teneurs en métaux lourds dans les sols français. Résultats généraux du programme ASPITET. *Courrier de l'environnement de l'INRA* 22, pp.39-54.
 - Baize, D, (2002). Les éléments traces métalliques dans les sols. INRA éditions.
 - Baker, A.J.M. and Walker, P.L. (1989). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. Shaw, A. (Eds). CRC Press, 155-177.
 - Barbante C., et Schwikowski M., Doring T., Gaggeler H W., Schotterer U., Tobler L., et Van De.Velde K., Ferrari C., Cozzi G., Turetta A., Rosman K., Bolshov M., Capodaglio G., Cescon P., et Boutron C., (2004). Historical record of European emissions of heavy metals to the atmosphere since the 1650s from Alpine snow/ice cores drilled near Monte Rosa. *Environmental Science & Technology*; 38: pp 4085-4090
 - Bengtsson, G., Ek, H., Rundgren S. (1992). Evolutionary response of earthworms to longterm metal exposure. *Oikos* 63, 289–297.
 - Beyer W.N., Hensler G. & Morre J., (1987), Relation of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd and Se in earthworms, *Pedobiologia*, vol.30, pp.167-172;
 - Beyer, W.N., Chaney, R.L., Mulhern, B.M. (1982). Heavy metal concentrations in earthworms from soil amended with sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 11,381–385.
 - Bielek P., Bujnovsky R., et al., (1998). Potentials and barriers of heavy metals transport from soil to plant production., *Compte rendu du 16ième congrès mondial de science du sol*. Montpellier, 3p. CD-ROM.
 - Bityutskii. N, Kaidun P., Yakkonen K., (2016), Earthworms can increase mobility and bioavailability of silicon in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, vol.99, pp.47-53;

- Blouin M, Barot S, Lavelle P. Earthworms (2006), *Millsonia anomala*, *Megascolecidae* do not increase rice growth through enhanced nitrogen mineralization, *Soil Biology and Biochemistry*; 38, pp.2063–2068;
- Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Brun J.J., (2013), A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services, *European Journal of Soil Science*, 64, pp.161–182;
- Bouché M.B. (1972). Lombriciens de France. Écologie et systématique. INRA Éditions, Ann. Zool. Ecol. Anim., n. sp., 72-2, 1-671.
- Bouché M.B. (1977). Stratégies lombriciennes. Soil organisms as components of ecosystems. Swedish Natural Science Research Council Ecological Bulletin, Stockholm 25,122-132.
- Brown, G., Frago, C., (2007a). Listado de las especies de lombrices de tierra de América Central (Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá), las “Guyanas” (Surinam, Guyane Française, Guyana), Venezuela y Paraguay, in: *Minhocas Na América Latina: Biodiversidade e Ecologia*. p. 421–452.
- Brown, G., Pashanasi, B., Villenave, C., Patron, J., Senapati, B.K., Giri, S., Barois, I., Lavelle, P., Blanchart, E., Blakemore, R.J., Spain, A.V., Boyer, J., 1999. Effects of earthworms on plant production in the tropics, in: Lavelle, P., Brussaard, L., Hendrix, P.F. (Eds.), *Earthworm Management in Tropical Agroecosystems*. p. 87–147.
- Brown, G.G., Barois, I., Lavelle, P. (2000). Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *Eur. J. Soil Biol.* 36, 177–198.
- Brulle F., Lemièrre S., Waterlot C., Douay F., Vandebulcke F. (2011). Gene expression analysis of 4 biomarker candidates in *Eisenia fetida* exposed to an environmental metallic trace elements gradient: A microcosm study. *Sci. Tot.Env.*, 409, 5470-5482.
- Brulle F., Morgan A.J., Cocquerelle C., Vandebulcke F. (2010). Transcriptomic underpinning of toxicant-mediated physiological function alterations in three terrestrial invertebrate taxa: a review. *Environ. Pollut.* 158, 2793-2808.

- Brulle, F., Mitta, G., Leroux, R., Lemièrre, S., Leprêtre, A., Vandebulcke, F., (2007). The strong induction of metallothionein gene following cadmium exposure transiently affects the expression of many genes in *Eisenia fetida*: A trade-off mechanism? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 144, 334–341.
- Buatier M. D., Sobanska S., et Elsass F., (2001). TEM-EDX investigation on Zn- and Pb-contaminated soils. *Appl. Geochem.* 16, 1165-1177.
- Burton D.T., Turley S.D., Fisher D.J., Green D.J. & Shedd T.R. (2006). Bioaccumulation of total mercury and monomethyl in the earthworm *Eisenia fetida*. *Water Air Soil Pollut.*, 170, 37-54
- Cecchi M., (2008)._Devenir du plomb dans le système sol-plante cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (fève et tomate), thèse de doctorat de l'université Toulouse.
- Chaignon, V., (2001). Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées.Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse : Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement : Système Terre, Université d'Aix-Marseille.
- Chebbo G., (1992). Solides des rejets pluviaux urbains : caractérisation et traitabilité. Thèse de doctorat., Ecole Nationale des Ponts et Chaussées., p.413.
- Cheng J., Wong M.H., (2002), Effects of earthworms on Zn fractionation in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 36, pp.72–78;
- Chiffolleau J F., Auger D., Chartier E, P. Michel I., Truquet A., Ficht J., Gonzalez et Romana L.,(2001). Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary (France): *Estuaries* 24(6B)., pp.1029-1040.
- Colandini V., (1997). Effets des structures réservoirs à revêtement poreux sur les eaux pluviales : qualité des eaux et devenir des métaux lourds., Thèse doctorat., Université de Pau et des pays de l'Adour., p.162 .
- Conder, J.M., and R.P. Lanno. (2000). Evaluation of surrogate measures of cadmium, lead, and zinc bioavailability to *Eisenia fetida*. *Chemosphere* 41, 1659–1668.

- Conder, J.M., Lanno, R.P., and Basta, N.T. (2001). Assessment of metal availability in smelter soil using earthworms and chemical extractions. *J. Environ. Qual.* 30, 1231–1237.
- Cortet J., Gomot de Vaufleury A., Poinso-Balaguer N., Gomot L., Texier C. & Cluzeau D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.*, 35, 115-134.
- Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Bernhard-Reversat F., Nahmani J. & Lavelle P., (2004), Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biology and Biochemistry.*, 36, pp.91–98 ;
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), *Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*, ADEME, France, pp.46–90;
- Decaëns, T., Jiménez, J.J., Gioia, C., Measey, G.J., Lavelle, P., (2006). The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology* 42, S23–S38.
- Decaëns, T., Lavelle, P., Jiménez, J.J., (2008). Priorities for conservation of soil animals. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 3, 1–18.
- Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G.G., James, S.W., (2013). Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. *Applied Soil Ecology* 65, 35–42.
- Depta, B., Koscielniak, A., Rozen, A. (1999). Food selection as a mechanism of heavy metal resistance in earthworms. *Pedobiologia* 43, 608–614.
- Devliegher, W. and Verstraete, W. (1995). *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biol. Biochem.* 28, 489-496.
- Devliegher, W. and Verstraete, W. (1997). Microorganisms and soil physico-chemical conditions in the drilosphere of *Lumbricus terrestris*. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1721- 1729.
- Duarte, A.P., Melo, V.F., Brown, G.G., Pauletti, V., (2012). Changes in the forms of lead and manganese in soils by passage through the gut of the tropical

- endogeic earthworm (*Pontoscolex corethrurus*). *European Journal of Soil Biology* 53, 32–39.
- Edwards C.A. & Bohlen P.J. (1992). The effects of toxic chemicals on earthworms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 125, 23-99.
 - Edwards, C.A., Bohlen, P.J., (1996), *Biology and Ecology of Earthworms*. Chapman and Hall, London.
 - Elodie Da Silva.(2013) Interactions "sol - vers de terre" et dynamique du mercure en Guyane française. *Earth Sciences*. Université Paris-Est. French. <NNT : 2013PEST1162>. <tel-00944329>
 - Ernst, G., Frey, B., (2007). The effect of feeding behavior on Hg accumulation in the ecophysiologicaly different earthworms *Lumbricus terrestris* and *Octolaseon cyaneum*: A microcosm experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 386–390.
 - Ernst, G., Zimmermann, S., Christie, P., Frey, B., (2008). Mercury, cadmium and lead concentrations in different ecophysiological groups of earthworms in forest soils. *Environmental pollution* 156, 1304–13.
 - Fajtl J., Kabrna M., Tichy R., et Ledvina R., (2002). Environmental risks associated with aeration of a freshwater sediment exposed to mine drainage water. *Env. Geology* 41, 563-570.
 - Fu, Z., Wu, F., Mo, C., Liu, B., Zhu, J., Deng, Q., Liao, H., Zhang, Y., (2011). Bioaccumulation of antimony, arsenic, and mercury in the vicinities of a large antimony mine, China. *Microchemical Journal* 97, 12–19.
 - Gabrielli P., et Barbante C., et Boutron C., Cozzi G., et Gaspari V., et Planchon F., et Ferrari C., Turetta C., et Hong S., et Cescon P., (2005). Variations in atmospheric trace elements in Dome C (East Antarctica) ice over the last two climatic cycles., *Atmospheric Environment*, 39., pp 6420-6429.
 - Gadd, J.M. (2000). *Phytoremediation of toxic metals: using plant to clean up the environment*. Raskin. I and Ensley. B.D., John Wiley & Sons, Inc, New York, p.304.
 - Gish C.D. & Christensen R.E. (1973). Cadmium, nickel, lead and zinc in earthworms from roadside soil. *Environ. Sci. Technol.*, 7, 1060-1062.

- Ha, N.T.H., Sakakibara, M., Sano, S., Nhuan, M.T., (2011), Uptake of metals and metalloids by plants growing in a lead-zinc mine area, Northern Vietnam. *J. Hazard. Mater.* 186, pp.1384-1391;
- Hartenstein, R. and Hartenstein, F. (1981). Physico-chemical changes effected in activated sludge by the earthworm *Eisenia fetia*. *J. Environ. Qual.* 10, 377-382.
- Hinton, J., (2002). Earthworms as a bioindicator of mercury pollution in an artisanal gold mining community, Cachoeira do Piria, Brazil. 161 p.
- Hinton, J., Veiga, M.M., (2002). Earthworms as bioindicators of mercury pollution from mining and other industrial activities. *Geochemistry, Exploration, Environment, Analysis* 2, 269–274.
- Hobbelen P.H.F., Koolhaas J.E. & Van Gestel C.A.M. (2006). Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* in relation to total and available metal concentrations in field soils. *Environ. Pollut.*, 144, 639-646.
- Hopkin, S. P. (1989). *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates*, Elsevier Applied Science, London
- Huynh T.M.D., (2009). Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Ireland M.P. & Richards K.S. (1981).- Metal content after exposure to
- James, S.W., Porco, D., Decaëns, T., Richard, B., Rougerie, R., Erséus, C., 2010. DNA barcoding reveals cryptic diversity in *Lumbricus terrestris* L., 1758 (Clitellata): resurrection of *L. herculeus* (Savigny, 1826). *PloS one* 5.
- Jiang, Z.F., Huang, S.Z., Han, Y.L., Zhao, J.Z., Fu, J.J., (2012), Physiological response of Cu and Cu mine tailing remediation of *Paulownia fortunei* (Seem) Hemsl, *Ecotoxicology* 21, pp.579-767;
- Jones, C.G., Lawton, J.H. and Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69, 373-386.
- Juillot F. (1998) Localisation et spéciation de l'arsenic, du plomb, et du zinc dans des sites et sols contaminés. Comparaison avec un sol développé sur une anomalie géochimique naturelle en plomb. Ph.D. thesis, Université Paris 7, France.

- Jusselme, M.D., Poly, F., Miambi, E., Mora, P., Blouin, M., Pando, A., Rouland-Lefèvre, C., (2012). Effect of earthworms on plant *Lantana camara* Pb-uptake and on bacterial communities in rootadhering soil. *The Science of the total environment* 416, 200–7..
- Juste C., (1988). Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol.- *Science du Sol*, 26 ., pp 103-112.
- Kabala, C., et Szerszen, L., (2002), Profile distributions of lead, zinc, and copper in Dystric Cambisols developed from granite and gneiss of the Sudetes Mountains, *Poland. Water, Air, & Soil Pollution*, 138, pp.307-317;
- Kamitani T., & Kaneko N., (2007), Species-specific heavy metal accumulation patterns of earthworms on a floodplain in Japan, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, pp.82-91;
- Kärenlampi, S., Schat, H., Vangronsveld, J., Verkleij, J.A.C, Van der Lelie, D., Mergeay, M., and Tervahauta, A.I. (2000). Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Environ. Poll.* 107, 225-231.
- Klok, C., Goedhart, P.W., Vandecasteele, B., (2007). Field effects of pollutants in dynamic environments. A case study on earthworm populations in river floodplains contaminated with heavy metals. *Environmental pollution* 147, 26–31.
- Klok, C., Thissen, J., (2009). Are laboratory derived toxicity results informative for field situations? Case study on earthworm populations contaminated with heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 251–255.
- Kopittke P.M., Colin J.A., Kopittke R.A., Menzies N.W., (2007). Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution*, in press. Kramer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J.M., Smith, J.A.C., (1996). Freehistidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 373, pp.635-638.
- Kumpiene, J., Guerri, G., Landi, L., Pietramellara, G., Nannipieri, P., Renella, G., (2009). Microbial biomass, respiration and enzyme activities after in situ aided phytostabilization of aPb and Cu-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 72 (1), pp. 115-119.

- Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N., (2004), The bioavailability of chemicals in soil for earthworm, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57, pp.39–47;
- Lanno, R.P. and Mc Carty, L.S. (1997). Earthworm bioassays: Adopting techniques from aquatic toxicity testing. *Soil Biol. Biochem.* 5, 693-697.
- Lavelle, P. (1988). Earthworms and the soil system, *Biol. Ferti. Soils* 6, 237–251.
- Lavelle, P. (1996). Diversity of soil fauna and soil function. *Biol. Intern.* 33, 3-16.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J.-P., (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42, S3– S15.
- Lavelle, P., Pashanasi, B., Charpentier, F., Gilot, C., Rossi, J.P., Derouard, L., Andre, J., Ponge, J.F., Bernier, N. (1998). Large-scale effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics, in: Edwards C.A. (Ed.), *Earthworm Ecology*, St. Lucie Press, Boca Raton, USA, 103–122.
- Lee, K.E. (1985). *Earthworms, their ecology and relationships with soils and land use*. Academic Press, New York, p. 411.
- Li, L., Xu, Z., Wu, J., Tian, G., (2010). Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource technology* 101, 3430–6.
- Li, M., Liu, Z.T., Xu, Y., Cui, Y.B., Li, D.S., Kong, Z.M., (2009), Comparative effects of Cd and Pb on biochemical response and DNA damage in the earthworm *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta), *Chemosphere* ,74, pp.621–625;
- Li, N.Y., Li, Z.A., Zhuang, P., Zou, B., McBride, M., (2009), Cadmium uptake from soil maize with intercrops. *Water Air Soil Pollution*, 199, pp.45–56;
- Liu J., Li K., Xu J., Zhang Z., Ma T., Lu X., Yang J., Zhu Q., (2003). Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. *Plant Science* 165: pp.793-802.
- Lowe, C.N., Butt, K.R., (2007). Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. *European Journal of Soil Biology* 43, S281–S288
- M. Vidali (2001), Bioremediation. An overview*, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 73, No. 7, pp. 1163–1172.

- Ma Y, Dickinson NM, Wong MH (2002) Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. *Biology and Fertility of Soils* 36: 79-86.
- Malkowski EK., Galas W., Karez W., Kuperberg JM., (2002). Lead distribution in cornseedlings (*Zea mays L.*) and its effects on growth and the concentration of potassium and calcium. *Plant Growth Regulation* 37: pp. 69-76.
- Marchand M., et Kantin R., (1997). Les métaux traces en milieu aquatique.,ed: Lewis Publishers., pp. 595-629.
- Marschner H., (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second edition. Academic press, London.
- Mason Y., Ammann A. A., Ulrich A., Sigg L., (1999). Behavior of heavy metals, nutrients, and major componentd during roof runoff infiltration. *Environmental Science Technology*, Vol. 33, p.1588-1597.
- McBride M., Sauvé S. & Hendershot W.H., (1997), Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils, *European Journal of Soil Science*, 48, pp.337-346;
- McBride MB, Shayler HA, Spliethoff HM, et al (2014) Concentrations of lead, cadmium and barium in urban garden-grown vegetables: The impact of soil variables. *Environ Pollut* 194:254–261. doi: 10.1016/j.envpol.2014.07.036
- McGrath, S.P. (1998). Phytoextraction for soil remediation. In R.R. Brooks (ed.) *Plants thathyperaccumulate heavy metals*.CAB Int., Wallingford, UK, pp. 261-287.
- Meuli, R., R. Schulin, R. & Webster, R., (1998). Experience with the replication of regional survey of soil pollution. *Environ. Pollut.*, 101, 311-320.
- Miquel, G., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, 366p.
- Mishra S., Srivastava S., Tripathi R.D., Kumar R., Seth C.S., Gupta D.K., (2006), Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum L*) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation, *Chemosphere*, 65, pp.1027-1039;

- Morel, J.L., (2010). Stratégies de remédiation in-situ des sols pollués - la phytoremédiation. GISFI, Communication Académie Lorraine des Sciences, p.42.
- Morgan A.J., Morgan J.E., Turner M., Winters C. & Yarwood A., (1993), Metal relationships of earthworms, *Ecotoxicology of Metals In Invertebrates*, Dallinger R. & Rainbow P.S. (Eds), SETAC, Lewis Publ., USA, pp.333-358;
- Morgan A.J., Morris B., James N., Morgan J.E. & Leyshon K., (1986), Heavy metals in terrestrial macroinvertebrates: Species differences within and between trophic levels, *Chemistry and Ecology.*, 2, pp.319-334;
- Morgan A.J., Stürzenbaum S.R., Winters C. & Kille P. (1999). Cellular and molecular aspects of metal sequestration and toxicity in earthworms. *Invert. Reprod. Develop.*, 36, 17-24.
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1992), Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologically different earthworm species, *Soil Biology & Biochemistry.*, 24, pp.1691-1697;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1999), The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): Implications for ecotoxicological testing, *Applied Soil Ecology.*, 13, pp.9-20;
- Morlot, M. (1996). Aspects analytiques du plomb dans l'environnement, Ed Lavoisier
- Nahmani J., Hodson M.E. & Black S. (2007). A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environ. Pollut.*, 145, 402-424.
- Nahmani, J., Hodson, M.E., Black, S., (2007a). Effects of metals on life cycle parameters of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated, metal-polluted soils. *Environmental pollution* 149, 44–58.
- Nahmani, J., Hodson, M.E., Devin, S., Vijver, M.G., (2009). Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated soils. *Environmental pollution* 157, 2622–8.
- Nahmani, J., Lavelle, P., Lapied, E., van Oort, F., (2003). Effects of heavy metal soil pollution on earthworm communities in the north of France. *Pedobiologia* 47, 663–669.

- Nriagu J., Becker C., (2004). Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories - Reply., *Science of the Total Environment*: 327., pp331-333.
- Nriagu J.O., (1978). *The biogeochemistry of lead in the environment*. Ed JO Nriagu, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam
- Nriagu, J.O., (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* 338, 47–49.
- OCDE, (2004). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. p. 1-19.
- Oste L.A., Dolfing J., Ma W.C., Lexmond T.M., (2001), The effect of beringite on Cd and Zn uptake by plants and earthworms: More than a liming effect?, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20, pp.1339-1345;
- Päivöke AEA., (2002). Soil lead alters phytase activity and mineral nutrient balance of *Pisum sativum*. *Environmental and Experimental Botany* 48:pp 61-73.
- Patra M., Bhowmick N., Bandopadhyay B., Sharma A., (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52: pp 199-223.
- Pilon-Smits, E., (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, vol. 56, pp. 15-39.
- Pizl, V., Jossens, G. (1995) Earthworm communities along a gradient of urbanization. *Environmental Pollution* 90, 7–14.
- Ramade F., (1993) *Dictionnaire Encyclopédique de l'Ecologie et des Sciences de l'Environnement*. Edition Edisciences International.
- Raskin I., Kumar N.P.B.A, Dushenkov S., Salt D.E., (1994), Bioconcentration of heavy metal by plant. *Current Opinion in biotechnology* 5, pp.285-290;
- Raskin, I. and Ensley, B.D. (2000). *Phytoremediation of toxic metals; using plants to clean up the environment*. John Wiley and Sons, New York.
- Richard, B., Decaëns, T., Rougerie, R., James, S.W., Porco, D., Hebert, P.D.N., (2010). Re-integrating earthworm juveniles into soil biodiversity studies: species identification through DNA barcoding. *Molecular ecology resources* 10, 606–14.

- Rieder, S.R., Brunner, I., Horvat, M., Jacobs, A., Frey, B., (2011). Accumulation of mercury and methylmercury by mushrooms and earthworms from forest soils. *Environmental pollution* 159, 2861–2869.
- Rivière J. L. (1998) *Evaluation du risque écologique des sols pollués*. Edition Lavoisier.
- Robert, M. and Juste, C. (1999). Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol. In Club CRIN Environnement et Ministère de l'environnement. Spéciation des métaux dans le sol. Paris: CRIN.
- Rooney CP., McLaren RG., Cresswell RJ., (1999). Distribution and phytoavailability of lead in a soil contaminated with lead shoot. *Water, Air and Soil Pollution* 116: pp 535-548.
- Rougerie, R., Decaëns, T., Deharveng, L., Porco, D., James, S.W., (2009). DNA barcodes for soil animal taxonomy. *pesquisa agropecuaria brasileira* 44, 789–801.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A., Dushenkov S., Ensley B.D., Chet I., Raskin I., (1995), Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 5, pp.285-290;
- Salt, D.E., Smith, R.D. and Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Plant Physiol. Plant Mol.Biol.* 49, pp 643–68.
- Sauvé S., McBride M., (1998), Lead phosphate solubility in water and soil suspensions. *Environmental Science and Technology*, 32, pp.388-393;
- Seregin IV., Ivanov VB., (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48 (4): pp.523-544.
- Shah, K. and Nongkynrih, J.M. (2007). Metal hyperaccumulation and bioremediation. *Biologia Plantarum* 51, 618-634.
- Singh B., et Steinness E., (1994). Soil and water contamination by heavy metals. In *soil processes and water quality.*, ed :Lewis., pp.233-271.
- Singh, O. V., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R., and Jain R. K. (2003). Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 405-412.
- Sizmur A., Hodson M.E. (2009). Do earthworms impact mobility and availability in soil ? A review. *Env Poll*, 159, 1981-1989.

- Spurgeon, D. J., Hopkin, S. P. (1996). The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Applied Soil Ecology* 4, 147–160.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Arch Environ Contam Toxicol* 37, 332–337.
- Spurgeon, D.J., Svendsen, C., Rimmer V.R., Hopkin S.P., and Weeks J.M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, 1800–1808.
- Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N. & Fourrier, H., (2002). Contamination des sols vers la profondeur à Noyelles-Godault et Aubry. In: Un point sur...les éléments traces métalliques dans les sols approches fonctionnelles et spatiales. INRA. Editions. Paris 565p.
- Stumm W. et Morgan J. J., (1996). *Aquatic chemistry : chemical equilibria and rates in natural water*, 3rd edition. Wiley, New York.
- Susarla S., Victor F. Medina V. F, McCutcheon S.C. (2002). Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18 :pp 647-658.
- Thiry, M. & van Oort, F., (1999). De l'échantillonnage à la spéciation : pertinence des analyses minéralogiques par diffraction des rayons X dans les sites et sols pollués par des métaux. In: Spéciation des métaux dans le sol. C. C. environnement. Paris, ECRIN: 96-107.
- Uzu, G., Sobanska, S., Aliouane, Y., Pradere, P., Dumat, C., (2009), Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation, *Environmental Pollution*, 157, pp.1178–1185;
- Van gestel C.A.M. (2008). Physico chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soils. *Sci. Tot. Env.*, 406, 385 – 395.
- Van Oort, F., Gaultier, J.P., Hardy, R. & Bourennane, H., (2002). Distributions spatiales de métaux et stratégies d'échantillonnage dans les sols du périmètre agricole d'une friche industrielle. In : Les Eléments métalliques dans les sols- Approches fonctionnelles et spatiales. INRA-Editions, pp. 281-297.

- Van Straalen N.M. (2003). Ecotoxicology becomes stress ecology. *Environ. Sci. Technol.*, 1, 324-330.
- Van Straalen, N.M., van Gestel, C. a M., (2008). A stress ecology framework for comprehensive risk assessment of diffuse pollution. *The Science of the total environment* 406, 479–83.
- Van Vliet P.C.J., Van der Zee S.E.A.T.M. & Ma W.C., (2005), Heavy metal concentrations in soil and earthworms in a floodplain grassland. *Environmental Pollution.*, 138, pp.505-516;
- Vijver M.G., Van Gestel C.A.M., Lanno R.P., Van Straalen N.M. & Peijnenburg W.J.G.M. (2004). Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance – A review. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4705-4712.
- Wang D, Li H, Wei Z, Wang X, Hu F (2006) Effect of earthworms on the phytoremediation of zinc-polluted soil by ryegrass and Indian mustard. *Biol Fertil Soils* 43:120–123.
- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004), The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 40, pp.181–187;
- Xiao, N.-W., Song, Y., Ge, F., Liu, X.-H., Ou-Yang, Z.-Y., (2006), Biomarkers responses of the earthworm *Eisenia fetida* to acetochlor exposure in OECD soil, *Chemosphere*, 65, pp.907-912;
- Zeng, L.S., Liao, M., Chen, C.L., Huang, C.Y., (2006), Effects of lead contamination on soil microbial activity and rice physiological indices in soil-Pb-rice (*Oryza sativa* L.) system, *Chemosphere*, 65, pp.567-574;
- Zerrouki D., (2014), Phytoremédiation d'un sol agricole contaminé par les métaux lourds (Pb, Zn et Cu) en milieu routier à l'aide de l'orge *Hordeum vulgare* .L et de tournesol *Helianthus annuus*. L. thèse de doctorat de l'université de sidi bel Abbes.
- Zorn, M.I., Van Gestel, C. a M., Eijsackers, H., (2005). The effect of two endogeic earthworm species on zinc distribution and availability in artificial soil columns. *Soil Biology and Biochemistry* 37,917–925.

Partie B : Matériel et Méthodes

I. Introduction

Afin de répondre aux différents objectifs de cette thèse, une approche multidisciplinaire était nécessaire. Nous avons mis en place une étude expérimentale répartie en trois systèmes, afin d'étudier le comportement phytoaccumulateur de la plante *Hordeum vulgare*, le pouvoir bioaccumulateur des vers de terre *Lumbricus* sp et leur interaction.

Ce chapitre a pour objectifs de présenter les méthodes expérimentales utilisées.

- La première partie de cette rubrique méthodologique est consacrée aux « composants » utilisés dans le dispositif expérimental.

- La seconde partie de ce chapitre est consacrée à la « mise en place » des trois systèmes.

- La troisième partie est dédiée à la récolte et la conservation des échantillons.

- La quatrième partie, consacrée aux traitements des échantillons, sont présentées les méthodes employées pour l'analyse des propriétés physico-chimiques des sols et les techniques de quantification du plomb dans les sols, la plantes et les vers de terre ; et enfin les traitements statistiques des données.

II. Composants de l'expérimentation

II-1. Le sol

Le sol utilisé dans l'expérimentation est un sol agricole de texture sableuse, provenant d'une parcelle éloignée de toutes sources de pollution métallique (routes et autoroutes...), les concentrations en plomb du sol sont dans les normes (<100 ppm).

Le sol est prélevé à une profondeur ne dépassant pas les 30 cm (horizon A), le sol est ensuite séché à l'air libre, broyé, tamisé (< 5 mm) et bien mélangé. Ce sol est utilisé dans une expérimentation en pots dans des conditions contrôlées.

II-2. Le matériel végétal (*Hordeum vulgare* L)

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une plante annuelle de la famille des Poaceae, très semblable au blé dans la morphologie de ses organes végétatifs et floraux. Elle fait partie des plus anciennes céréales cultivées.

- **Taxonomie de l'Orge**

Règne : Plantae

Classe: Liliopsida

Ordre : Cyperales

Famille : Poaceae

Genre : Hordeum

Nom scientifique : Hordeum vulgare

II-3. Les vers de terre (*Lumbricus* sp.)

Les vers de terre, aussi appelés lombriciens (annélides, oligochètes) représentent une composante majeure de la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres [Huynh T.M.D., 2009]. Ils peuvent constituer jusqu'à 90% de la biomasse des invertébrés dans les sols. Edwards & Bohlen [1992], soulignent l'intérêt des vers de terre dans la biosurveillance de la qualité des sols.

- **Taxonomie**

Embranchement : Annélide

Classe : Clitellata

Sous-classe : Oligochaeta

Ordre : Haplotaxida

Sous-ordre : Lumbricina

Famille : Lumbricidae

Genre : Lumbricus

Ils sont connus pour jouer un rôle clé dans la modification physico-chimique et biologique des sols. Ainsi, ils assurent de nombreuses fonctions dans les sols et sont à l'origine de nombreux services écosystémiques tels que l'incorporation de la matière organique dans les sols, le fonctionnement des cycles biogéochimiques, et le maintien de conditions physico-chimiques favorables pour les plantes et les autres organismes du sol, [Brown *et al.*, 1999, 2000; Lavelle *et al.*, 1988, 1998, 2006; Blouin *et al.*, 2013].

Les vers de terre peuvent bioconcentrer certains produits chimiques en faisant intervenir des mécanismes d'absorption sélective et d'excrétion, qui varient suivant les espèces de vers et les familles de produits chimiques. [De Vaufleury *et al.*, 2013].



Figure 6: Étape de la récolte des vers de terre [cliché : BOUKIRAT, 2016]



Figure 7: Ver de terre récolté [cliché : BOUKIRAT, 2016]

II-4. Contamination du sol par le plomb

Le sol a été contaminé artificiellement avec quatre concentrations de plomb (500 ug/g ,1000 ug/g, 1500 ug/g et 2000 ug/g) en utilisant une poudre de nitrate de plomb [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$] qui est mise en solution dans de l'eau distillée, en plus d'un sol non contaminé (sol témoin) dont la concentration en plomb est dans les normes internationales décrites par l'AFNOR X 31 en 1996 (< 100 ug/g).

III. Mise en place de l'expérimentation

Trois facteurs ont été mis en jeu dans l'expérimentation : (i) Les concentration en plomb des sols. (ii) présence/absence des vers de terre. Et (iii) présence/absence de la plante.

L'expérimentation a fait l'objet de trois systèmes :

Système S1: sol_plante,

Système S2: sol_vers de terre,

Système S3: sol_plante_vers de terre.

Chaque système comprenant cinq blocs représentant les concentrations de plomb :

B1: 500 ug/g,

B2: 1000 ug/g ;

B3: 1500 ug/g;

B4: 2000 ug/g et

BT (témoin), avec 4 réplicas chacun.

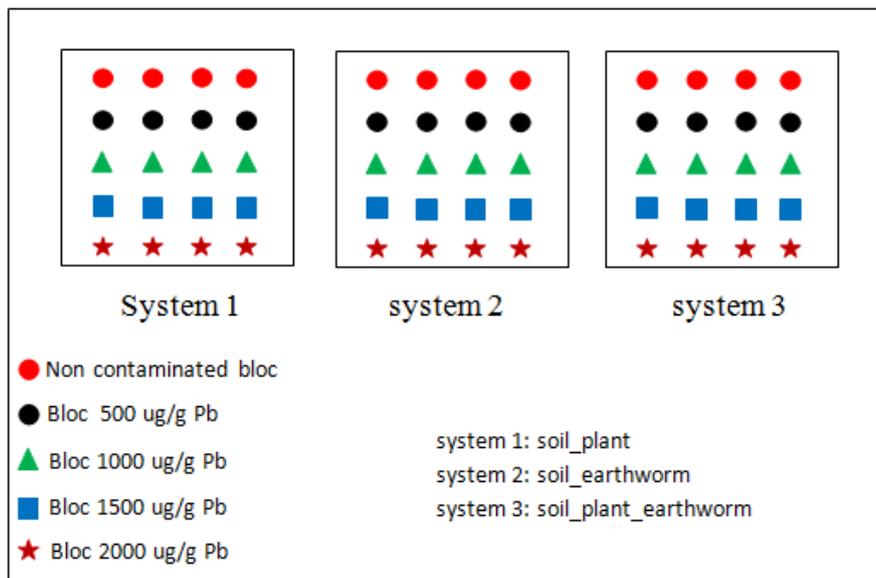


Figure 8: Dispositif expérimental

Soixante pots, de (diamètre inférieur 20 cm, diamètre supérieur 18 cm, hauteur 20 cm) ont été préparés avec 3 kg de sol sec, contaminés et homogénéisés. La plante utilisée dans cette expérimentation est l'orge commune (*Hordeum vulgare* L.) reconnue comme une plante hyperaccumulatrice, Maatoug et

al., [2013] ont rapporté que l'orge accumule $36.28 \pm 14.90 \mu\text{g.g}^{-1}$ de plomb, ce qui correspond à 2% du plomb total du sol. Dix graines ont été semées dans les pots du système S1 et S3, l'expérimentation a été menée sous serre (température de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ et $60 \pm 5 \%$ humidité relative) et la germination a été déterminée visuellement [Gong *et al.*, 2001].

Les pots des trois systèmes sont arrosés quotidiennement avec la même quantité d'eau pour maintenir le sol humide. Après 4 mois, des vers de terre anéciques adultes sont récoltés rincés pour éliminer le sol et gardés au laboratoire (24 h) pour le nettoyage de leur intestin. $3 \pm 0.5 \text{ g}$ (3 à 4 vers de terre) sont introduits dans chaque pot des systèmes S2 et S3; pour fournir une densité d'environ 100 g m^{-2} [Blouin *et al.* 2006 ; M D Jusselme *et al.* 2013]. L'expérimentation est menée dans des conditions contrôlées durant 21 jours.



Figure 9: Disposition des pots dans la serre [cliché : BOUKIRAT, 2016]

IV. Démontage de l'expérimentation et récoltes des échantillons

IV-1. La plante

À la fin de l'expérimentation, les échantillons sont récoltés, la partie aérienne de la plante est coupée au ras du sol, séparée (tiges et feuilles) et conservée dans des sachets en papier, les pots sont ensuite renversés sur du plastique pour récupérer les racines, ces dernières sont lavées avec de l'eau distillée pour retirer le sol et sont conservées dans des sachets en papier.

Les différentes parties de la plante sont séchées à l'étuve à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 72 h.

IV-2. Les vers de terre

Après la récolte des parties aériennes des plantes, les pots sont vidés et leur contenu est étalé sur une bâche en plastique un pot à la fois, les vers de terre sont ensuite récoltés, leur survie est déterminée par observation de leurs activités entre les mains ; ils sont ensuite rincés, pesés et conservés pendant 48 h dans des boîtes de pétrie contenant du papier humidifié avec de l'eau distillée pour le nettoyage de leur intestin [A. Lemtiri *et al.*, 2016; N. Bityutskii *et al.*, 2016].

IV-3. Le sol

Une fois les vers enlevés, le contenu des pots est séché à l'air libre pendant 48 h, au laboratoire, les échantillons sont tamisés à 2 mm afin de les homogénéiser. Quelques paramètres physico-chimiques du sol, notamment, le pH, la CEC et la granulométrie ont été déterminés par les méthodes habituelles.



Figure 10: Démontage des pots [cliché : BOUKIRAT, 2016]

V. Analyses physico-chimiques du sol utilisé

Pour les analyses physico-chimiques, le sol est tamisé à 2 mm ;

- **Analyse granulométrique**

La détermination de la distribution des particules suivant leur taille, ou analyse granulométrique a été réalisée par sédimentation en utilisant la pipette de Robinson qui permet de connaître la répartition des particules minérales inférieures à (2 mm) selon 5 classes de grosseur, l'échelle utilisée est celle d'Atterberg :

Argiles : 0 à 2 μm ,

Limons fins : 2 à 20 μm

Limons grossiers : 20 à 50 μm ,

Sables fins : 50 à 200 μm ,

Sables grossiers : 200 μm à 2mm.

Selon cette méthode, la destruction de la matière organique est faite par l'eau oxygénée (H_2O_2), la dispersion des particules est réalisée par addition de pyrophosphate de sodium. Le prélèvement des argiles et limons a été effectué par la pipette de Robinson ; les sables ont été récupérés par tamisage. La composition granulométrique est exprimée en pour cent (%). Cette analyse sert à déterminer la texture du sol par l'utilisation du triangle textural.

- **Le pH**

Le pH (eau) du sol est mesuré en utilisant une suspension de sol dans un rapport (M/V) de 1/5. Le pH est mesuré après 30 minutes de repos de la suspension. La lecture se fait à l'aide d'un pH-mètre (pH-mètre étant préalablement étalonné à l'aide d'une solution tampon de pH connu).

- **La conductivité électrique**

La conductivité électrique a été mesurée dans une suspension de sol (M/V) de 1/5 suivant la norme NF ISO 11265 avec un conductimètre.

- **La teneur en matière organique (MO)**

La teneur en matière organique a été déterminée par calcination au four à 500°C suivant la norme NF ISO10694. Le Sol (100 g) a été calciné à une température de 500°C dans un four pendant 5h. La teneur en matière organique représente la différence entre les deux masses (avant – après calcination) (la teneur ensuite a été rapportée à 100g de l'échantillon initial).

$$\%MO = (M0/M1) *100$$

- M0: étant la masse initiale d'échantillon séché à 40 ± 5°C, en gramme;
- M1: masse finale, après calcination à 500 ± 5°C, en gramme. [Cité in Kebir., 2012]

- **La capacité d'échange cationique (CEC)**

La CEC a été déterminée par percolation suivant la norme NF X31-130 Cité in [Kebir., 2012]. La capacité d'échange est une mesure de la quantité d'ions susceptibles d'être retenus par échange sur un solide, en présence d'un excès des ions échangeurs en solution. Cela correspond en fait à la charge nécessaire pour atteindre l'électroneutralité du solide. Cette capacité peut être soit cationique (CEC) soit anionique (CEA), selon que la surface du milieu est chargée négativement ou positivement. Déterminer la CEC d'un solide consiste à mesurer un paramètre caractérisant un état d'équilibre entre l'échantillon de sol et un environnement expérimental donné. Les valeurs obtenues sont en fonction du milieu (cation saturant, pH, force ionique, présence d'autres ions, etc.) [Kabata-Pendias et Mukherjee 2007], ainsi que des conditions de réalisation influençant le rendement

des réactions d'échange. La CEC est initialement liée à la présence d'argile, de matière organique et par même occasion aux métaux lourds.

Pour évaluer le nombre total de sites disponibles à l'échange, la méthode par titrage acido-basique peut être utilisée.

i. Principe

Dans les conditions déterminées :

- échange (percolation) entre les cations d'un échantillon de sol et les ions ammonium d'une solution aqueuse molaire et neutre d'acétate d'ammonium ;
- élimination de l'ammonium en excès (percolation) au moyen d'alcool éthylique ;
- extraction (agitation) des ions ammonium fixés, par une solution aqueuse et molaire de chlorure de sodium ;
- détermination de la capacité d'échange cationique par dosage des ions ammonium échangés.

ii. Protocole

On utilise une colonne de percolation, on ajoute du coton, puis une prise d'essai pour chaque sol égale à $2,5 \pm 0,005$ g tamisé à 2 mm, puis on ajoute environ 75 ml d'acétate d'ammonium ($C_2H_7NO_2$, pH=7, 1 mol/L), que l'on laisse percoler. Au total, il faut réaliser cinq percolations.

L'échantillon est ensuite rincé à l'alcool éthylique. Il est généralement nécessaire d'effectuer six rinçages pour obtenir une élimination complète des ions ammonium en excès.

A la suite du rinçage, l'échantillon est mis à sécher pendant 24h à température ambiante.

L'échantillon est placé dans un récipient à agitation. L'extraction des ions ammonium est réalisé grâce à ($50 \pm 0,1$) ml de NaCl (1 mol/L). L'agitation dure 1 heure.

La solution ensuite est filtrée (sur des filtres sans cendres). Vingt-cinq millilitres du filtrat sont versés dans le ballon d'un appareil à distiller à l'aide d'une pipette, ainsi que 10 ml de soude

NaOH (33% dans l'eau (m/v)), ensuite on complète à 200 ml par l'eau distillée et on ajoute des régulateurs d'ébullition (comme par exemple des pierres).

Ajouter dans le récipient de récupération du distillat, $40 \pm 0,1$ ml de l'acide borique (40 g/L) et quelques gouttes d'indicateur de Toshiro, plonger l'extrémité du réfrigérant sur une profondeur d'au moins de ml, dans le liquide de récupération, ajouter quelques gouttes de phénophtaléine dans le ballon de l'appareil à distiller. (Vérifier l'étanchéité d'assemblage de l'appareil).

On chauffe progressivement le ballon de façon à distiller environ 150 ml, en 30 min. après ce temps, on vérifie la neutralité du filtrat qui s'écoule à l'extrémité du réfrigérant au moyen d'un papier pH ou phénophtaléine. Si la réaction est alcaline, on poursuit la distillation.

Procéder au titrage d'ammoniaque par la solution sulfurique de 0,025 mol/L. Et en parallèle on effectue un essai à blanc (sans filtrat du départ), et on calcul comme suit.

$$T = \frac{(V1-V2) * 2C * 50 * 100}{V * m}$$

- .V1: volume de l'acide sulfurique utilisé pour l'essai, exprimé en ml
- .V2: volume de l'acide sulfurique utilisé pour l'essai à blanc, exprimé en ml;
- .C: est la concentration de l'acide sulfurique, en mol/L;
- .V: volume de prise d'essai pour la distillation, en ml;
- .m: prise d'essai, en g.

La valeur de capacité d'échange cationique T est exprimée en centimoles de charges positives par kilogramme (cmoles+/ kg).

Remarque : on peut effectuer le dosage par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600 nm au lieu de faire un dosage par une solution sulfurique.

iii. Préparation des réactifs

- D'acétate d'ammonium à pH=7,00 et de concentration 1 mol/l :

Dissoudre $77 \pm 0,005$ g d'acétate d'ammonium dans une fiole de $1000 \pm 0,1$ ml, contenant environ $900 \pm 0,1$ ml d'eau. Ajustage du pH à $7,00 \pm 0,05$ au moyen des solutions d'ammoniaque (NH_4OH , 1 mol/L) ou d'acide acétique (CH_3COOH , 1 mol/L) ensuite on complète le volume à 1L.

- Indicateur de Toshiro :

Dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1g de bleu méthylène dans 1000 ml d'éthanol à 95°.

- Phénophtaléine :

Dissoudre 1g de phénophtaléine dans 1000 ml d'éthanol à 95°.

VI. Dosage des métaux lourds

La concentration totale du plomb a été déterminée par attaque triacide suivant la norme N FX 31-147 décrite ci-dessous

VI-1. Sol

Le dosage des métaux étudiés dans le sol consiste à peser 0.5 g du sol et les mettre dans des creusets en verre ; un passage à l'étuve à 105°C pendant 2 heures est nécessaire pour avoir une matière sèche. Les échantillons sont ensuite calcinés à 450°C dans le four pendant 3 heures et la mise en solution est obtenue à partir d'un mélange de 10 ml d'acide fluorhydrique 40% (HF) et 3 ml d'acide perchlorique 70% (HClO₄); ce mélange s'évapore sur une plaque chauffante à 160°C. La poudre très fine obtenue a été mise en solution avec 1ml acide nitrique 65% dans des fioles graduées de 100 ml en polypropylène ; ensuite portées à ébullition dans un bain-marie et complétés par de l'eau distillée (100 ml) [cité in Zerrouki *et al.*,2013]

VI-2. Plantes et Vers de terre

Ils ont fait l'objet d'une série d'opérations qui sont :

- Déshydratation des graines : la méthode habituelle est la déshydratation en étuve à 105±2 °C pendant 72 heures.
- Broyage : cette étape est éminemment critique car elle peut être source de contamination ou de perte. Pour cela, le broyeur utilisé est un mortier en agate. Les matériaux constituant le broyeur sont le titane et l'acier garantis sans « métaux lourds ». 0.5 à 1 g de la poudre obtenue est calcinée dans un four dont la température est augmentée progressivement jusqu'à 450°C, à l'aide des capsules en quartz.
- Minéralisation et mise en solution : la poudre fine obtenue, après calcination, est placée dans une solution d'acides (10 ml d'acide fluorhydrique HF 40% et 3 ml d'acide perchlorique ClHO₄ 70%) puis chauffée dans un bain de sable sous la haute, jusqu'à l'évaporation totale de la solution (minéralisation à chaud).

En dehors du bain de sable on lui ajoute 1 ml d'acide nitrique HNO₃ et 10 ml d'eau distillée et on la laisse 30 min ; après on les places dans le bain de sable jusqu'à effervescence (minéralisation à froid)

- Filtration et dilution : après filtration les extractions obtenues sont diluées avec 100 ml d'eau distillée pour la plante et 50 ml pour les vers de terre.

Le dosage du plomb est réalisé par spectrométrie d'absorption atomique.

VII. Analyse statistique

Le traitement statistique a été effectué à l'aide de deux progiciels STATISTICA 12 et SPSS 20. Les données obtenues ont été soumises à plusieurs analyses : Statistiques descriptives, ANOVA, ANOVAR et analyse de corrélation et analyse canonique des corrélations ACC. Les différences ont été considérées comme significatives à $P \leq 0.05$ (*), très significatives à $P \leq 0.01$ (**), hautement significatives à $P \leq 0.001$ (***) et non significatives (NS).

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- A Kabata-Pendias et A.B. Mukherjee. Trace elements from soil to human. NewYork: Springer-Verlag, (2007).
- Blouin M, Barot S, Lavelle P. Earthworms (2006), *Millsonia anomala*, *Megascolecidae* do not increase rice growth through enhanced nitrogen mineralization, *Soil Biology and Biochemistry*; 38, pp.2063–2068;
- Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Brun J.J., (2013), A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services, *European Journal of Soil Science*, 64, pp.161–182;
- Brown, G., Pashanasi, B., Villenave, C., Patron, J., Senapati, B.K., Giri, S., Barois, I., Lavelle, P., Blanchart, E., Blakemore, R.J., Spain, A.V., Boyer, J., (1999). Effects of earthworms on plant production in the tropics, in: Lavelle, P., Brussaard, L., Hendrix, P.F. (Eds.), *Earthworm Management in Tropical Agroecosystems*. p. 87–147.
- Brown, G.G., Barois, I., Lavelle, P., (2000). Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology* 36, 177–198.
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, *Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*, ADEME, France, pp.46–90;
- Edwards C.A. & Bohlen P.J. (1992). The effects of toxic chemicals on earthworms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 125, 23-99.
- Gong, B., Wilke, M., Strozzi, E., Fleischmann, S., (2001). Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use in the ecotoxicological assessment of soils. *Chemosphere* 44, 491–500.

- Huynh T.M.D., (2009). Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Jusselme, M.D., Poly, F., Miambi, E., Mora, P., Blouin, M., Pando, A., Rouland-Lefèvre, C., (2012). Effect of earthworms on plant Lantana camara Pb-uptake and on bacterial communities in rootadhering soil. *The Science of the total environment* 416, 200–7.
- Kebir, T (2012). Étude de contamination, d'accumulation et de mobilité de quelques métaux lourds dans des légumes, des fruits et des sols agricoles situés près d'une décharge industrielle de l'usine al zinc de la ville de ghazaouet. Thèse de doctorat de l'université de Tlemcen.
- Lavelle, P. (1988). Earthworms and the soil system, *Biol. Ferti. Soils* 6, 237–251.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J.-P., (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42, S3– S15.
- Lavelle, P., Pashanasi, B., Charpentier, F., Gilot, C., Rossi, J.P., Derouard, L., Andre, J., Ponge, J.F., Bernier, N. (1998). Large-scale effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics, in: Edwards C.A. (Ed.), *Earthworm Ecology*, St. Lucie Press, Boca Raton, USA, 103–122.
- Maatoug M., Amirat M., Zerrouki D., Ait Hammou M., (2013), Decontamination of Agricultural soil polluted with lead using the common barley (*Hordium vulgare*)
- N Bityutskii., Kaidun P., Yakkonen K., (2016), Earthworms can increase mobility and bioavailability of silicon in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, vol.99, pp.47-53;

Partie C : Résultats et Discussion

Dans cette partie, les résultats et la discussion sont répartis en sept chapitres :

- Le chapitre 1 concerne la concentration du plomb dans les sols de l'expérimentation et les facteurs qui influencent sa rétention et son accumulation.

- Le chapitre 2 : les vers de terre ont un impact favorable sur les sols, dans ce chapitre nous résumons l'impact de l'activité des vers de terre sur quelque paramètre physico-chimique des sols utilisés en comparant entre les 3 systèmes.

- Les chapitres : 3, 4 et 5 concerne une étude approfondie de chaque système pour les interactions :

« Sol- Orge- Plomb »

« Sol- Vers de terre- Plomb »

« Sol- Orge- Vers de terre et Plomb »

-Le chapitre 6 concerne l'impact du plomb sur la croissance pondérale des vers de terre, avec une comparaison intra et inter systèmes afin de déceler l'effet (i) de la présence/absence de l'orge et (ii) des différentes concentrations de plomb sur la variation du poids des vers de terre *Lumbricus* sp.

- Le chapitre 7 concerne l'efficacité de l'association « Orge - Vers de terre » pour la dépollution des sols contaminés par plomb.

- Une étude des relations entre les caractéristiques du sol et la bioaccumulation du plomb par les deux organismes par l'analyse canonique des correspondances fait l'objet d'une conclusion de la discussion.

Chapitre 1 : Rétention du plomb par le sol

Chapitre 1 : Rétention du plomb par le sol

Le plomb peut constituer un danger pour l'environnement s'il se déplace dans le sol et contamine les nappes phréatiques et les eaux de surface, ou, s'il est transféré aux organismes vivants. Plusieurs facteurs affectent la mobilité et la biodisponibilité du plomb : le pH, la texture du sol (surtout sa teneur en argile) et la teneur en matières organiques. [Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999].

Le niveau de contamination d'un sol dépend de l'importance des émissions des polluants vers le sol et des phénomènes responsables de la rétention des polluants.

La granulométrie et la texture du sol influencent les propriétés mécaniques de la phase solide du sol (porosité et perméabilité) et déterminent l'importance de la surface spécifique. [Pagotto C., 1999]

Le sol étudié est un sol agricole de texture sableuse, ses caractéristiques physico-chimiques sont représentées dans le Tableau 4 .

Tableau 4: Caractéristiques physico-chimiques du sol

Paramètres	Moyenne ± SD	Minimum	Maximum
Argile (%)	24,51±3,73	15,30	34,35
Limon (%)	9,54±5,90	0,77	25,54
Sable (%)	65,98±5,49	45,95	74,49
MO (%)	2,30±0,37	1,50	3,12
pH_{eau}	7,42±0,57	6,39	8,34
CEC(meq100⁻¹g)	11,93±3,20	0,13	18,55
CE (µs/cm)	831,27±273	335,00	1485,00
Mn (ug/g)	957,07±549.05	10,35	2123,58
Fe (ug/g)	261,37±66.95	137,39	480,59
Cu (ug/g)	34,11±39.44	1,54	156,68
Zn (ug/g)	18,21±25.91	0,18	135,77
Cd (ug/g)	0,12±0.09	0,00	0,36
Cr (ug/g)	104,07±36.58	1,45	206,13

Les constituants de la phase solide du sol tels que les teneurs en minéraux argileux, matière organique, oxydes et hydroxydes conditionnent les capacités d'adsorption du sol. [Pagotto C., 1999]

1. Teneurs du plomb dans le sol

Les concentrations du sol en plomb dans les blocs de chaque système avant et à la fin de l'expérimentation sont représentées dans la figure 11.

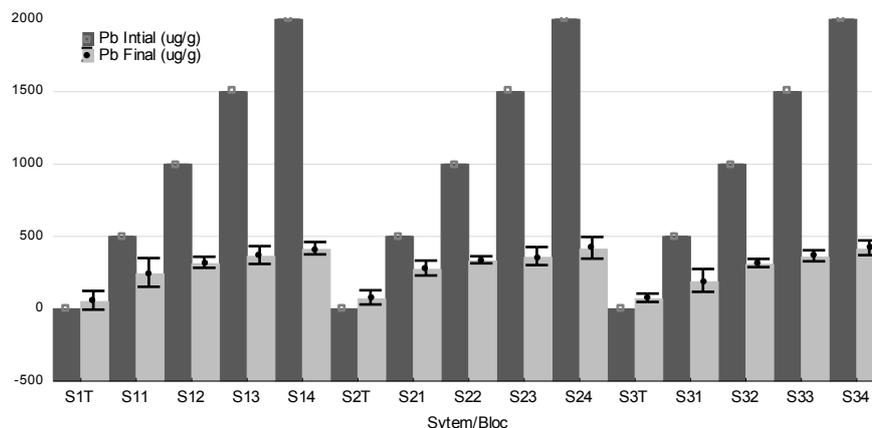


Figure 11: Concentrations du plomb dans le sol de l'expérimentation

Nous constatons que les concentrations finales du sol ont fortement diminué par rapport aux concentrations initiales, une corrélation positive est observée entre les niveaux de contamination et les concentrations du sol ($r=0.94^{***}$) avec un effet hautement significatif ($p<0.001^{***}$).

La toxicité des métaux ne dépend pas uniquement de la concentration totale mais aussi de leur réactivité et mobilité avec les autres composants de l'écosystème [Abollino *et al.*, 2002] de nombreux auteurs classent cette réactivité selon l'ordre $Ni>Zn>Cu>Pb$ [Kabala and Szerszen, 2002], le plomb est généralement trouvé dans les horizons de surface (0-20 cm) que dans les couches profondes du sol [Contat, et al., 1991]. Plusieurs facteurs affectent sa mobilité et sa biodisponibilité : le pH, la texture du sol (surtout la teneur en argile) et la teneur en matière organique.

Le plomb dissous dans l'eau du sol est sous la forme de Pb^{2+} , l'adsorption sur les sites d'échange cationique des argiles ou de la matière organique peut diminuer la mobilité et la disponibilité du plomb à court terme. L'érosion des sols par le vent ou l'eau est une voie importante par laquelle les sols contaminés au plomb peuvent migrer et contaminer le milieu environnant [Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999].

La solubilité et la mobilité initiale du plomb dans le sol dépendront du type de composé de plomb qui aura été ajouté au sol, par exemple, les chlorures de plomb, les acétates de plomb et les nitrates de plomb sont très solubles et seront facilement lessivés des sols [Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999].

La concentration de la solution du plomb (dose de contamination) ajoutée au sol est aussi un facteur qui influence les concentrations du plomb dans le sol, d'un autre côté, seule la fraction adsorbée à l'argile et à la matière organique reste dans le sol ; la texture sableuse du sol utilisé explique les faibles concentrations retenues par le sol.

2. Rétention du plomb par le sol et les facteurs qui l'influencent

Le niveau de contamination d'un sol dépend de la quantité du polluant apporté au sol et des phénomènes responsables de la rétention des polluants (la granulométrie du sol, la quantité de matière organique, sa texture, le pH, CEC...). L'influence de ces paramètres sur la rétention du plomb dans le sol, exprimée par des corrélations et des analyses de variance est résumée dans le tableau 5

Tableau 5: Corrélation et analyse de variance entre le plomb du sol et les paramètres physico-chimiques du sol.

	Pb-sol					
	Sol-Plante		Sol-Ver de terre		Sol-Plante-Ver de terre	
	Corrélation	ANOVA à un seul facteur	Corrélation	ANOVA à un seul facteur	Corrélation	ANOVA à un seul facteur
pH	r= -0.79***	<0.001	r= -0.86***	<0.001	r= -0.75***	<0.001
CEC	r=0.30 NS	<0.01	r= -0.24 NS	<0.001	r=0.43 NS	<0.001
CE	r=0.09 NS	<0.01	r=0.48**	<0.001	r=0.61**	<0.01
MO%	r= -0.12 NS	<0.05	r= -0.05 NS	<0.001	r= -0.05 NS	<0.01
A%	r=0.39 NS	<0.001	r=0.02 NS	<0.001	r=0.32NS	<0.01

L'influence des paramètres physico-chimiques du sol sur la rétention du plomb est significative comme l'indique les analyses de variance rapportées dans le tableau 5.

Les éléments métalliques, une fois introduits dans l'environnement, demeurent dans le sol et ne sont pas dégradés contrairement aux polluants organiques. Les seules exceptions sont le mercure et le sélénium qui peuvent être, au moins partiellement, volatilisés grâce à l'action de microorganismes ou de plantes. [Moussavou, 2010]

Le comportement des ETM dans les sols dépend notamment d'interactions physicochimiques entre les ions métalliques et les particules organiques et minérales du sol. Le piégeage des ETM par les composés du sol peut se faire de plusieurs manières [Deschamps *et al.* 2006].

Le pH et les conditions d'oxydoréduction dans le sol jouent un rôle important dans la mobilité des métaux : un sol à pH acide entraîne la désorption des cations métalliques et donc leur mise en solution sous forme de sels métalliques [Deschamps *et al.*, 2006]. A l'opposé, un pH neutre à basique aura plutôt tendance à immobiliser les ETM et donc à réduire fortement leur absorption par voie racinaire. Cependant, tous les ETM ne sont pas solubilisés et donc mobiles aux mêmes valeurs de pH ; par exemple, le plomb et le cuivre ont une mobilité moyenne à pH acide; et à un pH neutre-alkalin, le zinc, le plomb et le cadmium ont une mobilité faible dans le sol [Moussavou, 2010].

D'après Cecchi [2008], dans la mesure où la mobilité du plomb est majoritairement contrôlée par des phénomènes d'adsorption ou de précipitation/dissolution, la mobilité va être dépendante de la composition minéralogique du sol, notamment de la teneur en phase adsorbante (matière organique, argile, oxydes...).

Les caractéristiques minéralogiques et chimiques des sols neutres et alcalins sont plutôt favorables à un piégeage du plomb par précipitation ou co-précipitation minérale (carbonates, oxydes...). À l'inverse, dans les sols acides, le plomb semble lié à la fraction échangeable et a donc une plus grande mobilité potentielle. [Cecchi., 2008]

La nature et la concentration des ions et molécules de la solution du sol affectent les concentrations des polluants dans le sol. En effet la rétention d'un contaminant dans le sol dépend de sa nature, de sa charge, et de sa taille. Elle est également fonction de la nature des autres éléments présents en solution : des phénomènes de compétition peuvent avoir lieu. Par exemple, Christensen [1984], cité par [Singh et Steinnes, 1994] rapportent une diminution de 30 % de la rétention du cadmium lorsque la concentration en calcium est multipliée par 10. Il attribue ce phénomène à une compétition du calcium. La quantité des éléments en solution

gouverne l'apparition de certains mécanismes (précipitation) et l'intensité des phénomènes : la force ionique affecte les équilibres chimiques (constantes).

Yong *et al.*, [1992] rapportent que le pH joue un rôle sur les différents mécanismes chimiques de rétention. Il conditionne la dissociation des protons des fonctions carboxyliques, phénoliques et hydroxydes. Et, par conséquent, il gère la charge des particules et l'échange d'ions. De plus, son augmentation renforce la stabilité des complexes : métaux - matière organique ; et favorise la précipitation des hydroxydes [Sigg *et al.*, 1992]. D'une façon générale, les cations métalliques sont plus mobiles sous des conditions acides [Alloway, 1995].

La charge électronégative des argiles les rend aptes à contracter des liaisons électrostatiques avec toute entité chargée positivement, comme les cations métalliques. Ces liaisons sont réversibles et les cations fixés sont échangeables : ils peuvent être remplacés par d'autres cations présents dans la phase aqueuse du sol. Cette capacité d'échange de cations (CEC) exprimée en milliéquivalents pour 100 g est une caractéristique importante de chaque argile qui conditionne grandement la biodisponibilité d'un métal dans le sol, cité in Zerrouki, [2014]

3. Conclusion

Une différence importante est observée dans la fixation du plomb par le sol suivant les doses apportées dans les différents systèmes/blocs au début de l'expérimentation, la distribution granulométrique confère au sol des propriétés particulières, notamment en ce qui concerne la fixation des polluants. La nature minéralogique des éléments constituant la terre fine (< 2 mm) varie beaucoup d'une classe granulométrique à l'autre et conditionne les processus d'échanges chimiques. On notera en particulier que les minéraux argileux, du fait de leurs propriétés colloïdales et de leurs grandes surfaces spécifiques, favorisent les phénomènes d'adsorption. La rétention des polluants sera ainsi plus élevée dans les sols riches en argiles. [Pagotto, 1999], la nature sableuse du sol utilisé dans notre étude explique les faibles concentrations du plomb trouvées par rapport aux doses ajoutées.

La concentration du plomb dans le sol est influencée par ces paramètres physico-chimiques (pH, CEC et la teneur en matière organique...). Cependant d'autres facteurs peuvent modifier (augmenter ou diminuer) la rétention du plomb par le sol par exemple : la quantité et la forme sous laquelle le contaminant est apporté.

Référence

- Abollino O1, Aceto M, Malandrino M, Mentasti E, Sarzanini C, Barberis R. (2002). Distribution and mobility of metals in contaminated sites. chemometric investigation of pollutant profiles. *Environ Pollut.* 2002;119(2):177-93.
- Alloway B J., (1995). The mobilisation of trace elements in soils. *Proceeding contaminated soils, 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris, France, 15-19 May, p.133.*
- Cecchi M., (2008). Devenir du plomb dans le système sol-plante cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (fève et tomate), thèse de doctorat de l'université Toulouse.
- Christensen, T.H. (1984). Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH and calcium. *Water Air Soil Pollut.* 21, pp.105-114.
- Conseil canadien des ministres de l'environnement. (1999). *Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Environnement et santé humaine — plomb 1999, dans Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999, Winnipeg, le Conseil.*
- Contat F., Shariat-Madari H., Stadelmann F.X., (1991), Déposition et accumulation de plomb le long de quatre secteurs autoroutiers de 1978 à 1988 - I. Evolution en fonction des années, des saisons et de la météorologie, *Schweiz. Landw. Fo. (Recherche agronomique en Suisse), 30, 1-2, pp.29-43.*
- Deschamps T., Benzaazoua M., Bussièrre B., Belem T., Mbonimpa M., (2006). Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels. *VertigO – La revue en sciences de l'environnement 7 : pp.1-11.*
- Kabala, C., et Szerszen, L., (2002), Profile distributions of lead, zinc, and copper in Dystric Cambisols developed from granite and gneiss of the Sudetes Mountains, Poland. *Water, Air, & Soil Pollution*, 138, pp.307-317;
- Moussavou M. (2010)., Etude des mécanismes d'accumulation du cadmium chez *Arabidopsis thaliana* (écotype Wassilewskija) et chez un mélèze hybride (*Larix x eurolepis*) par des approches moléculaire et développementale. Thèse de doctorat de l'université de LIMOGES

- Pagotto C., (1999)., Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier, Thèse de doctorat de l'université de POITIERS.
- Sigg L., Behra, P., Stumm, W., (1992). Chimie des milieux aquatiques. Masson : Paris 567 p .
- Singh B., et Steinness E., (1994). Soil and water contamination by heavy metals. In soil processes and water quality, ed : Lewis., pp.233-271.
- Yong R.N., Mohamed A.M.O., Warkentin B.P., (1992). Principles of contaminant transport in soils. Edition Elsevier, 327 p.
- Zerrouki D., (2014), Phytoremédiation d'un sol agricole contaminé par les métaux lourds (Pb, Zn et Cu) en milieu routier à l'aide de l'orge *Hordeum vulgare* .L et de tournesol *Helianthus annuus* . L. thèse de doctorat de l'université de sidi bel Abbes.

Chapitre 2 : Effet de l'activité des vers de terre sur le sol

Chapitre 2 : Effet de l'activité des vers de terre sur le sol

Dans le quatrième et le sixième chapitre, nous avons mis en évidence l'influence de l'activité des vers de terre sur la phytoextraction du plomb par l'orge.

Dans ce chapitre, nous avons souhaité porter un intérêt aux mécanismes par lesquels les vers de terre peuvent agir sur la plante et sur le sol, pour cela nous avons focalisé notre étude sur la comparaison entre quelques paramètres physico-chimiques du sol, afin de déceler l'effet que peut avoir la présence ou non des vers de terre sur le sol et ses caractéristiques.

Il est avéré que les plantes peuvent modifier leurs milieux (au niveau de la rhizosphère) dans les processus de prélèvement des éléments nutritifs ; l'interaction entre l'activité des vers de terre et celle de la plante peut modifier les paramètres physico-chimiques du sol et, donc, influencer la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol.

1. Comparaison des propriétés physico-chimiques des sols obtenus.

Brown *et al.*, [1995 a] soulignent que le processus de phytoextraction des métaux dépend de la biodisponibilité du métal dans le sol. La biodisponibilité peut être influencée par plusieurs facteurs (abiotiques et biotiques) dans l'environnement. Par ailleurs, il est bien connu que les vers de terre influencent fortement les propriétés physiques et chimiques du sol, leur rôle est donc à prendre en considération dans la biodisponibilité des métaux [Huyhn T M D., 2009].

1.1. Effet de l'activité des vers de terre sur le pH du sol

Il est bien établi que le pH du sol est un facteur clé qui affecte les comportements d'adsorption-désorption et donc la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol. Il est donc important de déterminer les changements de pH induits par l'activité des vers de terre [A Lemtiri *et al.*, 2016 ; Wen B, 2004].

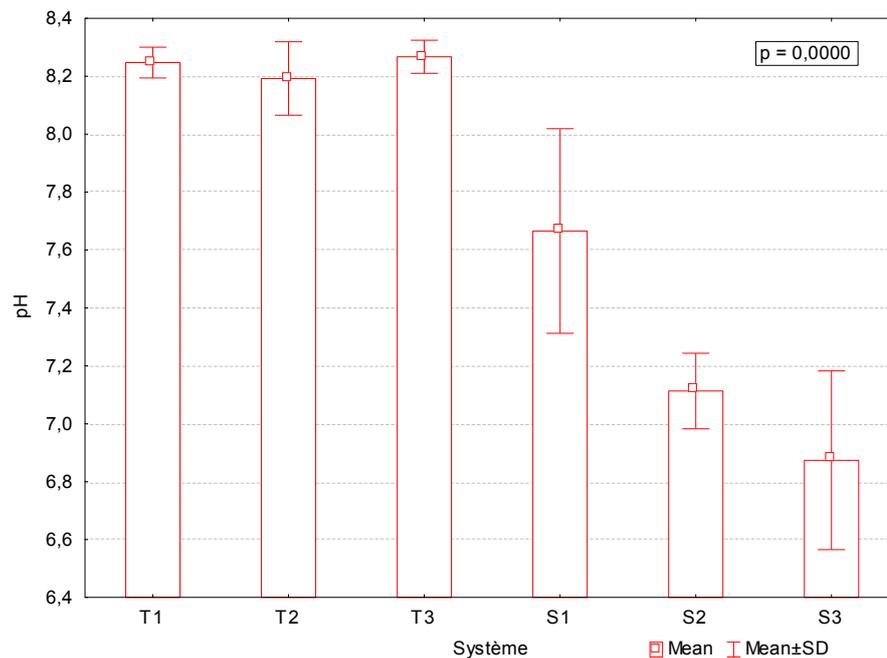


Figure 12: Effet de l'activité des vers de terre sur le pH des sols de l'expérimentation (S: sol pollué, T: sol témoin)

A l'examen de la figure 12, il paraît évident qu'il existe une différence hautement significative du pH du sol entre les systèmes ($p < 0.001$). Nous avons constaté que la présence ou l'absence des organismes (plante et vers de terre) dans les sols témoins n'affecte pas les valeurs du pH qui est de l'ordre de (8.24 ± 0.08) .

Par ailleurs, dans les sols pollués par le plomb le pH a fortement diminué et une différence remarquable est enregistrée entre les trois systèmes. Römheld [1986] et Hinsinger [2001] soulignent que le pH peut-être modifié par l'activité d'échange des racines : pour maintenir leur neutralité électrique, la plante a un effet compensatif de leur absorption ionique par une excrétion des charges au niveau racinaire. Quand elle prélève davantage de cations que d'anions, les racines compensent en relâchant dans la rhizosphère un excès de charges positives sous forme de protons, ce qui entraîne une acidification du milieu.

La présence de *Lumbricus* sp dans le sol diminue de façon significative le pH, des observations similaires ont été effectuées par d'autres auteurs. Huynh T.M.D. [2009] ; Cheng et Wong, [2002] et Yu et Cheng, [2003] rapportent que dans un sol contaminé au Zn, l'activité des vers de terre entraîne une diminution du pH du sol (0,2 - 0,5 unités). En théorie, la diminution de pH d'un sol riche en métaux devrait augmenter leur biodisponibilité. Effectivement, Sanders *et al.* [1986] ont montré que si le pH du sol diminue d'une unité, la concentration de métal libre augmente d'un facteur 2, et par conséquent améliore le processus de phytoextraction [Sanders *et al.*, 1986].

L'effet des vers de terre sur le pH du sol est plus prononcé que celui de la plante avec un pH de (7.11 ± 0.13) pour les vers de terre et (7.67 ± 0.35) pour la plante. L'association de ces deux organismes dans le même sol induit un pH nettement plus bas que quand ils sont séparés, le pH diminue alors jusqu'à (6.87 ± 0.31) .

Hu *et al.* [1998] ont observé que l'activité des vers de terre augmente le pH du sol en raison de l'excrétion des composés de calcium dans l'environnement par les glandes calcifères.

Cependant, il faut souligner que tous les vers de terre, avec ou sans glandes calcifiées, augmentent le pH du sol [Cheng et Wong, 2002] en raison de leur urine alcaline [Salmon, 2001].

Le changement de pH vers la neutralité peut-être dû à la minéralisation de l'azote et du phosphore en nitrites ou nitrates et orthophosphates [Kaviraj et Sharma, 2003]. La diminution du pH pourrait également être due à la production de CO₂, d'ammoniac, de NO⁻³ et d'acide organique pendant le processus de coulée, comme l'a suggéré Yadav *et al.* [2010] et Song *et al.* [2014]. Elvira *et al.* [1998] ont rapporté que l'action conjointe des vers de terre et la décomposition microbienne conduisent à un pH faible dans les vermicomposts.

Les résultats que nous avons obtenus concordent avec ceux de Cheng et Wong [2002] qui montrent que l'activité du ver de terre (*Pheretima* sp.) a diminué le pH d'un sol acide rouge. Cette différence observée entre les différentes études peut-être due aux vers de terre utilisés (la famille, la catégorie écologique...)

1.2. Effet de l'activité des vers de terre sur la CEC, la MO et la CE

Les valeurs de la capacité d'échange cationique, la matière organique et la conductivité électrique, mesurées dans les sols sont représentées dans la figure 13,

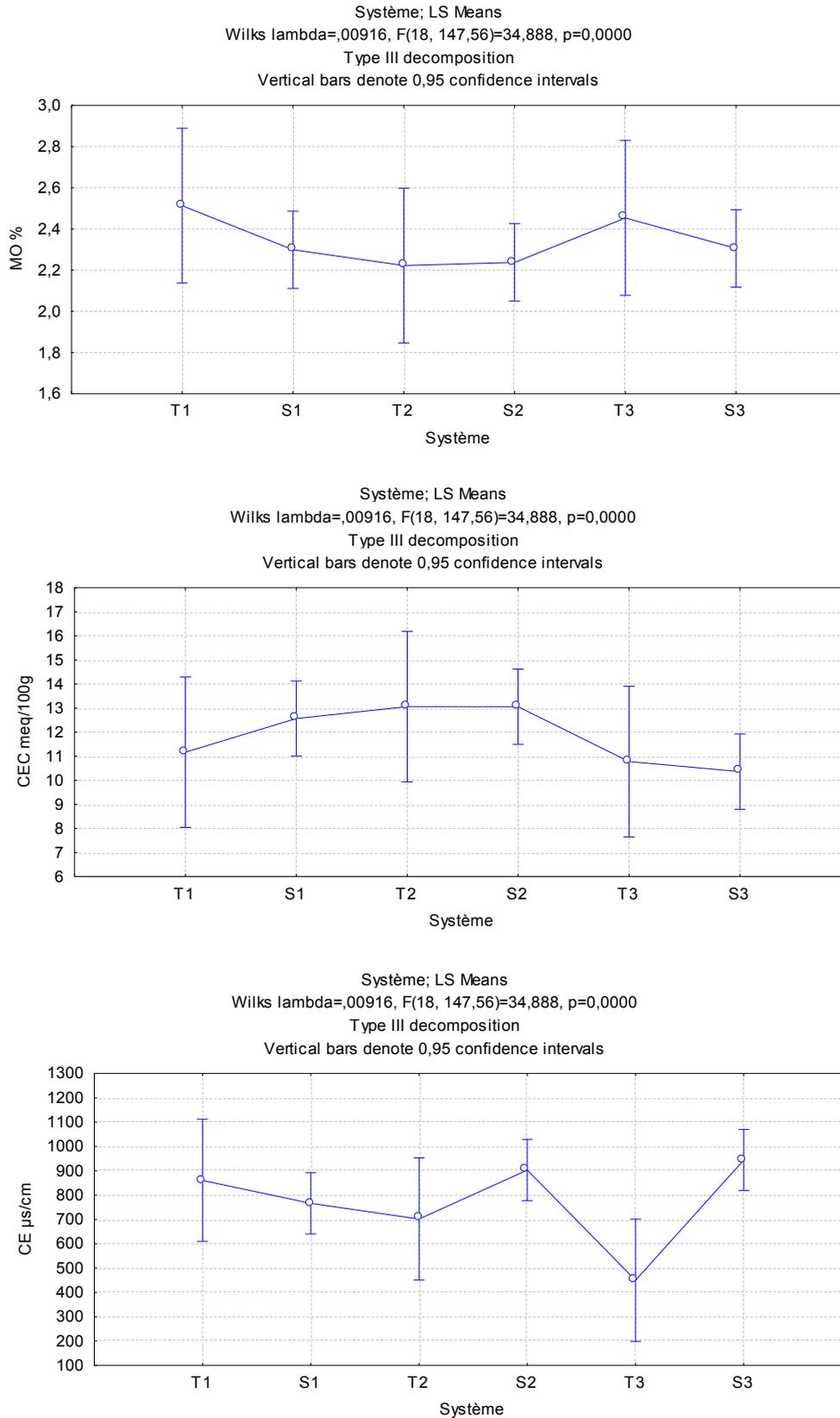


Figure 13: Variation de la MO (a), la CEC (b) et la CE (c) du sol en présence/absence des vers de terre et/ou de la plante.

A l'examen de la figure (13, a), une différence significative des valeurs de la MO du sol est constatée entre les systèmes ($p < 0.001$). Les valeurs les plus basses sont enregistrées dans les sols du système 2 en présence des vers de terre avec ou sans pollution (S2, T2).

L'association des vers de terre et de l'orge diminue significativement la CEC dans les sols témoins et pollués (figure 13, b) par rapport aux autres systèmes. Une différence significative ($p < 0.001$) est constatée entre les valeurs de la CEC et de la CE des trois systèmes. (figure 13, b, c)

Un net effet de la pollution par le plomb sur la CE est observé dans le système 3 en présence de la plante et des vers de terre, avec la valeur la plus basse enregistrée dans les sols témoins et la valeur la plus importante dans les sols pollués.

L'activité du ver de terre *Metaphire posthuma* diminue le pH, CE, K, Na, Ca, et les métaux lourds, tandis qu'elle augmente le N, P et CO dans les vermicomposts. [S. Singh *et al.* 2016]. Ketterings *et al.*, [1997] et Bossuyt *et al.*, [2004] rapportent que les vers de terre améliorent l'incorporation des résidus végétaux dans les agrégats du sol, créant une porosité du sol et un agrégat stable par leurs activités d'enfouissement, de formation d'humus, et de compostage et affectant également la localisation de la matière organique dans le sol.

Singh *et al.*, [2014] rapportent également que la conductivité électrique (CE) diminue significativement du sol au vermicompost. Cette diminution de la CE peut-être due à la perte de matière organique et à la libération de différents sels minéraux sous des formes telles que le phosphate, l'ammonium et le potassium.

1.3. Effet des vers de terre sur la concentration des métaux et nutriments du sol

Les moyennes des concentrations de Cu, Zn, Cd, Cr, Mn et Fe dans les sols de l'expérimentation (en $\mu\text{g g}^{-1}$) regroupés par système (sol témoin et sol pollué) sont illustrées dans la figure 14.

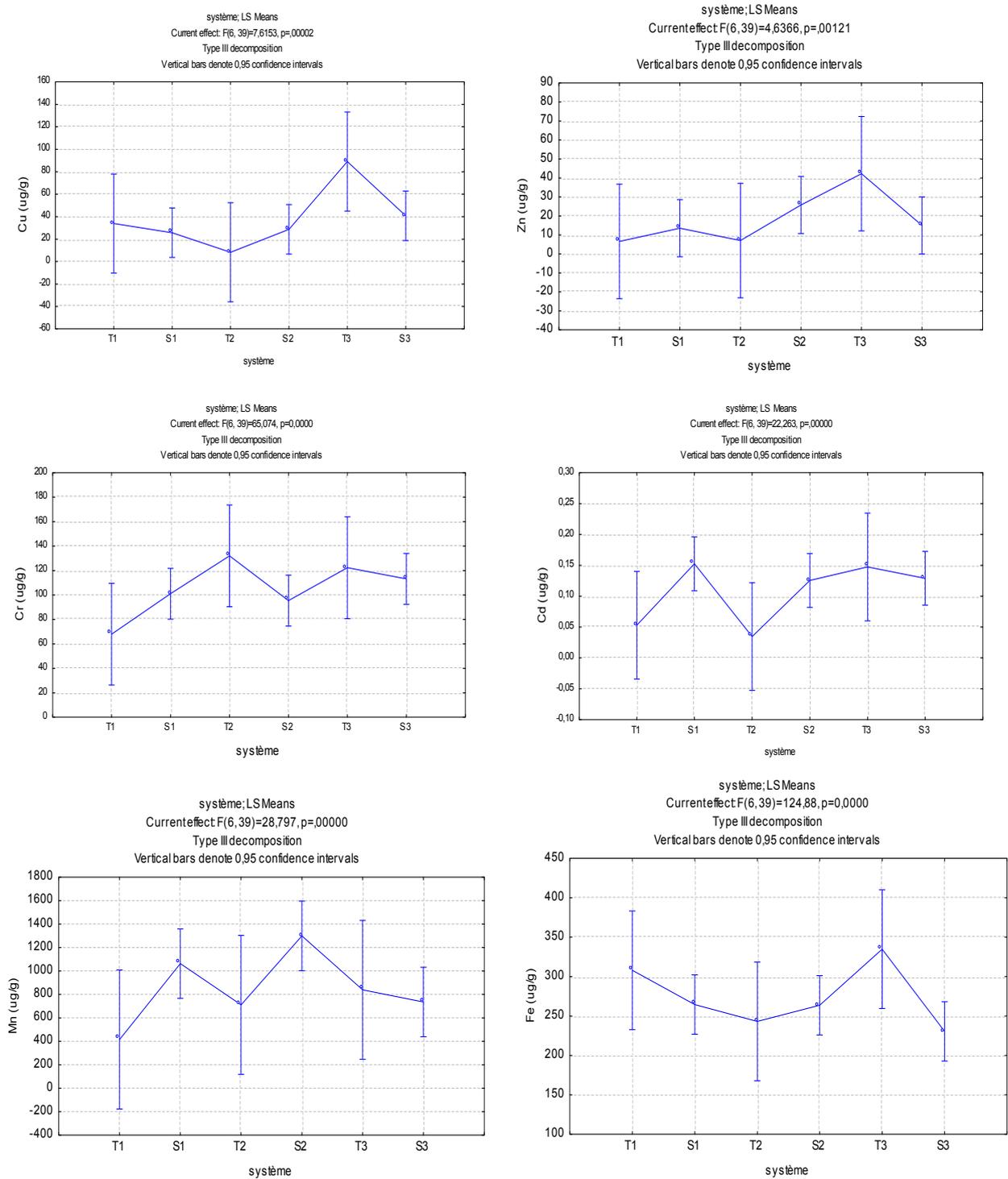


Figure 14: Concentrations des métaux et nutriments dans les sols de l'expérimentation Cu (a); Zn (b); Cr (c) ; Cd (d) ; Mn (e); Fe (f).

Les concentrations totales des métaux enregistrées dans les sols sont significativement différentes entre les systèmes : Cu ($p < 0.001$) ; Zn ($p = 0.001$) ; Cr ($p < 0.001$) ; Cd ($p < 0.001$) ; Mn ($p < 0.001$) ; Fe ($p < 0.001$).

A la fin de l'expérimentation, la teneur en cuivre la plus élevée est enregistrée dans le sol témoin qui comprend l'association entre la plante et les vers de terre (T3) mais aussi les teneurs en Zn, Cd, Mn et Fe, tandis que le Cr a une valeur plus importante dans le sol témoin comportant les vers de terre (T2).

Par ailleurs, dans les sols pollués les valeurs les plus élevées du Cu et Cr sont enregistrées dans le S3 ; celle du Zn et Mn dans le S2 ; et en fin le Cd et Fe dans le S1. Il semble y avoir un effet système dans les concentrations de ces éléments en absence de pollution par le plomb et en présence de la plante et des vers de terre.

Tersic et Gosar [2012] ont également rapporté dans leur étude que le compost des vers de terre a une teneur inférieure en Pb, Ni, Cr, Fe et Zn par rapport au sol. Le déclin du contenu en métaux lourds dans le vermicompost peut être dû au fait que les vers de terre accumulent des métaux lourds dans les cellules de leur tissu jaune et qu'il y a une variation dans la liaison des métaux avec les ligands de ces tissus qui entraîne une bioaccumulation variable de divers métaux dans les tissus [Suthar *et al.*, 2008].

Bien que relativement peu d'études aient mesuré la concentration de contaminants dans le matériel ingéré par les vers de terre, les résultats publiés confirment la consommation sélective parce qu'il y a une différence marquée entre les concentrations des résidus dans le sol en vrac et les ingesta, à la fois dans le cas de substances organiques à l'état de traces [Diercxsens *et al.*, 1985] et de métaux lourds [Morgan et Morgan, 1992].

Les vers de terre sont l'un des animaux du sol les plus importants qui ont la capacité de maintenir la fertilité du sol et jouent un rôle clé dans la durabilité. Ils sont également connus comme ingénieurs des écosystèmes [Jones *et al.*, 1994]. La fonction la plus importante des vers de terre en tant qu'ingénieur de l'écosystème est son rôle dans la formation du sol et sa contribution à la composition et au fonctionnement de l'écosystème du sol avec une diversité spécifique variée bien expliquée par Jones *et al.* [1994], Lavelle et Spain [2001] et Jouquet *et al.* [2006].

2. Conclusion

L'impacte de l'activité des vers de terre sur le sol se traduit par des modifications des propriétés physiques et chimiques du sol, la présence ou l'absence des organismes (plante et vers de terre) dans les sols témoins n'affecte pas les valeurs du pH qui sont de l'ordre de (8.24 ± 0.08) . Par ailleurs, dans les sols pollués par le plomb, le pH a fortement diminué et une différence remarquable est enregistrée entre les trois systèmes, l'effet des vers de terre sur le pH du sol est plus prononcé que celui de la plante avec un pH de (7.11 ± 0.13) en présence des vers de terre et (7.67 ± 0.35) en présence de la plante. L'association de ces deux organismes dans le même sol induit à un pH nettement plus bas que celui observé quand ils sont séparés, le pH diminue alors jusqu'à (6.87 ± 0.31) , le pH du sol est un facteur clé qui affecte les comportements d'adsorption-désorption et donc la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol. Il est donc important de déterminer les changements de pH induits par l'activité des vers de terre [A Lemtiri *et al.*, 2016 ; Wen B, 2004].

Une variation significative des valeurs de la MO, CEC, CE, Zn, Cu, Fe, Mn, Cd et Cr est constatée entre les sols des différents systèmes et dans un même système entre le sol pollué et le sol témoin. S. Singh *et al.* [2016] rapportent que l'activité du ver de terre *Metaphire posthuma* diminue le pH, CE, K, Na, Ca et les métaux lourds, tandis qu'elle augmente le N, P et CO dans les vermicomposts.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, Applied Soil Ecology., <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Bossuyt, H., Six, J., Hendrix, P.F., (2004). Rapid incorporation of carbon from fresh residues into newly formed stable microaggregates within earthworm casts. *Eur. J. Soil Sci.* 55, 393–399.
- Brown, G.G. (1995). How do earthworms affect microflora and faunal community diversity? *Plant and Soil* 170, 209-231.
- Cheng J., Wong M.H., (2002), Effects of earthworms on Zn fractionation in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 36, pp.72–78;
- Diercxsens, P., de Weck, D., Borsinger, N., Rosset, B., Tarradellas, J., (1985). Earthworm contamination by PCBs and heavy metals. *Chemosphere* 14, 511–522.
- Elvira, C.A., Sampedro, L., Benitez, E., Nogales, R., (1998). Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: a pilot scale study. *Bioresour. Technol.* 63, 205–211.
- Hinsinger P. (2001) Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In *Trace Elements in the Rhizosphere* (ed. G. R. Gobran, W. W. Wenzel, E. Lombi), pp. 25-41. CRC Press LCC, Boca Raton, Florida, USA.
- Hu F, Wu XQ, Li HX, Wu SM (1998) Effects of earthworm and ants on the properties of red soils (in Chinese). In: *Research on the red soil ecosystem*. China Agricultural Science and Technology Publishing House, Beijing, pp 276–258
- Huynh T.M.D., (2009). Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Jones, C.G., Lawton, J.H. and Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69, 373-386.

- Jouquet, P., Dauber, J., Lagerlof, J., Lavelle, P., Lepage, M., (2006). Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Appl. Soil Ecol.* 32, 153–164.
- Kaviraj, Sharma, S., (2003). Municipal solid waste management through vermicomposting employing exotic and local species of earthworms. *Bioresour. Technol.* 90, 169–173.
- Ketterings, Q.M., Blair, J.M., Marinissen, J.C.Y., (1997). Effects of earthworm on soil aggregate stability and carbon and nitrogen storage in legume cover crop agro-ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 29, 401–408.
- Lavelle, P. and Spain, A.V. (2001). *Soil Ecology* Kluwer Scientific Publications, Amsterdam.
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1992), Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologicaly different earthworm species, *Soil Biology & Biochemistry.*, 24, pp.1691-1697;
- Römheld V., (1986). pH-Veränderungen in der Rhizosphäre verschiedener Kulturpflanzenarten in Abhängigkeit vom Nährstoffangebot- *Potash Rev.* 55 : 1-8. Springer-Verlag
- Salmon S (2001) Earthworm excreta (mucus and urine) affect the distribution of springtails in forest soils. *Biol Fertil Soils* 34:304–310
- Sanders J. R., McGrath S. P. and McM Adams T., (1986). Zinc, copper and nickel concentrations in ryegrass grown on sewage sludge-contaminated soils of different pH.-*Journal of Science Food Agriculture*, 37, 961-968.
- Sharanpreet Singh, Jaswinder Singh, Adarsh Pal Vig. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: Soil vs vermicast *Ecological Engineering* 90 (2016) 1–5
- Singh, J., Kaur, A., Vig, A.P., (2014). Bioremediation of distillery sludge into soil-enriching material through vermicomposting with the help of *Eisenia fetida*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 174, 1403–1419.
- Song, X., Liu, M., Wu, D., Lin, Q., Ye, C., Jiao, J., Hu, F., (2014). Heavy metal and nutrient changes during vermicomposting animal manure spiked with mushroom residues. *Waste Manag.* 34, 1977–1983.

- 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.
- Teršič, T., Gosar, M., (2012). Comparison of elemental contents in earthworm cast and soil from a mercury-contaminated site (Idrija area, Slovenia). *The Science of the total environment* 430, 28– 33.
- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004). The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biology and Fertility of Soils* 40, 181–187.
- Yadav, K.D., Tare, V., Ahammed, M.M., (2010). Vermicomposting of source separated human faeces for nutrient recycling. *Waste Manag.* 30, 50–56.
- Yu, X.Z., Cheng, J.M., (2003). Effect of earthworm on bioavailability of Cu and Cd in soils (in Chinese). *Acta Ecologica Sinica* 23, 922–928.

Chapitre 3 : Phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées

Chapitre 3 : Phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées

L'accumulation du plomb par l'orge est influencée par plusieurs paramètres liés au sol mais aussi à la forme sous laquelle se trouve le polluant,

Dans une étude menée par Zerrouki, [2014], sur la bioaccumulation des métaux lourds (Pb, Cu, Zn) par l'orge *in situ*, elle souligne que les paramètres : pH, CEC et le taux d'argile ont un effet non négligeable sur le pouvoir bioaccumulateur de l'orge. Cependant l'interaction entre les différents métaux et les formes sous lesquelles ils sont présents dans le sol peuvent modifier leur bioaccumulation. Pour mieux comprendre le mécanisme de phytoextraction de l'orge dans un sol pollué par un seul métal nous avons étudié l'interaction entre l'orge, le sol et le plomb dans des conditions contrôlées

1. Teneurs du Plomb dans le sol et l'orge

Les moyennes des concentrations accumulées dans le sol et l'orge sont représentées dans le tableau 6

Tableau 6: Statistiques descriptives des concentrations du plomb dans le sol et l'orge du système 1 (sol-plante)

(ug/g)	N	Moyenne	Minimum	Maximum	Écart-type.
Pb-sol	16	331,88	200,00	430,00	66,95
Pb-plante	16	59,44	38,00	75,00	13,16
Pb-Racines	16	25,94	5,00	41,00	13,38
Pb-Tiges	16	18,75	0,00	31,00	10,34
Pb-Feuilles	16	7,13	1,00	13,00	3,519
Témoins –sol	4	50,00	20,00	70,00	21,60
Témoins –plante	4	11,75	9,00	16,00	3,10
Témoins -Racines	4	23,75	21,00	25,00	1,89
Témoins -Tiges	4	13,25	11,00	15,00	1,71
Témoins -Feuilles	4	5,25	2,00	7,00	2,36

Nous constatons à partir du tableau 6 que la concentration du plomb dans le sol du premier système est de l'ordre de $(331.88 \pm 66.95 \text{ ug g}^{-1})$ cette concentration est supérieure à celle enregistrée dans les sols témoins $(50.00 \pm 21.60 \text{ ug g}^{-1})$.

Dans les sols pollués les valeurs enregistrées du plomb dans l'orge ($59.44 \pm 13.16 \text{ ug g}^{-1}$) dépassent largement celles trouvées dans l'orge cultivé dans les sols témoins ($11.75 \pm 3.10 \text{ ug g}^{-1}$). Ces deux valeurs sont nettement supérieures à la norme ($1,38 \pm 1,24 \text{ ug g}^{-1}$) citée par Kabata et al. [2001].

2. Influence des facteurs physico-chimiques du sol sur la phytoextraction du plomb par l'orge en conditions contrôlées.

Les paramètres physico-chimiques du sol influencent la mobilité et la biodisponibilité des métaux dans le sol mais aussi leur phytoextraction par les plantes. Nous avons réalisé différentes analyses statistiques (Corrélation, ANOVA, ANOVAR...) en vue d'étudier ces effets dans des conditions contrôlées et dans le cas d'une pollution monométallique.

2.1. Influence du pH du sol

La corrélation entre le pH du sol et le plomb est illustrée dans la figure 15, sur laquelle, une relation négative est remarquable ($r = - 0,80^{***}$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0.001$) du pH sur le plomb accumulé par la plante (Tableau 7).

Tableau 7: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de pH

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
pH	47946,28	1	47946,28	77,49246	0,000000
Error	11755,72	19	618,72		

Le pH est un facteur prépondérant de la rétention des métaux car il contrôle la totalité des processus affectant le comportement de ces éléments [Bourg, 1988 in Martinelli, 1999].

Les cations métalliques sont plus disponibles à être absorbés par la plante à un pH faible. Différentes interprétations ont été avancées pour expliquer l'influence du pH du sol sur l'accumulation du plomb, cuivre et zinc. McBride [1994]; Blaylock et Huang, [2000] ont trouvé que le Cd, Cu, Hg, Ni, Pb et le Zn sont fortement absorbés par les racines à $\text{pH} < 5,5$; donc il est possible d'augmenter la phytoextraction en ajoutant un agent acide au sol contaminé.

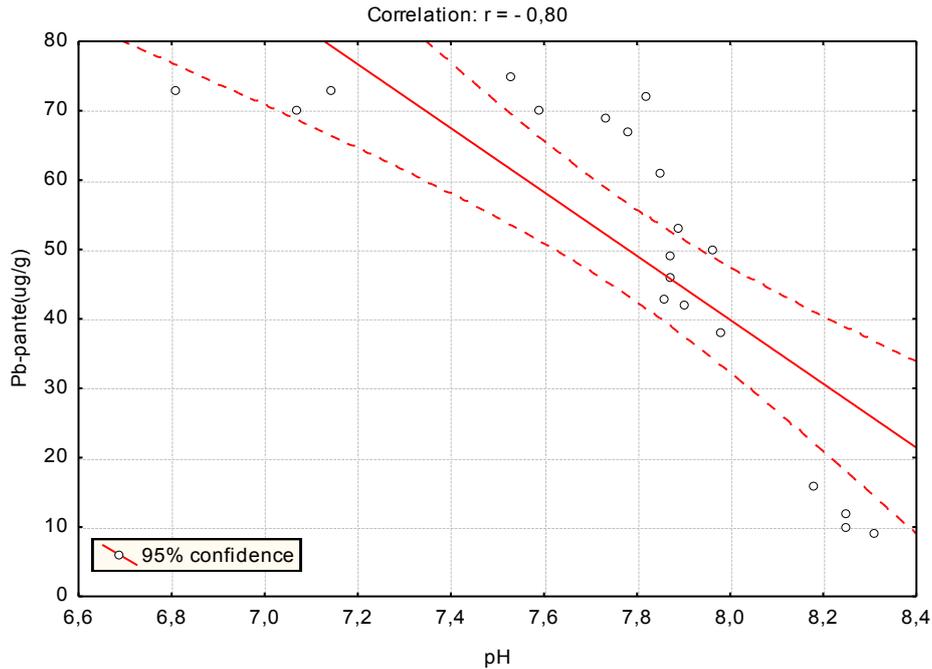


Figure 15: Corrélation entre le pH du sol et la phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées

Le rôle du pH est majoritaire dans la mobilité des métaux, la mise en solution des sels métalliques, la mise en solution des phases de rétention, la désorption des cations et l'adsorption des anions se font dans un milieu acide [Lamy I., 2000].

L'augmentation du pH favorise la déprotonation des complexes aqueux et des groupements fonctionnels de surface des phases solides. Du fait de la diminution des quantités de protons, la compétition entre protons et cations métalliques est plus faible, accélérant ainsi, la formation de nouvelles phases ; la solubilité des cations métalliques diminue alors lorsque le pH augmente. [Liliane., 2007].

2.2. Influence de la CEC

La CEC du sol est corrélée positivement avec les concentrations du plomb dans la plante ($r = 0,24$) comme le montre la figure 16. L'analyse de la variance (tableau 8) indique un effet hautement significatif ($p < 0.001$)

Tableau 8: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la CEC

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
CEC meq/100g	49919,14	1	49919,14	96,95162	0,000000
Error	9782,86	19	514,89		

La capacité d'échange cationique racinaire (CECr) est définie comme une fonction du nombre de sites fixateurs de cations (groupements anioniques) localisés sur les parois cellulaires [Wacquant, 1969 ; Dufey *et al.*, 1985 ; Dufey et Braun, 1986]. Allan et Jarrell [1989] ont montré que la CECr diminue au fur et à mesure que décroît le pH externe.

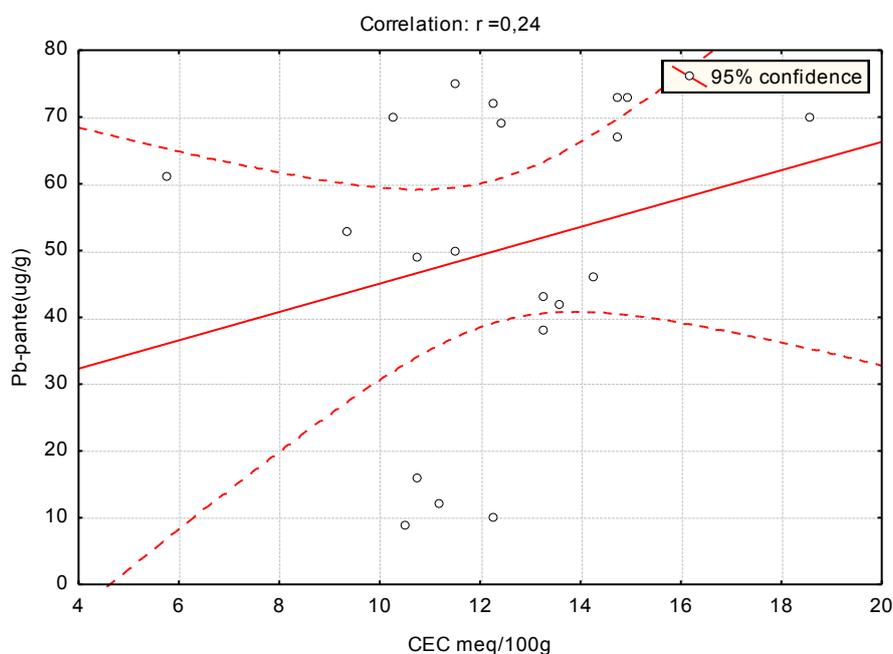


Figure 16: Corrélation entre la CEC et la phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées.

La capacité d'échange de cations est interdépendante et détermine une grande part des quantités de polluants retenus, dont l'adsorption des polluants peut être représentée par la CEC qui correspond à la quantité de cations maximale que le sol peut retenir par adsorption physico-chimique.

Les éléments présents en grandes quantités dans la solution du sol, comme le calcium ou le magnésium, sont transférés à l'interface sol-racine par un flux de masse qui est souvent supérieur à la demande [Lorenz *et al.*, 1994; McLaughlin *et*

al., 1998]. Ces ions peuvent alors s'accumuler dans la rhizosphère et conduire dans les sols calcaires à des précipités de carbonates de calcium, autour des racines [Jaillard, 1985]. A l'inverse les éléments présents en faible quantité dans la solution du sol, comme c'est typiquement le cas des métaux traces (Pb, Zn, Cd, etc....), sont transférés par ce flux de masse en quantité insuffisante par rapport au prélèvement de la plante [Hinsinger, 1998].

L'augmentation de la force ionique c'est-à-dire l'augmentation de la concentration des ions dans la solution favorise l'échange ionique.

2.3. Influence du taux d'argile (A%)

Une corrélation positive entre l'absorption du plomb par l'orge et le taux des argiles ($r= 0,38$) est indiqué dans la figure 17. L'analyse de variance montre un effet hautement significatif concernant cette corrélation ($p<0.001$) (tableau 9).

Tableau 9: Analyse de la variance à un seul facteur : cas des argiles

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
Argile %	51199,65	1	51199,65	114,4146	0,000000
Error	8502,35	19	447,49		

Les argiles sont considérées comme des adsorbants efficaces. Ils sont des silicates (généralement d'aluminium) possédant une structure en feuillets chargés négativement entre lesquels de l'eau et des cations peuvent s'accumuler [Stengel et Gelin, 1998]. Plus le taux d'argile dans le sol est élevé, plus la CEC augmente et plus la plante absorbe le métal ; le transfert du plomb vers la plante, dans ce cas, est passif [cité in Zerrouki, 2014]

Les éléments traces montrent une grande affinité pour les substances humiques avec lesquelles ils forment des complexes argileux humiques stables, éventuellement solubles. Cela explique l'abondance des éléments traces en surface surtout en présence de la matière organique où les éléments traces sont absorbés de manière spécifique par les oxydes de fer et les oxydes de manganèse [Baize, 1997]. Le plomb sera disponible en surface de cette manière.

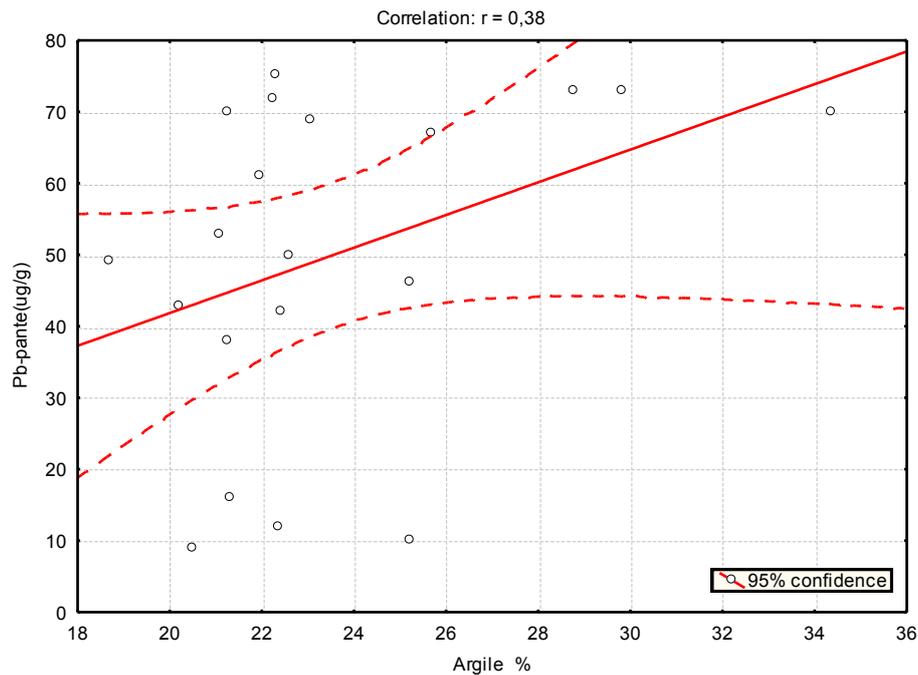


Figure 17: Corrélation entre le taux des argiles (%) et la phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées.

Pour un pH bas, les ions H^+ majoritaires se lient à l'argile plus que les OH^- . Il en résulte une charge globalement positive et l'argile se caractérise par une capacité d'échange anionique. Pour un pH élevé, les ions OH^- dominants conduisent au phénomène inverse, et l'argile développe une capacité d'échange cationique (CEC).

Il existe une relation positive entre l'absorption du plomb par la plante, et le taux des argiles ; plus ce taux est important, plus la CEC est importante, et la plante a un pouvoir accumulateur élevé [cité in Zerrouki, 2014].

Marseille, [2007] a montré que l'argile participe au processus de la rétention des éléments trace métallique, il a déduit une relation entre la teneur en argile et le site d'adsorption. Le nombre de site d'adsorption augmente relativement avec la teneur en argile. Christensen [1984] a signalé la capacité des argiles pour la fixation des métaux lourds et mentionne la grande affinité entre le zinc, le cuivre et les argiles.

Sanders, J.R. [1983], montre que les argiles sont des fractions fines qui interviennent majoritairement lors des phénomènes de rétention et de fixation des métaux lourds.

2.4. Influence du taux de la Matière Organique (MO%)

Une corrélation négative entre l'absorption du plomb par l'orge et le taux de la MO ($r = -0,04$) est indiquée dans la figure 18. L'analyse de variance montre un effet hautement significatif concernant cette corrélation ($p < 0,001^{***}$) (tableau 10).

Tableau 10: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la MO %

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
MO %	48487,68	1	48487,68	82,15089	0,000000
Error	11214,32	19	590,23		

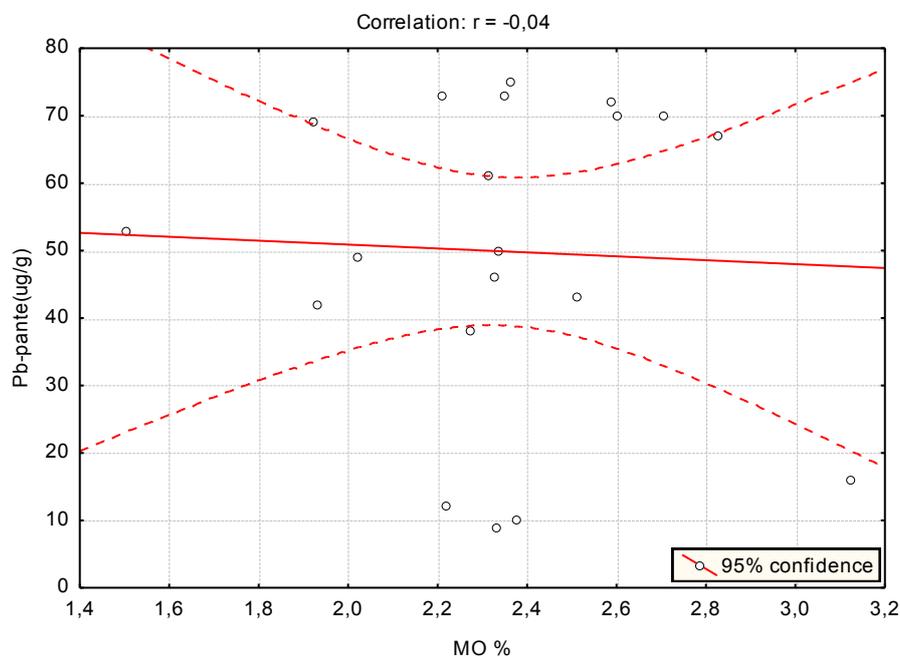


Figure 18: Corrélation entre le taux de la MO (%) et la phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare* en conditions contrôlées.

L'assimilation des éléments par les plantes est fortement dépendante de la biodisponibilité de ces éléments dans le sol. Les constituants du sol, en particulier les argiles et la matière organique peuvent interagir avec les métaux à travers différentes interactions chimiques (interactions électrostatiques...etc.), toutes ces interactions limitent la biodisponibilité de ces métaux dans le sol. [Tanner et Headley ,2011].

La matière argileuse peut retenir le Cu assez fortement. Cette adsorption sur les surfaces argileuses peut expliquer la forte dépendance au pH de la rétention du Cu sur les sols. Cependant, lorsqu'il s'agit des argiles brutes, l'adsorption dépasse légèrement la Capacité d'Échange Cationique, ceci est probablement dû à la présence des impuretés, principalement les Carbonates.

En effet Chocat B. Eurydice., [1997] montre que le zinc et le cuivre se concentrent essentiellement dans les couches superficielles du sol et sont fixés par les argiles et la matière organique, les phases les plus importantes au cours de l'absorption des métaux lourds sont la matière organique, les oxydes de fer, de manganèse et les argiles

3. Corrélation : plomb sol -plomb orge

La corrélation entre le plomb du sol et le plomb accumulé par l'orge est représentée dans la figure 19. Cette corrélation est positive et hautement significative ($r = 0,98^{***}$), D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) du Pb sol sur le plomb accumulé par la plante (Tableau 11).

Tableau 11: Analyse de la variance à un seul facteur : cas Pb sol

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
Pb-sol (ug/g)	59209,64	1	59209,64	2284,870	0,00
Error	492,36	19	25,91		

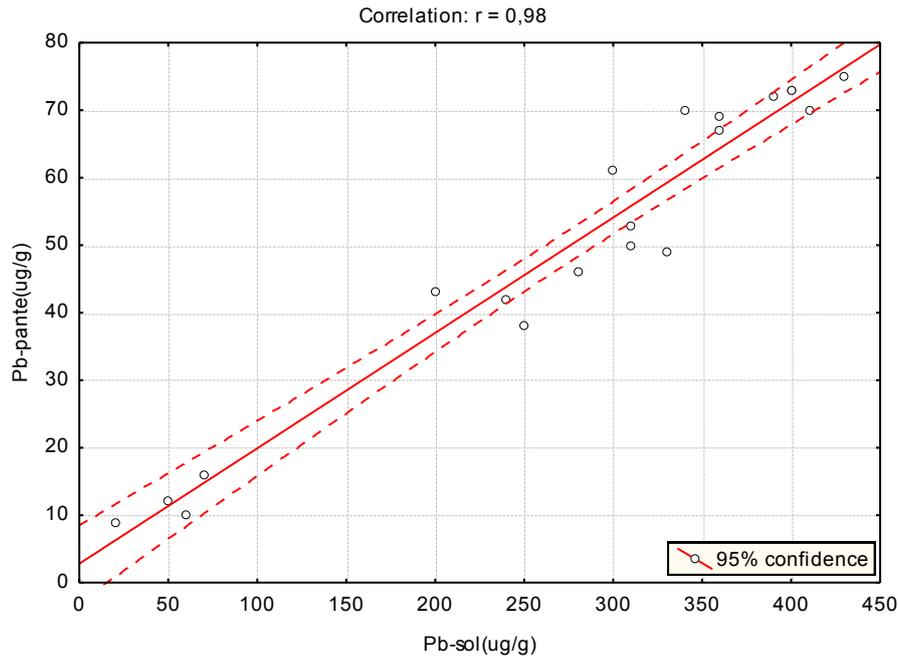


Figure 19: Corrélation : Pb sol – Pb plante (*Hordeum vulgare*) en conditions contrôlées.

Certains auteurs ont constaté la relation croissante monotone, entre la concentration totale en métal dans le sol et la concentration accumulée dans le végétal, après une contamination artificielle d'un sol sain par des solutions salines de métaux [Mahler et al. 1978 ; Mitchell et al. 1978]. Cela peut s'expliquer par le fait que le métal, qui se trouve dans le sol sous la forme ionique, peut s'absorber à partir des sites de surface du sol.

Doelman et Haanstra [1979] ont montré que l'accumulation du plomb, dans les sols de surface, possède une grande importance écologique, car ce métal est connu pour affecter grandement l'activité biologique des sols qui signifié son absorption par les plantes et la microfaune.

En règle générale, les concentrations en Pb d'une plante sont étroitement corrélées aux concentrations en Pb du sol, mais cette corrélation doit être nuancée et tenir compte en particulier de l'organe (racines, tiges, feuilles, etc.).

Des modèles empiriques ont été développés, concernant les relations linéaires ou non linéaires entre la teneur des tissus végétaux en éléments traces métalliques (Pb, Cu, Zn...) et la teneur du sol en ces éléments biodisponibles, donc

le prélèvement des éléments traces est en relation avec l'offre du sol [Nguyen, 2007].

4. Taux d'accumulation de plomb par l'orge

Les valeurs du plomb accumulées par *Hordeum vulgare* dans le premier système sont représentées dans la figure 20.

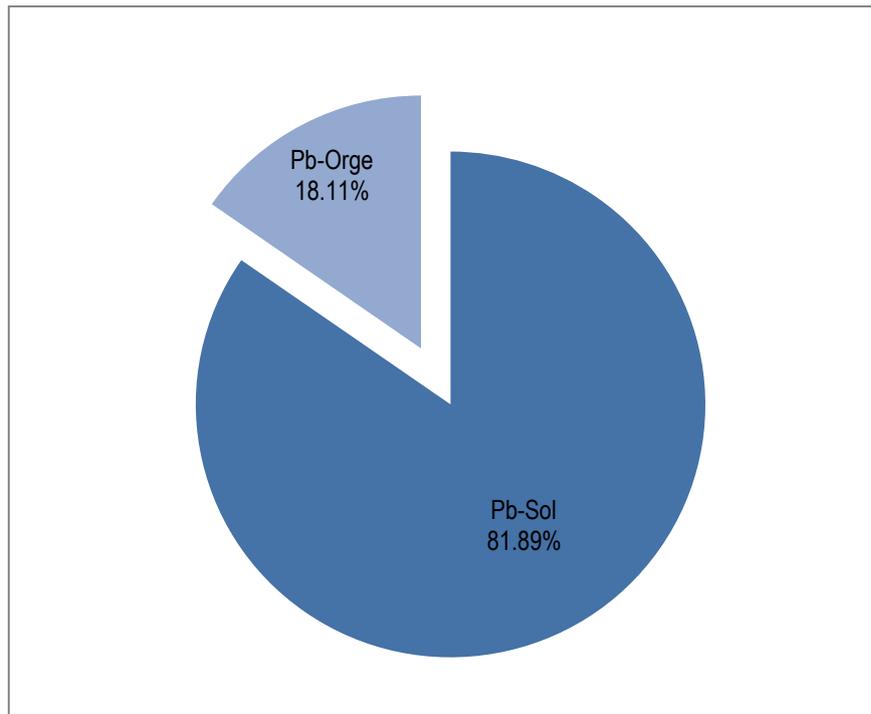


Figure 20: Pourcentage d'accumulation du plomb par l'orge

L'accumulation du plomb par l'orge a fait l'objet d'une étude *in situ* dans des sols agricoles à forte charge polymétallique (Pb, Cu, Zn) par Zerrouki *et al.*, [2013], ils rapportent un taux d'accumulation de l'ordre de 2%. Dans notre étude, comme le montre la figure 20 nous avons enregistré un taux de 18.11 % fortement supérieure à celui trouvé par Zerrouki *et al.*, [2013].

Le taux élevé de plomb accumulé par l'orge est dû à la forme sous laquelle il est ajouté le plomb au sol. Diehl *et al.*, [1983] constatent que les particules de plomb dans les sols sont rapidement converties en des composés solubles dans l'eau, facilement disponibles pour les plantes.

5. Conclusion

La concentration du plomb accumulée par l'orge est de $59.44 \pm 13.16 \text{ ug.g}^{-1}$ soit 18.11% dépassent largement la concentration de plomb accumulée dans l'orge cultivé dans le sol témoin ($11.75 \pm 3.10 \text{ ug.g}^{-1}$).

Les taux d'absorptions et d'accumulations du plomb varient entre les espèces et à l'intérieur d'une même espèce et semblent être influencés davantage par le pH que par toute autre propriété du sol [Seiler et Paganelli., 1987] et les argiles qui sont des fractions fines qui intervient majoritairement lors des phénomènes de rétention et de fixation des métaux lourds. [Sanders, J.R. 1983],

La solubilité et la mobilité initiale du plomb dans le sol dépendront du type de composé de plomb qui aura été ajouté au sol. Par exemple les nitrates de plomb sont très solubles et seront facilement lessivés des sols. [Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999], et facilement bioaccumulés par la plante.

Référence

- Allan D. L. and Jarrell W. M., (1989). Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls.- *Plant Physiology*, 89., pp 823-832.
- Baize D. (1997), *Teneurs totales en ETM dans les sols (France)*, Paris, INRA. p :408
- Blaylock, M.J. and Huang, J.W., (2000). Phytoextraction of metals. In: I. Raskin and B.D. Ensley eds. *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment*. New York, John Wiley & Sons, Inc.,.PP. 53-70.
- Martimelli I., (1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert des polluants associés dans le sol, urbain. Vers une approche globale et pluridisciplinaire., Thèse de doctorat., L'institut national des sciences appliquées de LYON., pp 73-107.
- Chocat B ., Eurydice., (1997) . Encyclopédie de l'hydrologie urbaine et de l'assainissement., ed : Lavoisier., 1124 p.
- Christensen, T.H. (1984). Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH and calcium. *Water Air Soil Pollut.* 21, pp.105-114.
- Conseil canadien des ministres de l'environnement. (1999). Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Environnement et santé humaine — plomb 1999, dans *Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement*, 1999, Winnipeg, le Conseil.
- Diehl, K. H., Rosopulo, A., Kreuzer, W., and Judel, G. K., (1983). Das Verhalten von Bleitetraalkylen im Boden und deren Aufnahme durch die Pflanzen, *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.*, pp 146-551
- Doelman, P. and Haanstra, L., (1979). Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity, *Soil Biol. Biochem.*, pp11- 475.
- Dufey J. E., Amory D. E. and Braun R., (1985). Propriétés électriques et sélectivité d'échange ionique des racines.- *Pédologie*, 35 ., pp. 231-249.
- Dufey J.E., Braun R.,(1986). Cation exchange capacity of roots : titration, sum of exchangeable cations, copper adsorption. *Journal of Plant Nutrition* 9(8): pp.1147-1155.
- Hinsinger P. (1998a) How do plant roots acquire mineral nutrients ? Chemical processesinvolved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64,pp. 225-265.

- Jaillard B., (1985). Activités racinaires et rhizostructures en milieu carbonaté.- *Pédologie*, 35 ., pp 297-313.
- Kabata P, Alina H. P.,(2001). Trace elements in soils and plants, 3rd ed, *Thèse de doctorat, by CRC Press*, pp. 222-234.
- Lamy, I. (2000). Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. Journées nationales de l'étude des sols. p 22.
- Liliane J., (2007). Mobilisation du chrome et du nickel à partir de sols contaminés, en présence de complexants : Transfert et accumulation de ces métaux chez *Datura innoxia* , *Thèse de doctorat, Université de Limoges*, pp. 38-115.
- Lorenz S.E, Hamon R. E. and McGrath S. P., (1994). Differences between soil solutions obtained from rhizosphere and non-rhizosphere soils by water displacement and soil centrifugation.- *European Journal of Soil Science*, 45. , pp.431-438
- Mahler R ., Bingham F. T., and Ganje T. J.,(1978). Yield and cadmium accumulation of forage species in relation to cadmium content of sludge-amended soil. *J. Environ. Qual*, pp.5-57.
- Marseille F.,(2007). Mobilité et biodisponibilité des contaminants présents dans les sols aux abords des infrastructures et impact sur la santé.
- Martimelli I.,(1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert des polluants associés dans le sol, urbain. Vers une approche globale et pluridisciplinaire., *Thèse de doctorat., L'institut national des sciences appliquées de LYON.*, pp. 73-107.
- McBride M.B., (1994), "*Environmental chemistry of soils*". NewYork, Oxford University Press, 406 p., ISBN 0-19-507011-9;
- McLaughlin MJ, Smolders E, Merckx R., (1998). Soil-root interface: physicochemical processes. In *Soil Chemistry and Ecosystem Health*. Special Publication no 52. pp. 233- 277. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
- Mitchell, R. L., (1978). Cobalt in soil and its uptake by plants, paper presented at 9th Simposio Int. di Agrochimica, Punta Ala, Argentina, , 2, p 521.
- Nguyen C., (2007). La libération de composés organiques par les racines (rhizodéposition): modélisation et impact sur la biodisponibilité des éléments minéraux pour les plantes, *Thèse de doctorat, Nancy*, pp 100-111.

- Sanders, J.R. (1983). The effect of pH on the total and free ionic concentrations of manganese, zinc and cobalt in soil solutions. *J. Soil Sci.* 34, 315-323.
- Seiler, J.R. et D. Paganelli. (1987). Photosynthesis and growth response of red spruce and loblolly pine to soil-applied lead and simulated acid rain. *For. Sci.* 33(3):668–675.
- Stengel P., Gelin S. (1998). *Sol : interface fragile*. Ed. INRA, Paris.
- Tanner C. C., Headley T. R., (2011), Components of floating emergent macrophyte treatment wetlands influencing removal of stormwater pollutants, *Ecological Engineering*. 37(3), pp.474-486;
- Wacquant J. P., (1969). Adsorption, absorption cationique préférentielle et écologie végétale. *Bulletin de la Société Française de Physiologie Végétales*, 15 ., pp 237-251.
- Zerrouki D., (2014), Phytoremédiation d'un sol agricole contaminé par les métaux lourds (Pb, Zn et Cu) en milieu routier à l'aide de l'orge *Hordeum vulgare* .L et de tournesol *Helianthus annuus* . L. thèse de doctorat de l'université de sidi bel Abbes.
- Zerrouki D., Maatoug M., Hellal B., Ait Hammou M., (2013), Phytoremediation of contaminated agricultural soil by lead from traffic pollution using the common barley (*Hordium vulgare*) (IJER) Volume 2 Issue 3.

Chapitre 4 : Bioaccumulation du plomb par les vers de terre

Chapitre 4 : Bioaccumulation du plomb par les vers de terre (*Lumbricus* sp)

La bioaccumulation des métaux chez les vers de terre dépend beaucoup de l'espèce et des caractéristiques de leur milieu de vie, notamment de la composition du sol et de son pH [Van Gestel & Ma, 1988 ; Morgan & Morgan, 1991 ; Morgan & Morgan, 1999]. Le concept général de mesure des concentrations en métaux dans des espèces sélectionnées pour obtenir des informations concernant les fractions de pollutions biodisponibles d'un habitat donné est théoriquement attractif. Cependant, il est riche en difficultés pratiques du fait que les données de biodisponibilité sont propres à chaque espèce [De Vaufleury *et al.*, 2013].

Des différences de concentrations en métaux dans les tissus d'espèces de vers de terre écophysiologiquement différentes est décrites par Morgan *et al.*, [1993], qui soulignent l'importance de facteurs déterminants interactifs, souvent biotiques, qui interviennent dans l'accumulation des métaux.

Nahmani *et al.*, [2007], rapportent dans leurs revue la difficulté d'établir des relations statistiques simples entre les concentrations des métaux des organismes et celles des composants abiotiques de l'environnement. Cependant, il est intéressant de dégager les principales directions dans lesquelles s'inscrivent les recherches actuelles afin d'aboutir à une meilleure connaissance des facteurs qui contrôlent la bioaccumulation des métaux chez les vers de terre. Il est aussi important de déterminer les réponses des différentes espèces en termes de bioaccumulation et d'effets toxiques en fonction de la contamination du milieu (nature des métaux, influence de leur concentration). [De Vaufleury *et al.*, 2013]

1. Concentrations du plomb dans le sol et les tissus des vers de terre

Les moyennes des concentrations accumulées dans le sol et les vers de terre sont représentées dans le tableau 12.

Tableau 12: Statistiques descriptives des concentrations du plomb (ug/g) dans le sol et les vers de terre.

	N	Moyenne	Minimum	Maximum	Ecart-type.
Pb (sol)	16	342,50	250,00	440,00	54,59
Pb (VT)	16	24,01	12,55	54,54	10,97
Témoins (sol)	4	70,00	50,00	90,00	16,33
Témoins (VT)	4	8,20	7,50	8,59	0,48

L'examen du tableau 12 indique des concentrations de plomb dans le sol de l'ordre de $(342.50 \pm 54.59 \text{ ug/g})$, et les concentrations de Pb enregistrées dans les tissus des vers de terre $(24.01 \pm 10.97 \text{ ug/g})$ permettent de constater une forte accumulation par rapport au témoin $(8.20 \pm 0.48 \text{ ug/g})$.

La capacité d'accumulation des vers de terre a été reconnue dans la littérature dès la fin du 19ème siècle [Hopkin, 1989].

Les vers de terre ont un contact intime avec le sol que ce soit au niveau de leur derme ou lors de l'ingestion du sol. Ils sont donc susceptibles d'accumuler les polluants présents dans le sol. Selon leur classe écologique (endogée, épigée ou anécique), les vers de terre sont plus ou moins sensibles aux éléments traces métalliques [Tomlin, 1992].

Les vers de terre qui vivent dans des sols contaminés par les métaux, principalement de source anthropogène, accumulent de fortes concentrations de métaux lourds dans leurs tissus [Ireland, 1983 ; Morgan & Morgan, 1988 ; Dai *et al.*, 2004]. La répartition des métaux (Cd, Pb, Zn) n'est pas identique dans tous les tissus des vers de terre, les proportions les plus fortes des charges métalliques accumulées dans le corps sont localisées dans les tissus (épithélium intestinal et tissu chloragogène) du tube digestif postérieur (Pb : 87,7 % ; Zn : 78,8 % ; Cd : 72,8 % ; Cu : 57,3 %) [Morgan & Morgan, 1990].

2. Corrélation plomb sol -plomb vers de terre

La corrélation Pb sol - Pb vers de terre est représentée dans la figure 21 .Un effet significatif ($p < 0.001$) des concentrations de plomb dans le sol sur le plomb accumulé dans les tissus des vers de terre *Lumbricus* sp est indiqué par l'analyse de variance dans le tableau 13.

Tableau 13: Analyse de la variance à un seul facteur : cas Pb sol

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
Pb-sol (ug/g)	10215,77	1	10215,77	179,5089	0,000000
Error	1081,28	19	56,91		

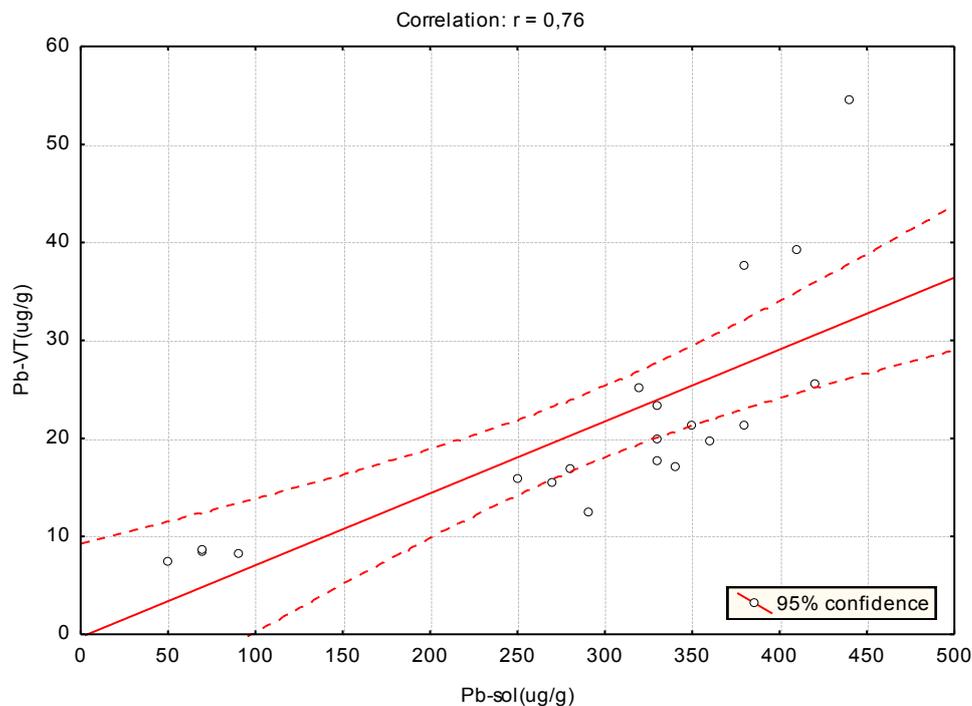


Figure 21: Corrélation entre le plomb du sol et les concentrations du plomb dans les tissus des vers de terre *Lumbricus* sp

Les concentrations de plomb enregistrées dans les tissus des vers de terre est significativement et positivement corrélées ($r = 0.76^{***}$) avec les concentrations dans le sol.

Les vers de terre de diverses espèces qui vivent dans des sols pollués par des métaux en raison de la proximité d'autoroutes [Gish & Christensen, 1973] ou

d'exploitations minières [Ireland, 1975 ; Dai *et al.*, 2004] ou d'épandage de déchets [Helmke *et al.*, 1979] ont des teneurs en métaux lourds beaucoup plus élevées que ceux qui se développent en zones non polluées, ce qui concorde avec les résultats rapportés dans le tableau 13

Lorsque la contamination cesse, les indices d'accumulation du Zn et du Pb diminuent fortement, par rejet du métal dans les fèces ou élimination par la paroi du corps, dont l'ultrastructure des cellules est fortement modifiée par le Pb [Wielgus-Serafinska, 1979 ; Wielgus-Serafinska & Strzelec, 1983].

3. Impact des facteurs physico-chimiques du sol sur l'accumulation du plomb par les vers de terre

L'effet des paramètres physico-chimiques du sol tel que le pH, la CEC et le taux des argiles sur la mobilité des ETM dans le sol et leurs accumulations dans les horizons de surface et par les plantes (absorption) a été largement étudié. Dans le but d'étudier l'influence que peut avoir ces paramètres sur l'accumulation du plomb dans les tissus des vers de terre, nous avons réalisé une analyse de corrélation et une ANOVA entre les concentrations du plomb dans les vers de terre et les paramètres du sol.

3.1. Impact du pH du sol sur l'accumulation du plomb par les vers de terre

La corrélation entre le pH et l'accumulation du plomb par les vers de terre est illustrée dans la figure 22, sur laquelle, une relation négative et non significative est remarquable ($r = -0,43$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) du pH sur l'accumulation du plomb par les vers de terre (Tableau 14).

Tableau 14: Analyses de variance à un seul facteur cas de pH.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
pH	8408,348	1	8408,348	55,30453	0,000000
Error	2888,707	19	152,037		

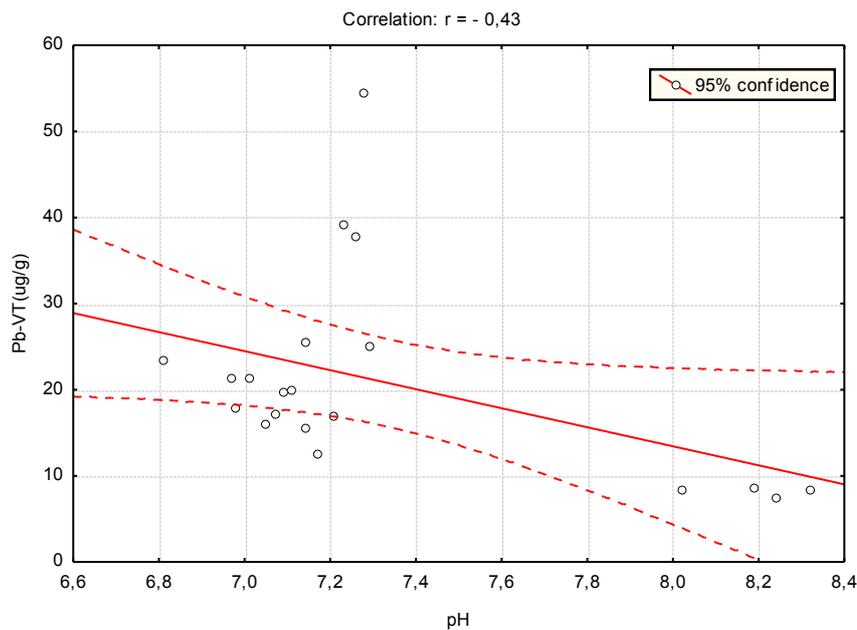


Figure 22: Corrélation entre le pH du sol et l'accumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus sp*

Le pH est un facteur prépondérant de la rétention des métaux car il contrôle la totalité des processus affectant le comportement de ces éléments. Selon Swaine, [1986] le pH est le facteur qui influence le plus la mobilité et la biodisponibilité du plomb. Les risques de mobilité sont plus grands dans les milieux acides, alors que la solubilité diminue avec l'élévation du pH. À pH 5, le plomb semble majoritairement adsorbé aux oxydes et aux matières organiques [Alloway, 1995], et une augmentation du pH a pour effet de rendre le plomb moins biodisponible.

Les vers de terre accumulent le plomb et sont donc des indicateurs utiles de la pollution du sol par le plomb. Les concentrations totales de plomb dans les sols excèdent presque toujours les concentrations totales de plomb dans les vers de terre. Par contre, des conditions exceptionnelles comme des niveaux élevés de plomb dans les sols combinés à un faible pH et à une teneur en calcium peu élevée, peuvent induire une plus grande accumulation de plomb provenant du sol, chez les vers de terre [Ireland, 1979].

Pour le Pb, Beyer *et al.* [1987] ont observé que la concentration varie du simple au double (de 5 mg.kg^{-1} à 12 mg.kg^{-1}) chez *Apporectodea tubulata* dans une gamme de pH comprise entre 7,1 et 4,9.

L'accumulation du Zn et du Cd dans le corps des vers de terre est variable selon les espèces, la nature du sol, la durée des expériences, les moyens utilisés pour faire varier le pH et si le sol est contaminé par un seul ou plusieurs métaux. [De Vaufleury et al, 2013].

La faible biodisponibilité des métaux (Cu, Pb et Zn) d'un sol contaminé à pH alcalin, ainsi que l'absence d'effets toxiques ont été confirmées expérimentalement chez *Lumbricus terrestris* dans des sols urbains peu riches en éléments nutritifs de Montréal [Kennette et al., 2002].

Nous avons pu observer dans notre étude que la variation du pH du sol influence aussi l'accumulation du plomb par les vers de terre.

3.2. Impact du taux d'argile sur l'accumulation du plomb par les vers de terre

La corrélation entre le taux d'argile dans le sol et l'accumulation du plomb par les vers de terre est illustrée dans la figure 23, sur laquelle, nous constatons une relation négative et non significative ($r = -0.07$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) sur l'accumulation du Pb par des vers de terre (Tableau 15).

Tableau 15: Analyses de variance à un seul facteur cas de l'A%.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
Argile %	8414,495	1	8414,495	55,46299	0,000000
Error	2882,560	19	151,714		

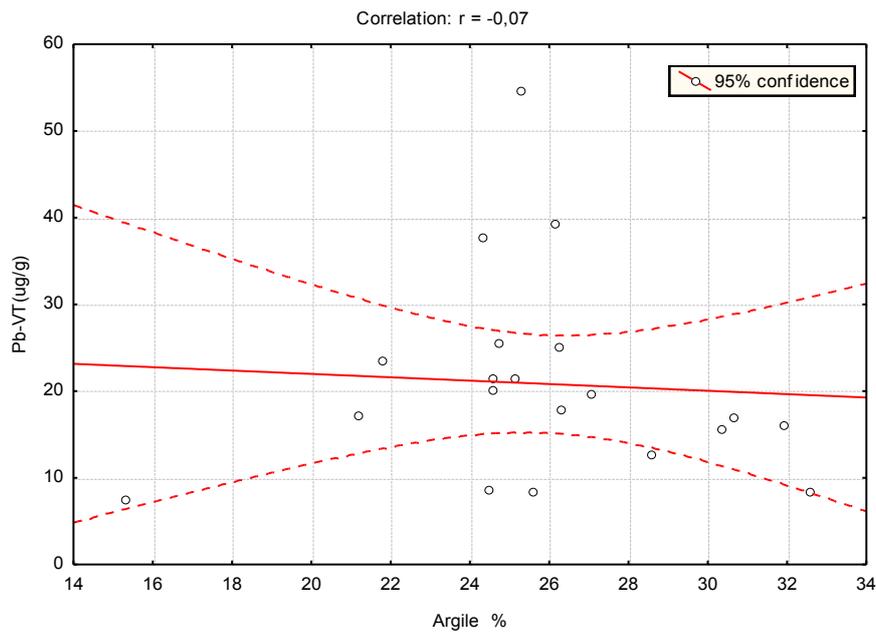


Figure 23: Corrélation entre l'A% du sol et l'accumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus* sp.

La nature du sol a une importance primordiale dans la bioaccumulation et la toxicité des métaux chez les vers de terre [Van Gestel, 1992] et les résultats des expériences faites en laboratoire sont difficiles à extrapoler à ce qui se passe dans les sols, dont la composition est très variable d'un lieu à un autre et pour un même lieu, d'une couche à l'autre. [De Vaufleury *et al.*, 2013].

Les argiles, de par leurs propriétés physico-chimiques, jouent un rôle très important dans la disponibilité des métaux lourds. Li et Li [2000] ont montré que les métaux lourds peuvent être adsorbés et immobilisés par les minéraux argileux ou également être complexés par la matière organique du sol en formant alors un complexe organométallique [Lamy, 2002].

Lock & Janssen [2001a] ont effectué des expériences avec *Enchytraeus albidus*, qui montrent que la toxicité du Cd et du Zn dépend de la nature de l'argile utilisée (kaolinite, illite et montmorillonite) et de la matière organique (feuilles tombées de divers arbres ou tiges mortes d'orties ou de roseaux).

3.3. Impact de la capacité d'échange cationique (CEC) sur l'accumulation du plomb par les vers de terre

La corrélation entre la CEC du sol et l'accumulation du plomb par les vers de terre est illustrée dans la figure 24, une relation négative et non significative est remarquable avec un coefficient ($r = -0.31$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) de la CEC sur le plomb des vers de terre (Tableau 16).

Tableau 16: Analyses de variance à un seul facteur cas de la CEC.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
CEC meq/100g	8115,097	1	8115,097	48,45659	0,000001
Error	3181,958	19	167,471		

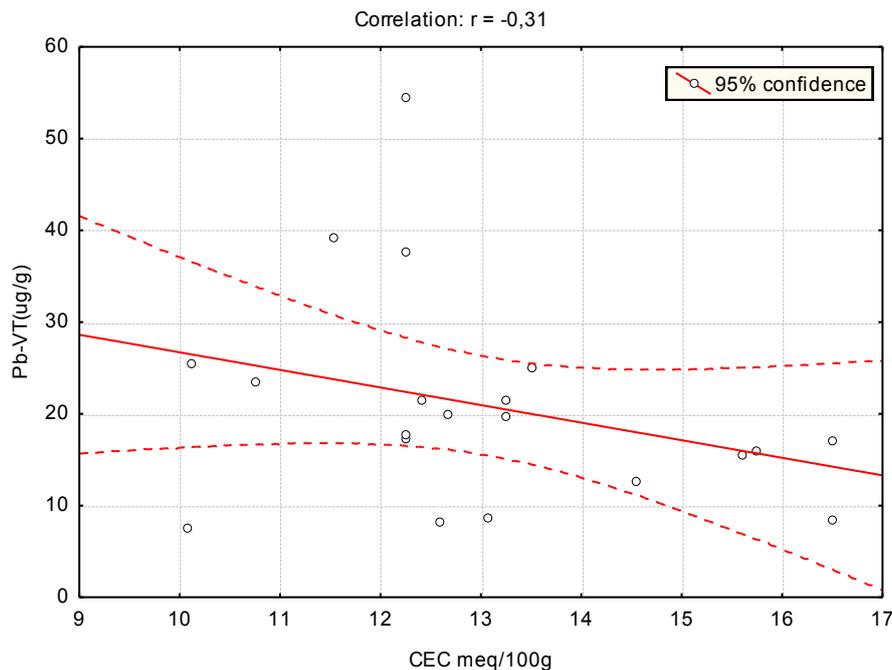


Figure 24: Corrélation entre la CEC et l'accumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus sp*

Des mesures simultanées de la capacité d'échange de cations suggèrent que ce paramètre du sol est un meilleur indicateur de la biodisponibilité du Cd et du Zn

car il prend en compte le type d'argile et de matière organique [Lock & Janssen 2001a]

3.4. Impact de la matière organique (MO %)

L'analyse de variance (Tableau 17) indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) du taux de la matière organique sur les concentrations du plomb dans les tissus des vers de terre.

Tableau 17: Analyses de variance à un seul facteur cas de MO%.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
MO %	8123,037	1	8123,037	48,62533	0,000001
Error	3174,019	19	167,054		

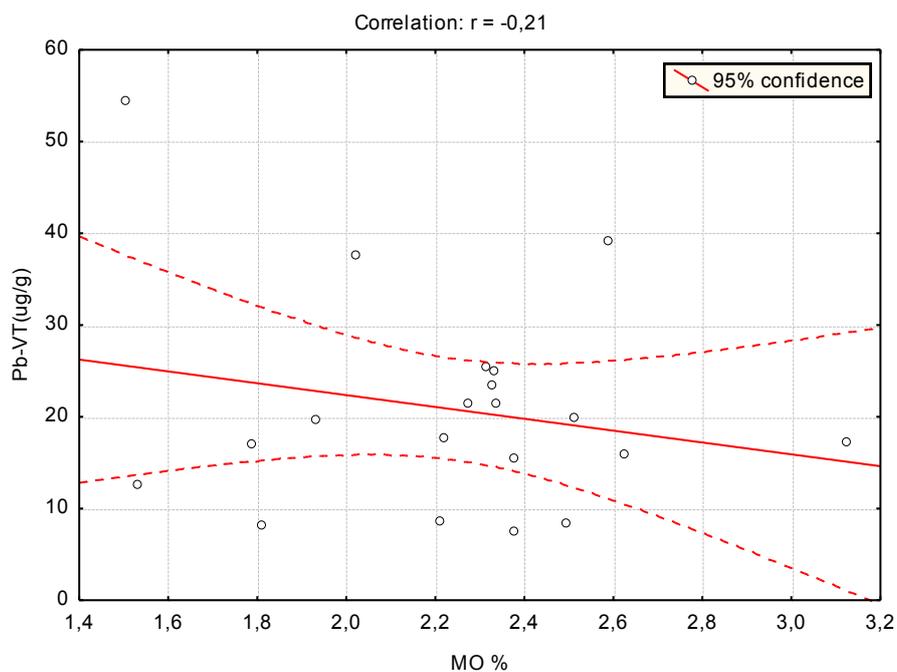


Figure 25: Corrélation entre la MO% et l'accumulation du plomb par vers de terre *Lumbricus sp*

La corrélation entre la MO% et l'accumulation du plomb qui est illustrée dans la figure 25, indique une corrélation non significative ($r = -0.21$).

Dans le sol en l'absence de vers de terre, la matière organique reste bloquée en surface, freinant ainsi le recyclage des nutriments. Les lombrics permettent donc

l'incorporation des excréments et des matières végétales dans le sol, modifiant ainsi la capacité d'échange cationique en surface et dans les couches plus profondes du sol [Sears 1953, Araujo *et al.* 2004]. Les propriétés physico-chimiques des structures biogéniques des vers de terre (galeries et turricules) sont différentes du reste du sol. En effet, ces structures sont enrichies en nitrate (NO_3^-), en ammonium (NH_4^+) et en carbone organique [Bhatnagar 1975, Syers et Springett 1983].

De part leurs activités, les vers de terre entraînent des modifications physico-chimiques dans les sols où ils évoluent [Edwards 2004]. Les turricules qu'ils forment affectent l'agrégation et les galeries qu'ils creusent modifient les propriétés hydriques.

Ils sont très importants dans les processus de pédogénèse, principalement en raison de leur consommation de matière organique qu'ils vont fragmenter et mélanger intimement aux particules minérales pour former des agrégats aqueux stables [Brown 2000]. D'une manière générale, les vers de terre diminuent la taille des particules organiques et minérales [Joshi et Kelkar 1952]. Les espèces anéciques tels que *Lumbricus terrestris*, qui vivent dans des galeries permanentes s'enfoncent profondément dans la terre, ingèrent préférentiellement de la matière organique mais consomment également d'importantes quantités de particules minérales. De ce fait, en réinjectant ces composés aux couches les plus profondes du sol, elles font partie des espèces les plus actives pour les processus de pédogénèse [Edwards 2004].

4. Taux d'accumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus* sp.

Les valeurs du plomb absorbées par *Lumbricus* sp sont représentées dans la figure 26. D'après cette figure nous estimons que 7.24 % du plomb du sol a été accumulé dans les tissus des vers de terre soit (24.01 ± 10.97 ug/g poids sec, FBC¹ : 0.07). Comparée aux résultats trouvés dans d'autres études portant sur l'accumulation des métaux lourds par les vers de terre les valeurs trouvées est faibles. Cependant une pollution monométallique combinée aux comportements spécifiques à chaque espèce et entre les différentes catégories écologiques, peut expliquer le faible facteur de bioconcentration (FBC) trouvé.

¹ FBC : concentration du plomb dans les vers de terre / concentration du plomb dans le sol.

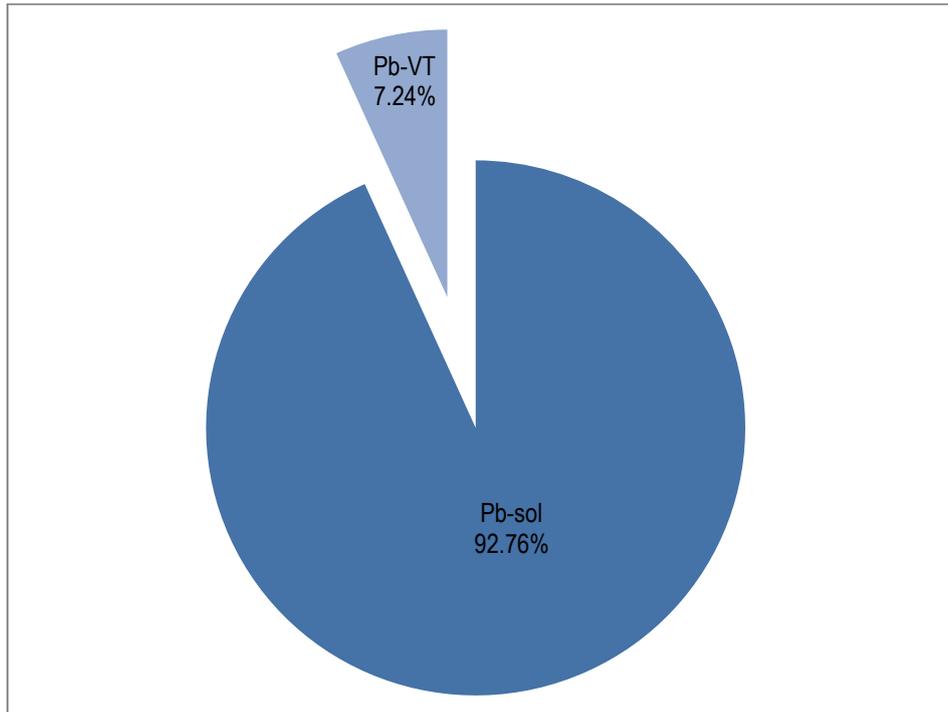


Figure 26: Pourcentage d'accumulation du plomb par *Lumbricus sp.*

Morgan *et al.*, [1999] rapportent que les vers de terre (*L. rubellus*) qui survivent dans le sol du site métallifère de Rudry, South Wales (G.B.) sont exposés à des concentrations exceptionnelles de Pb (2 337 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec), de Zn (5 902 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec) et de Cd (604 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec). Leurs tissus contiennent des quantités substantielles des trois métaux (Cd : 1 212 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec, FBC : 2,01 ; Zn : 2 470 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec, FBC : 0,42 ; Pb : 892 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec, FBC : 0,38). Il existe donc des différences de bioaccumulation des métaux entre les espèces de la même classe (annélides oligochètes par exemple), mais également entre les espèces d'embranchements différents. [De Vaufleury *et al.*, 2013].

La capacité des lombriciens à accumuler les métaux est reconnue dès la fin du 19^{ème} siècle [Hogg 1895 in Hopkin, 1989]. Selon Van Hook [1974], il y a accumulation lorsque le rapport de concentration du métal dans les tissus sur la concentration du métal dans le sol est supérieur à 1. Les rapports d'accumulation chez les lombriciens varient entre 16,0 pour le cadmium, 4,1 pour le zinc, 1,1 pour le cuivre, 0,5 pour le nickel et 0,4 pour le plomb [Van Hook, 1974 ; Van Rhee, 1977 ; Czarnowska et Jopkiewicz, 1978 ; Abdul Rida, 1996 ; Kenette *et al.*, 2002]:

5. Conclusion

Les concentrations de plomb enregistrées dans les tissus des vers de terre sont positivement corrélées avec les concentrations dans le sol. La concentration du plomb enregistrée dans les tissus des vers de terre est de 24.01 ± 10.97 ug/g soit 7.24%. Elle permet de constater une forte accumulation par rapport au témoin (8.20 ± 0.48 ug/g).

Les paramètres du sol (pH, CEC et le taux d'argile et de la MO) sont corrélés négativement avec l'accumulation du plomb par les vers de terre, cependant ils ont un effet significatif sur la bioaccumulation. De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend le processus de bioconcentration (1) l'espèce lombricienne et sa catégorie écologique [Ireland, 1979 ; Ash et Lee, 1980 ; Ireland et Richards, 1981], (2) l'élément trace [Ma, 1982 ; Marinio *et al.*, 1992 ; Abdul Rida, 1996], (3) les propriétés physiques et chimiques du sol [Smith, 1996].

Selon De Vaufleury *et al.*, [2013] il est nécessaire d'étudier les facteurs contrôlant la mobilisation et l'absorption des composés chez d'autres espèces animales terrestres ayant des modes de vie et des caractéristiques anatomiques et physiologiques plus variés.

Référence

- Abdul Rida, A.M.M. (1996). Concentrations et croissance de Lombriciens et de plantes dans des sols contaminés ou non par Cd, Cu, Fe, Pb et Zn: Interactions plant-sol-lombricien. *Soil. Biol. Biochem.* 28, 1037-1044.
- Alloway B. J. (1995), *Heavy metals in soils*, London, Blackie academic & professional.
- Araujo Y, Luizão FJ Barros E (2004) *Biology and Fertility of Soils* 39: 146-152.
- Ash CPJ, Lee D (1980).- Lead, cadmium, copper and iron in earthworms from roadside sites. *Environ. Pollut.*,22A: 59-67.
- Beyer W.N., Hensler G. & Morre J., (1987), Relation of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd and Se in earthworms, *Pedobiologia*, vol.30, pp.167-172;
- Bhatnagar T (1975) Lombriciens et humification: un aspect nouveau de l'incorporation microbienne d'azote induite par les vers de terre. In : *Humification et Biodégradation*, Kilbertus G, Reisinger O, Mourey A et da Fonseca JAC (Eds.), Pierron, Sarreguemines, France, pp. 169-182.
- Brown, G.G., Barois, I., Lavelle, P., (2000). Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology* 36, 177–198.
- Czarnowska, K. & Jopkiewicz, K., (1978) - Heavy metals in earthworms as an index of soil contamination. *Pol.J.Soil Sci.*, II, 57-62.
- Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Bernhard-Reversat F., Nahmani J. & Lavelle P. (2004). Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 36, 91-98.
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), *Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*, ADEME, France, pp.46–90;
- Edwards CA. (2004) *Earthworm Ecology* 2nd ed, St. Lucie Press, Boca Raton, USA. Edwards CA, Bohlen PJ (1996) *Biology and Ecology of Earthworms*, 3rd ed. Chapman & Hall, London.

- Gish C.D. & Christensen R.E. (1973). Cadmium, nickel, lead and zinc in earthworms from roadside soil. *Environ. Sci. Technol.*, 7, 1060-1062.
- Helmke P.A., Robarge W.P., Korotev R.L. & Schomberg P.J. (1979). Effects of soil-applied sewage sludge on concentration of elements in earthworms. *J. Environ. Qual.*, 8, 322-327.
- Hopkin, S. P. (1989). *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates*, Elsevier Applied Science, London
- Ireland M.P. & Richards K.S. (1981).- Metal content after exposure to cadmium of two species of earthworms of known differing calcium metabolic activity. *Environ. Pollut.*, 26A : 69-78.
- Ireland M.P. & Wooton R.J. (1976).- Variations in the lead, zinc and calcium content of *Dendrobaena rubida* (Oligochaeta) in a base metam mining area. *Environ. Pollut.*, 26A : 69-78.
- Ireland M.P. (1975). The effect of earthworm *Dendrobaena rubida* on the solubility of lead, zinc and cadmium in heavy metal contaminated soils in Wales. *J. Soil Sci.*, 26, 313-318.
- Ireland M.P. (1979). Distribution of essential and toxic metals in the terrestrial gastropod *Arion ater*. *Environ. Pollut.*, 20, 271-278.
- Ireland M.P. (1983). Heavy metal uptake and tissue distribution in earthworms. *In: Earthworm Ecology from Darwin to Vermiculture*. Satchell J.E. (Ed.) Chapman and Hall, London, UK, 247-265.
- Joshi NV, Kelkar BV (1952) The role of earthworms in soil fertility. *Indian Journal of Agriculture Science*.
- Kennette D., Hendershot W., Tomlin A. & Sauvé S., (2002), Uptake of trace metals by earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils, *Applied Soil Ecology*, 19, pp.191-198;
- Lamy, I. (2002). Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. Journées nationales de l'étude des sols. p 22. (cité in HUYNH).
- Li, L.Y. and Li, R.S. (2000). The role of clay minerals and effect of H⁺ ions on removal of heavy metal (Pb²⁺) from contaminated soil. *Can. J. Geotech/Rev.* 37, pp 296-307.

- Lock K. & Janssen C.R., (2001), Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*, *Chemosphere*, 44, pp.1669-1772;
- Ma W.C. (1982).- The influence of soil properties and worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiol.* 24 : 109-119.
- Marino F., Ligeró A. and Díaz Cosin D.J.,(1992). - Heavy metals and earthworms on the border of the road next to Santiago (Galicia, Northwest of Spain). Initial results. *Soil Biol. Biochem.* 24 : 1705-1709.
- Martirelli I.,(1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert des polluants associés dans le sol, urbain. Vers une approche globale et pluridisciplinaire., Thèse de doctorat., L'institut national des sciences appliquées de LYON., pp. 73-107.
- Morgan A.J., Morgan J.E., Turner M., Winters C. & Yarwood A., (1993), Metal relationships of earthworms, *Ecotoxicology of Metals In Invertebrates*, Dallinger R. & Rainbow P.S. (Eds), SETAC, Lewis Publ., USA, pp.333-358;
- Morgan A.J., Stürzenbaum S.R., Winters C. & Kille P. (1999). Cellular and molecular aspects of metal sequestration and toxicity in earthworms. *Invert. Reprod. Develop.*, 36, 17-24.
- Morgan J.E. & Morgan A.J. (1990). The distribution of cadmium, copper, lead, zinc and calcium in the tissues of *Lumbricus rubellus* sampled from one uncontaminated and four polluted soils. *Oecologia* (Berlin), 84, 559-566.
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1988), Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils, *Environmental Pollution.*, 54, pp.123-138;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1991), Differences in the accumulated metal concentrations in two epigeic earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus*) living in contaminated soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.*, 47, pp.296-301;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1999), The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): Implications for ecotoxicological testing, *Applied Soil Ecology.*, 13, pp.9-20;

- Nahmani J, Hodson ME, Black S (2007) A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution* 145: 402-424
- Smith S.R. (1996).- Agricultural recycling of sewage sludge and the environment. CAB, international, UK.
- Swaine DJ., (1986). Lead. In DC Adriano (éd), Trace elements in the terrestrial environment., Springer Verlag, New York.
- Tomlin AD (1992) Behaviour as a source of earthworm susceptibility to ecotoxicants. In: P.W. Greig-Smith *et al.* Ecotoxicology of Earthworms, Intercept, Hants, pp. 116–128. Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H. (2000). Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of
- Van Gestel C.A.M. (1992). The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: A review. *In: Ecotoxicology of earthworms.* Greig-Smith P.W., Becker H., Edwards P.J. Heimbach F. (Eds), Intercept Press Ltd, Hants, UK, 44-54.
- Van Gestel C.A.M., Ma W.C., (1988), Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil, *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 15, pp.289-297;
- Van Hook R.I. (1974).- Cadmium, lead and zinc distributions between earthworms and soils : Potential for biological accumulation. *Bull Environ. Contamin.* 12 :509-512.
- Van Rhee J.A. (1977).- Effects of soil pollution on earthworms. *Pedobiol.*, 17 : 201-208.
- Wielgus-Serafinska E. & Strzelec M. (1983). Influence of lead poisoning on ultrastructural changes in the body wall of *Eisenia fetida* (Savigny), Oligochaeta. II. Long action of different concentrations of lead on ultrastructural changes in the cells on the body wall. *Folia Histochem. Cytochem.*, 21, 145-152.;
- Wielgus-Serafinska E. (1979). Influence of lead poisoning and ultrastructural changes in the body wall of *Eisenia fetida* (Savigny), Oligochaeta. I. Short action of different concentrations of lead and ultrastructural changes in the cells of the body wall. *Folia Histochem. Cytochem.*, 17, 181-188.

**Chapitre 5 : L'association *Hordeum vulgare* –*Lumbricus* sp et
l'accumulation du plomb**

Chapitre 5 : L'association *Hordeum vulgare* –*Lumbricus sp* et l'accumulation du plomb.

Nous avons étudié dans les chapitres précédents la capacité de bioaccumulation de l'orge et des vers de terre séparés en conditions contrôlées dans le cas d'une pollution monométallique (Pb) et l'impact du milieu sur cette bioaccumulation. Cette partie a pour but d'étudier l'interaction des vers de terre *Lumbricus sp* et de la plante *Hordeum vulgare* vis-à-vis de l'accumulation du plomb par ces deux organismes.

1. Teneurs du plomb dans le sol, l'orge et les vers de terre :

Les moyennes du plomb accumulées par l'orge et les vers de terre sont représentées dans le tableau 18

Tableau 18: Statistiques descriptives des concentrations du plomb dans le système 3 (sol – plante - vers de terre).

Paramètres	N	Moyenne	Minimum	Maximum	Écart-type
System 3					
Pb_Sol (ug/g)	16	316.25	150,00	430,00	87.24
Pb_Orge (ug/g)	16	38.00	31.00	50.00	5.68
Pb_VT (ug/g)	16	26.01	16.53	39.00	6.66
Control S3					
Pb_Sol (ug/g)	4	67.5	60,00	80,00	9.57
Pb_Orge (ug/g)	4	20.25	17.00	23.00	2.25
Pb_VT (ug/g)	4	12.84	11.36	13.93	1.09

L'examen du tableau 18 permet de constater une contamination du sol par le plomb de l'ordre de $(316.25 \pm 87.24 \text{ ug/g})$.

Les concentrations de Pb enregistrées dans l'orge et les vers de terre sont respectivement $(38.00 \pm 5.68 \text{ ug/g})$ et $(26.01 \pm 6.66 \text{ ug/g})$, nous constatons une forte accumulation par rapport au témoin $(20.25 \pm 2.25 \text{ ug/g})$ et $(12.84 \pm 1.09 \text{ ug/g})$.

2. Corrélation plomb sol- plomb système, plomb orge et plomb vers de terre

La corrélation entre le plomb du sol et le plomb accumulé dans l'orge, les vers de terre et le système (somme des concentrations du plomb accumulé par l'orge et les vers) est représentée dans la figure 27, sur laquelle nous observons une corrélation positive et significative. Les valeurs des coefficients de corrélation et de l'ANOVA sont représentées dans le tableau 19.

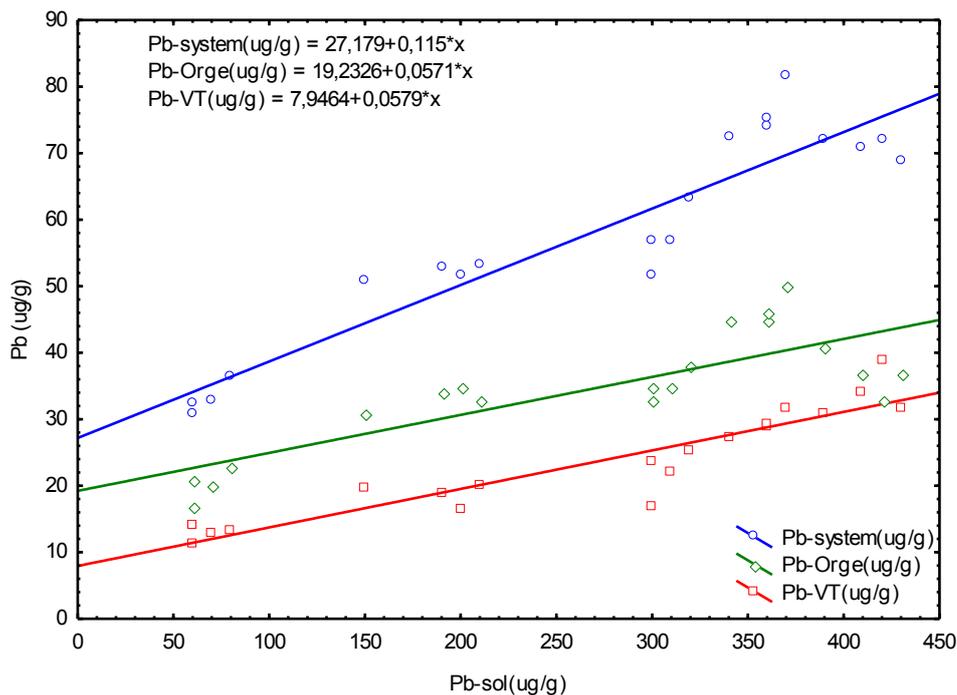


Figure 27: Corrélation entre le plomb du sol et l'accumulation du plomb par l'orge, les vers de terre et le Pb système.

Tableau 19: Valeurs des coefficients de corrélation « r » et de « p » ANOVA a un seul facteur pour le Pb sol.

Pb sol	Pb-système (ug/g)	Pb-vers de Terre (ug/g)	Pb-orge (ug/g)
Corrélation	r = 0,94***	r = 0,93***	r = 0,82***
ANOVA	p=0,000	p=0,000	p=0,000

L'orge et les vers de terre accumulent le plomb a différentes concentrations suivant les concentrations présentes dans le sol,

La forme sous laquelle le plomb est ajouté peut expliquer sa forte biodisponibilité. Selon Hartenstein et Hartenstein, [1981] les métaux lourds complexes sont moins disponibles pour les vers de terre.

3. Influence des conditions physico-chimiques du sol sur la bioaccumulation du plomb par l'association *Hordeum vulgare* –*Lumbricus* sp

La bioaccumulation des métaux dépend de leurs biodisponibilités dans le sol [Brown *et al.*, 1995a], or cette biodisponibilité peut être influencée par des facteurs abiotiques et biotiques dans l'environnement contaminé.

Par ailleurs, il est bien connu que les vers de terre influencent fortement les propriétés physiques et chimiques du sol ; leur rôle est donc à prendre en considération dans la biodisponibilité des métaux [Huynh T.M.D., 2009].

Les propriétés physicochimiques du sol sont des facteurs essentiels qui peuvent influencer la biodisponibilité des métaux pour les vers de terre. Les caractéristiques physiques et chimiques, telles que le pH du sol, la teneur en matière organique, le CEC, le type et la teneur en argile, le temps de vieillissement, la température et la teneur en éléments nutritifs, peuvent jouer un rôle important dans l'absorption des métaux par les vers de terre. Ces caractéristiques du sol peuvent augmenter ou diminuer la biodisponibilité des métaux en changeant la spéciation des métaux et / ou en modifiant l'adsorption des particules du sol. [Van Gestel 1992; Alloway 1995 a, b; Spurgeon et Hopkin 1996].

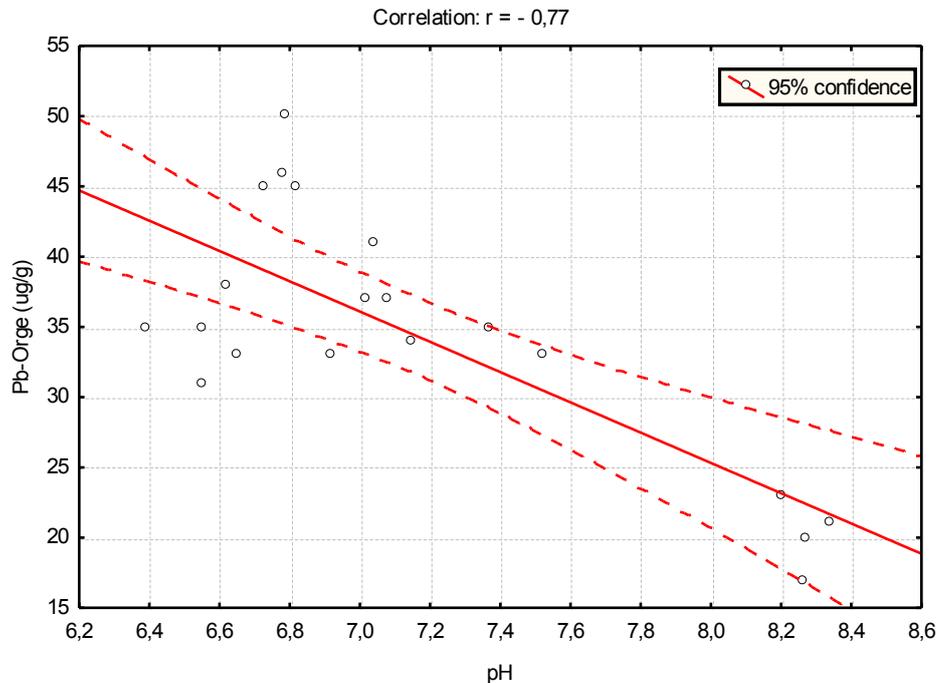
3.1. Effet du pH du sol sur l'accumulation du plomb

1* Cas de l'orge en présence des vers de terre

La corrélation entre le pH du sol et les concentrations du plomb accumulées par l'orge en présence des vers de terre (*Lumbricus* sp) est illustrée dans la figure 28, sur laquelle, une relation négative est remarquable ($r = - 0.77^{***}$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) du pH sur la bioaccumulation du plomb (Tableau 20).

Tableau 20: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de pH.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
pH	22777,40	1	22777,40	175,2388	0,000000
Error	2469,60	19	129,98		

**Figure 28:** Corrélation entre le pH du sol et l'accumulation du plomb par *Hordeum vulgare* en présence des vers de terre *Lumbricus* sp.**2*Cas des vers de terre en présence de la plante :**

La corrélation entre le pH du sol et les concentrations du plomb accumulées par les vers de terre en présence de l'orge est illustrée dans la figure 29, sur laquelle, une relation négative est remarquable ($r = -0,60^{**}$). D'autre part, l'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) du pH sur la bioaccumulation du plomb (Tableau 21).

Tableau 21: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de pH.

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
pH	10471,03	1	10471,03	118,5302	0,000000
Error	1678,47	19	88,34		

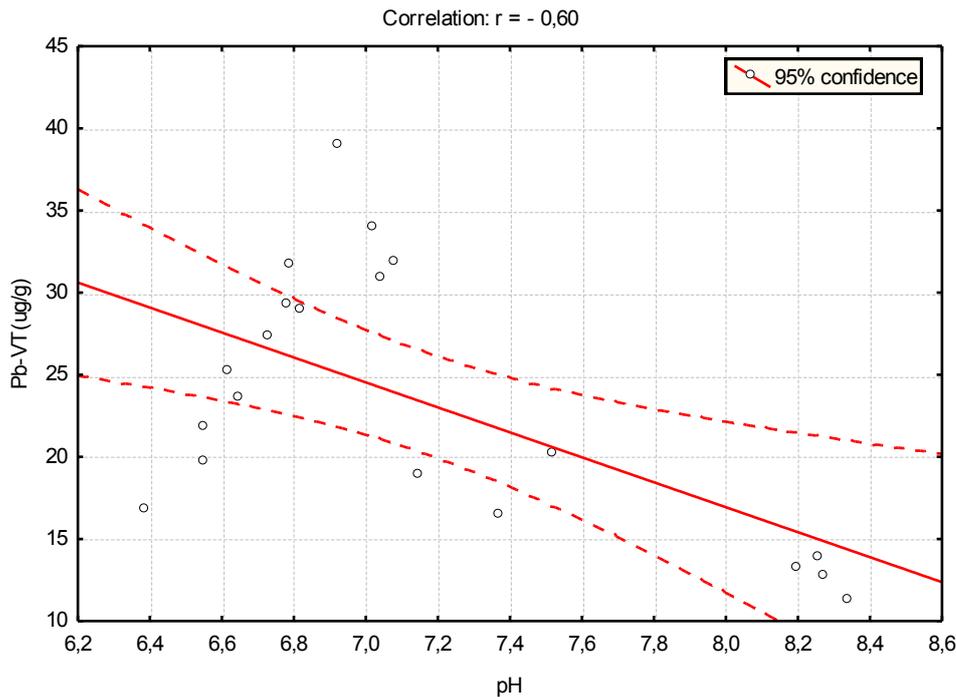


Figure 29: Corrélation entre le pH du sol et l'accumulation du plomb par les vers de terre.

Le pH est un facteur dont le rôle est crucial pour la mobilité des ions métalliques, car il influence le nombre de charges négatives pouvant être mises en solution [McLaughlin *et al.*, 2000].

Différentes interprétations ont été avancées pour expliquer l'influence du pH du sol sur l'accumulation du plomb [McBride, 1994]. A un pH faible < 5.5 les racines absorbent fortement le Pb, Zn, Cu, Cd, Hg et le Ni [Blaylock et Huang, 2000].

Spurgeon *et al.* [2006] constatent que la solubilité des métaux et leur spéciation sont fortement dépendantes du pH et que leur accumulation dans les vers de terre est influencée par leur concentration dans le sol et, dans le cas du Cd, par le pH. Parmi les causes pouvant expliquer les effets limités du changement de pH sur la concentration des tissus des vers. Oste *et al.* [2001a] suggèrent d'une part un effet du pH sur l'absorption par la peau, et d'autre part l'influence des particules de sol ingérées.

Kennette *et al.*, [2002] ont confirmé qu'un pH alcalin dans des sols peu riches en éléments nutritifs diminue la biodisponibilité de métaux (Cu, Pb et Zn) pour les vers de terre (*L. terrestris*).

3.2. Effet de la CEC sur l'accumulation du plomb

1* Cas de l'orge en présence des vers de terre

La CEC du sol est corrélée positivement avec les concentrations du plomb dans l'orge ($r = 0,18$; NS) comme le montre la figure 30. L'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) de la CEC sur la bioaccumulation du plomb par l'orge (Tableau 22).

Tableau 22: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la CEC

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen carré	F	p
CEC meq/100g	21342,90	1	21342,90	103,8691	0,000000
Error	3904,10	19	205,48		

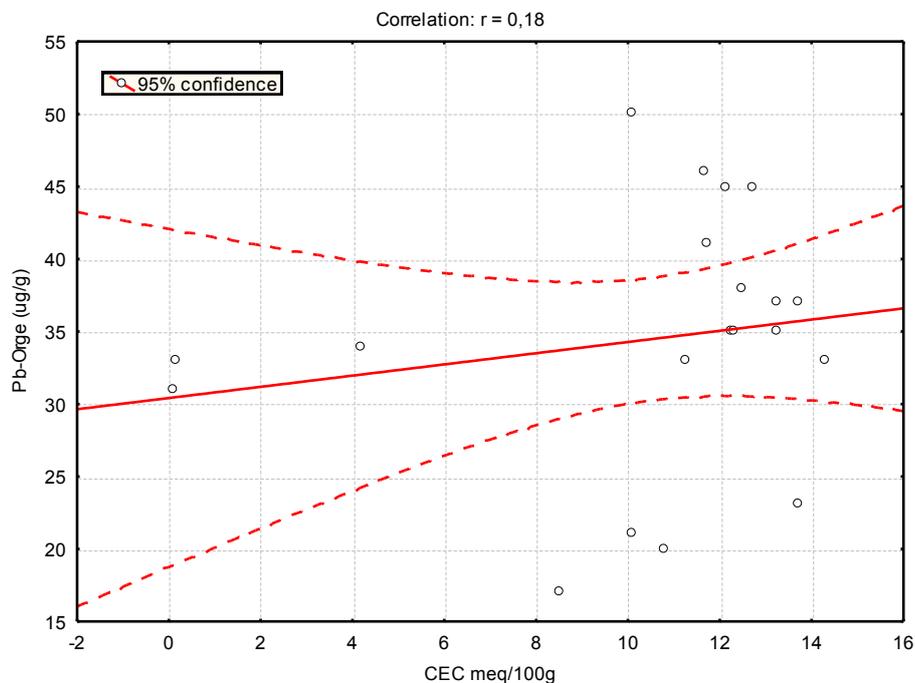


Figure 30: Corrélation entre la CEC et les concentrations du plomb dans *Hordeum vulgare* en présence des vers de terre *Lumbricus* sp

2* Cas des vers de terre en présence de la plante :

La CEC du sol est corrélée positivement avec les concentrations du plomb des vers de terre ($r = 0,32$; NS) comme le montre la figure 31. L'analyse de variance indique un effet hautement significatif ($p < 0,001$) de la CEC sur la bioaccumulation du plomb par les vers de terre (Tableau 23).

Tableau 23: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la CEC

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
CEC meq/100g	10300,25	1	10300,25	105,8294	0,000000
Error	1849,25	19	97,33		

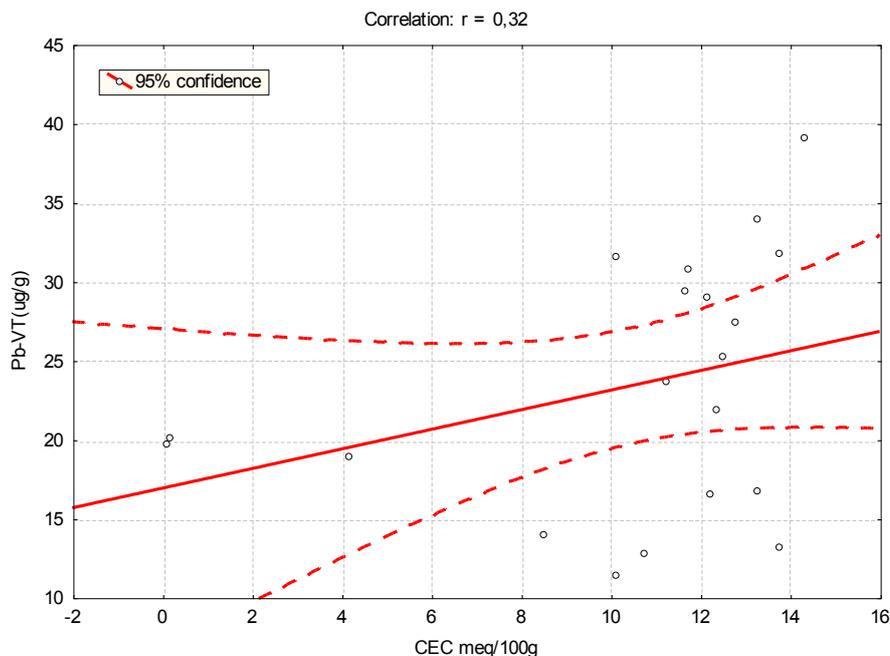


Figure 31: Corrélation entre la CEC et les concentrations du plomb dans les vers de terre.

Le pH influence la CEC et la nature et la décomposition des matières organiques via la faune et la flore du sol. Allan et Jarrell [1989] ont montré que la CECr diminue au fur et à mesure que décroît le pH externe. Les constituants du sol ainsi modifiés vont voir augmenter ou diminuer la capacité de complexation des éléments et ainsi la mobilité et biodisponibilité des ETM [McBride *et al.*, 1997 ; Sauvé *et al.*, 1997 ; Sauvé and McBride, 1998 ; Venditti *et al.*, 2000].

Lock & Janssen [2001a] suggèrent que la capacité d'échange cationique du sol est un meilleur indicateur de la biodisponibilité du Cd et du Zn car il prend en compte le type d'argile et de matière organique.

3.3. Effet du taux d'argile dans le sol sur l'accumulation du plomb

1* Cas de l'orge en présence des vers de terre

Le taux d'argile dans le sol est corrélé positivement avec les concentrations du plomb dans l'orge ($r = 0,20$; NS) comme le montre la figure 32. L'ANOVA indique un effet significatif ($p < 0,001$) du taux d'argile sur la bioaccumulation du plomb par l'orge (Tableau 24).

Tableau 24: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de l'argile (%)

	SS	Ddl	MS	F	p
Argile %	23643,28	1	23643,28	280,1132	0,000000
Error	1603,72	19	84,41		

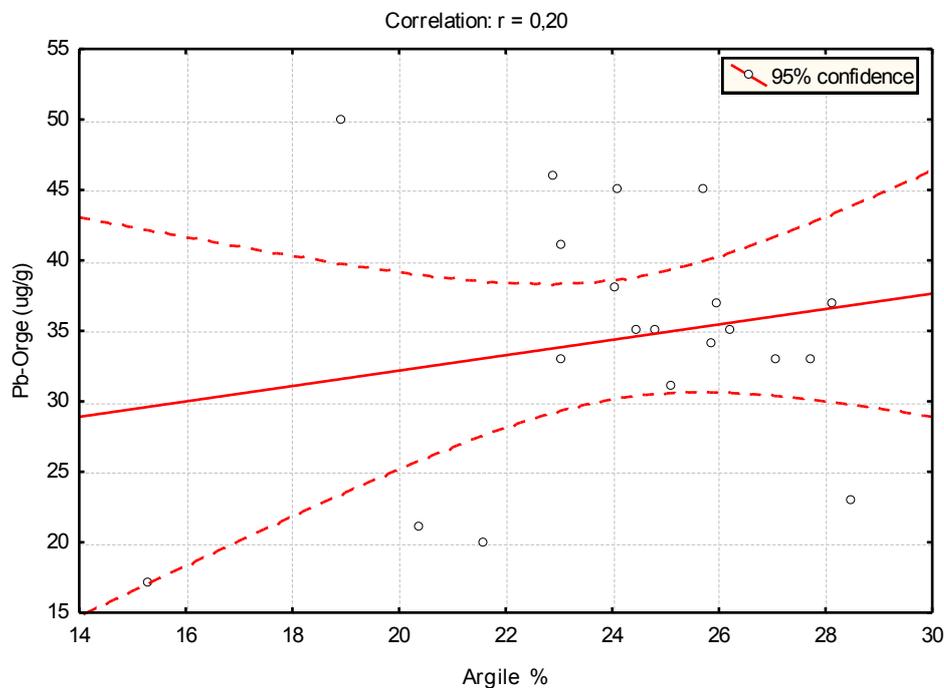


Figure 32: Corrélacion entre le taux des argiles (%) et l'accumulation du plomb par *Hordeum vulgare* en présence des vers de terre *Lumbricus sp*.

2*Cas des vers de terre en présence de la plante

Une corrélation positive (figure 33) entre le taux d'argile dans le sol et les concentrations du plomb dans les vers de terre ($r = 0,23$; NS). L'ANOVA (Tableau 25) indique un effet significatif ($p < 0,001$) du taux d'argile sur la bioaccumulation du plomb par les vers de terre.

Tableau 25: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de l'argile (%)

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
Argile %	10963,97	1	10963,97	175,7151	0,000000
Error	1185,53	19	62,40		

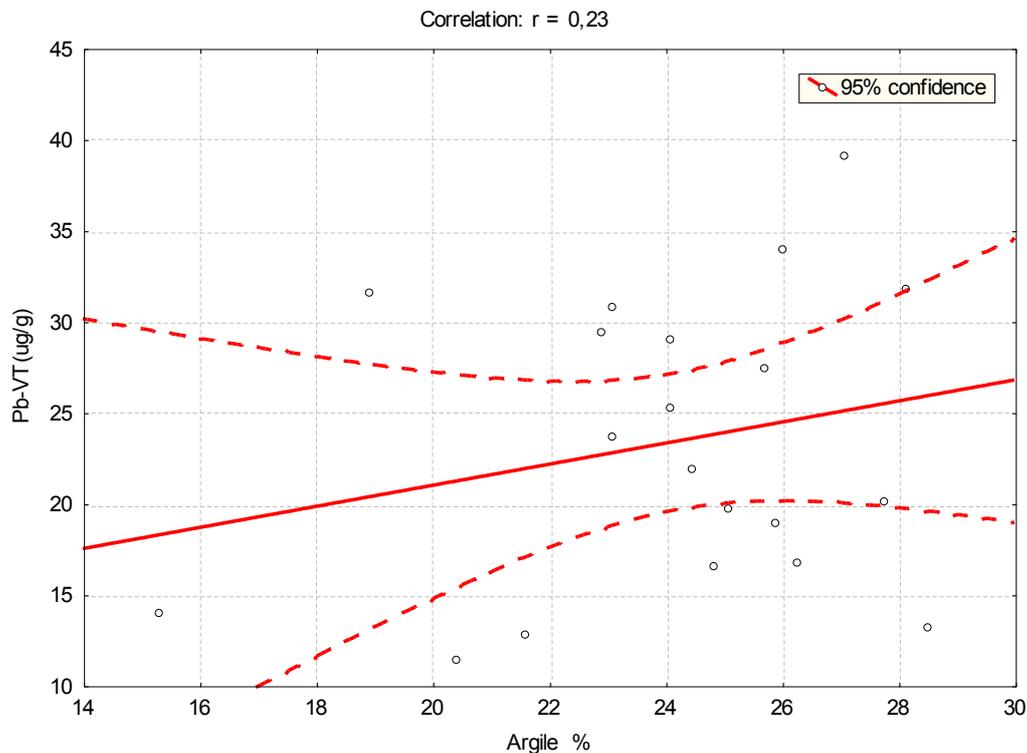


Figure 33: Corrélation entre le taux des argiles (%) et l'accumulation du plomb par les vers de terre.

Les argiles et la matière organique jouent un rôle prépondérant dans l'absorption du plomb par la plante. Les éléments traces montrent une grande affinité pour les substances humiques avec lesquelles ils forment des complexes argileux

humiques stables, éventuellement solubles. Cela explique l'abondance des éléments traces en surface surtout en présence de la matière organique [Baize, 1997].

Le paramètre le plus important du sol est le pH, l'acidité est ainsi considérée comme le déterminant majeur de la partition des métaux entre phases liquide et solide des sols et de leur absorption. Chez les vers de terre cela diffère d'une espèce à une autre et suivant le métal étudié [De Vaufléury *et al.*, 2013]. Lock & Janssen [2001a] ont effectué des expériences avec *Enchytraeus albidus*, qui montrent que la toxicité du Cd et du Zn dépend de la nature de l'argile utilisée et de la matière organique.

3.4. Effet de la MO % sur l'accumulation du plomb

1* Cas de l'orge en présence des vers de terre

Le taux de la MO dans le sol est corrélé négativement avec les concentrations du plomb dans l'orge ($r = -0,26$; NS) comme le montre la figure 34. L'ANOVA représentée dans le tableau 26 indique un effet significatif ($p < 0,001$) du taux de MO sur la bioaccumulation du plomb.

Tableau 26: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la MO (%)

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
MO %	22708,26	1	22708,26	169,9494	0,000000
Error	2538,74	19	133,62		

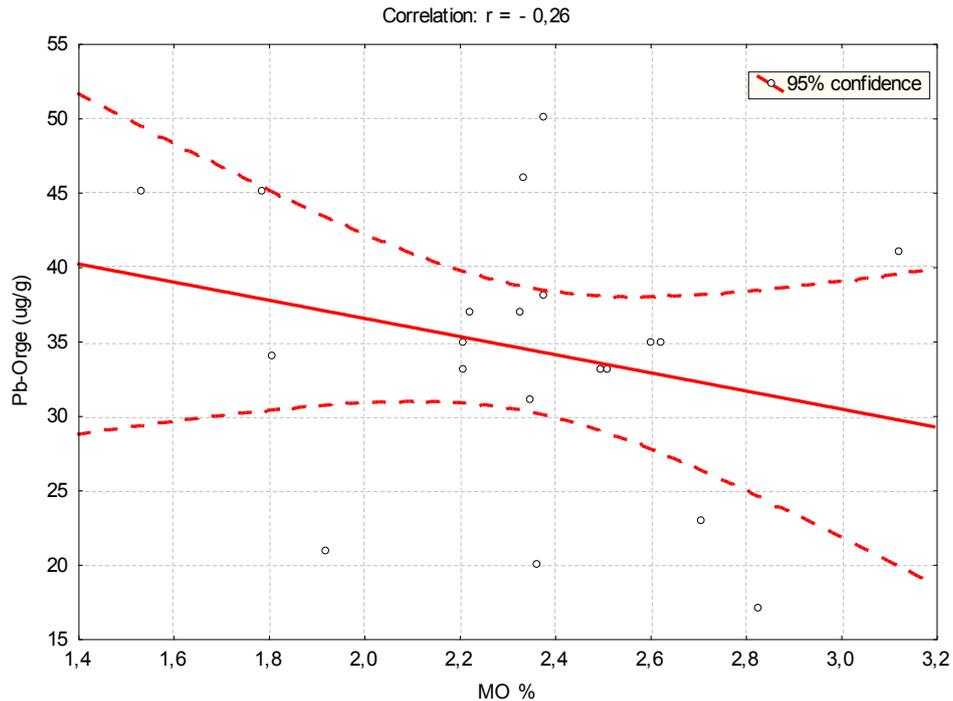


Figure 34: Corrélation entre le taux de MO (%) et l'accumulation du plomb par *Hordeum vulgare* en présence des vers de terre *Lumbricus* sp.

2*Cas des vers de terre en présence de la plante

Le taux de MO dans le sol est corrélé négativement avec les concentrations du plomb dans l'orge (figure 35) avec un coefficient ($r = -0,01$; NS) ; l'ANOVA indique un effet significatif ($p < 0,001$) de ce taux sur la bioaccumulation du plomb (Tableau 27).

Tableau 27: Analyse de la variance à un seul facteur : cas de la MO (%)

	Somme des Carrés	Ddl	Moyen Carré	F	p
MO %	10655,40	1	10655,40	135,5021	0,000000
Error	1494,09	19	78,64		

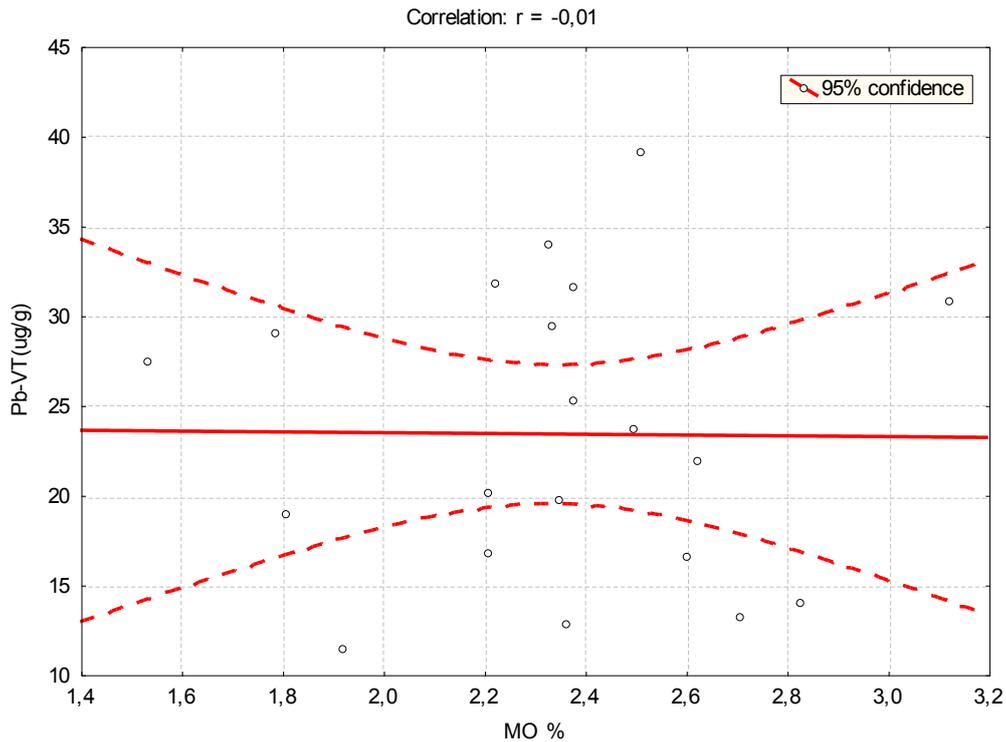


Figure 35: Corrélation entre le taux de MO (%) et l'accumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus sp.*

L'assimilation des éléments par les plantes est fortement dépendante de la biodisponibilité de ces éléments dans le sol. Les constituants du sol, en particulier les argiles et la matière organique peuvent interagir avec les métaux à travers différentes interactions chimiques (interactions électrostatiques...etc.) Toutes ces interactions limitent la biodisponibilité de ces métaux dans le sol. [Tanner et Headley ,2011]. Pour le Pb, Scaps *et al.*, [1997] observent une augmentation de la concentration dans les vers de terre exposés à la plus forte contamination ($2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), l'accumulation de Pb est proportionnelle au temps d'exposition, mais la concentration dans les vers de terre reste très inférieure à celle du milieu. Ces résultats concordent avec ceux de Grelle & Descamps, [1998] et les résultats que nous avons trouvé dans notre étude.

4. Taux d'accumulation du plomb par l'association *Hordeum vulgare* – *Lumbricus sp*

Les valeurs du plomb absorbées par *Hordeum vulgare* et *Lumbricus sp* sont représentées dans la figure 36. 12.91 % du plomb du sol a été accumulé par *Hordeum vulgare* soit (38.00 ± 5.68 ug/g) et 8.78 % par *Lumbricus sp* soit (26.01 ± 6.66 ug/g, FBC : 0.08)

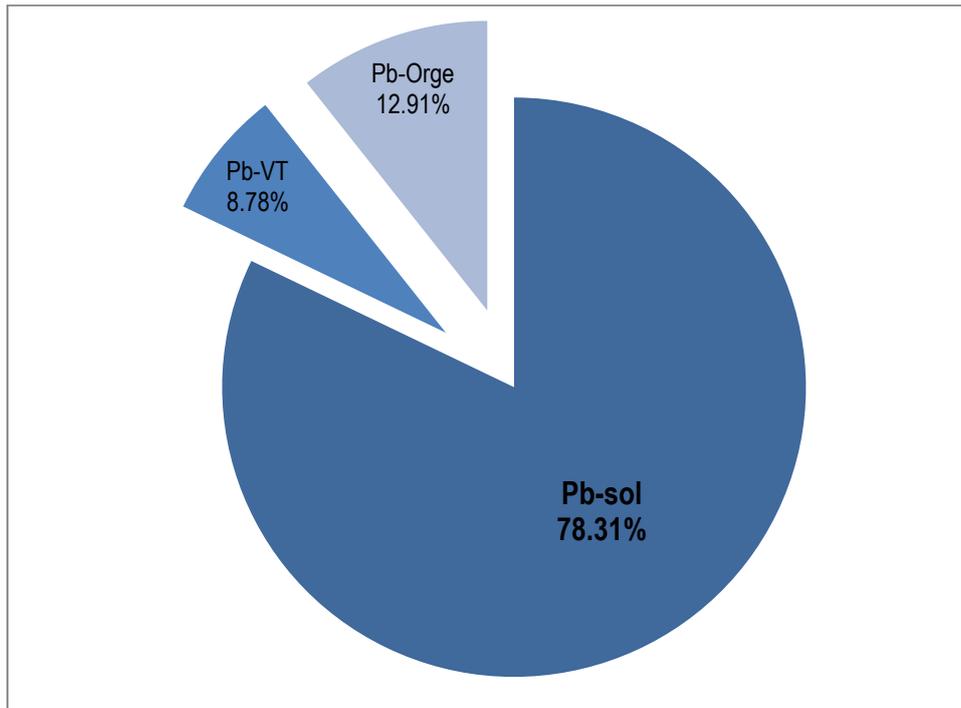


Figure 36: Pourcentage d'accumulation du plomb par l'orge et les vers de terre dans le système 3.

La présence des vers de terre a diminuée la phytoextraction du plomb par l'orge de 5.2 % en comparaison avec les résultats trouvés en absence des vers de terre (Chapitre 3) ; et la concentration du plomb dans les vers de terre a augmentée de 1.54%.

A Lemtiri *et al.*, [2016] ont trouvé que L'ajout de vers de terre aux sols contaminés par Cu, Zn et Pb n'affecte pas les concentrations de métaux dans les plantes. Par contre, Wen *et al.* [2004] ont observé une augmentation de la concentration en métal dans les plantes en présence des vers de terre.

5. Conclusion

La bioaccumulation des métaux dépend de leurs biodisponibilités dans le sol, les propriétés physico-chimiques du sol sont des facteurs essentiels qui peuvent influencer la biodisponibilité des métaux, mais aussi l'activité des vers de terre et celle de la plante. L'interaction entre ces deux organismes fait varier les concentrations du plomb accumulées par chacun d'eux.

La présence des vers de terre (*Lumbricus* sp) diminue la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare* (38.00 ± 5.68 ug/g contre 59.44 ± 13.16 ug/g en absence des vers de terre), alors que les concentrations enregistrées dans les tissus des vers de terre suggèrent que la présence de la plante augmente ces concentrations ($23,37 \pm 8.02$ ug/g en présence de la plante 20.85 ± 11.71 ug/g en son absence). Ceci peut être expliqué par une compétition entre les deux organismes dans l'absorption des métaux lourds.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology*., <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Allan D. L. and Jarrell W. M., (1989). Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls.- *Plant Physiology*, 89., pp 823-832.
- Alloway B J., (1995). The mobilisation of trace elements in soils. Proceeding contaminated soils, 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris, France, 15-19 May, p.133.
- Alloway B. J. (1995), *Heavy metals in soils*, London, Blackie academic & professional.
- Baize D. (1997), *Teneurs totales en ETM dans les sols (France)*, Paris, INRA. p :408
- Blaylock, M.J. and Huang, J.W., (2000). Phytoextraction of metals. In: I. Raskin and B.D. Ensley eds. *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment*. New York, John Wiley & Sons, Inc, pp. 53-70.
- Brown, G.G. (1995). How do earthworms affect microflora and faunal community diversity? *Plant and Soil* 170, 209-231.
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), *Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*, ADEME, France, pp.46–90;
- Grelle C., Descamps M., (1998), Heavy metal accumulation by *Eisenia fetida* and its effects on glutathione-S-transferase activity, *Pedobiologia*, 42, pp.289-297;
- Hartenstein, R. and Hartenstein, F. (1981). Physico-chemical changes effected in activated sludge by the earthworm *Eisenia fetia*. *J. Environ. Qual.* 10, 377-382.
- Huynh T.M.D., (2009). *Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique*. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Kennette D., Hendershot W., Tomlin A. &
- S., (2002), Uptake of trace metals by earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils, *Applied Soil Ecology*, 19, pp.191-198;

- Lock K. & Janssen C.R., (2001), Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*, *Chemosphere*, 44, pp.1669-1772;
- McBride M., Sauvé S. & Hendershot W.H., (1997), Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils, *European Journal of Soil Science*, 48, pp.337-346;
- McBride M.B., (1994), "Environmental chemistry of soils". New York, Oxford University Press, 406 p., ISBN 0- 19- 507011- 9;
- McLaughlin, M.J., Zarcinas, B.A., Stevens, D.P., Cook, N., (2000). Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31. pp.11-14, pp.1661-1700.
- Oste L.A., Dolfing J., Ma W.C., Lexmond T.M., (2001), The effect of beringite on Cd and Zn uptake by plants and earthworms: More than a liming effect?, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20, pp.1339-1345;
- Sauvé S, McBride M, Norvell W A, Hendershot W H. (1997). Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air and Soil Pollut.*; 100: 133-149.
- Sauvé S., McBride M., (1998), Lead phosphate solubility in water and soil suspensions. *Environmental Science and Technology*, 32, pp.388-393;
- Scaps P., Grelle C., Descamps M., (1997), Cadmium and lead accumulation in the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny) and its impact on cholinesterase and metabolic pathway enzyme activity, *Comparative Biochemistry and Physiology.*, 116 C, pp.233-238;
- Spurgeon D.J., Lofts S., Hankard P.K., Toal M., McLellan D., Fishwick S., Svendsen C., (2006), Effect of pH on metal speciation and resulting metal uptake and toxicity for earthworms, *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 25, pp.788-796;
- Spurgeon, D. J., Hopkin, S. P. (1996). The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Applied Soil Ecology* 4, 147–160.
- Tanner C. C., Headley T. R., (2011), Components of floating emergent macrophyte treatment wetlands influencing removal of stormwater pollutants, *Ecological Engineering*. 37(3), pp.474-486;

- Van Gestel C.A.M. (1992). The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: A review. In: Ecotoxicology of earthworms. Greig-Smith P.W., Becker H., Edwards P.J. Heimbach F. (Eds), Intercept Press Ltd, Hants, UK, 44-54.
- Venditti, D., Durécu, S., Berthelin, J., (2000), A multidisciplinary approach to assess history, environmental risks, and remediation feasibility of soils contaminated by metallurgical activities, Part A: chemical and physical properties of metals and leaching ability, Archives of Environmental Contamination & Toxicology., 38, pp.411-420;
- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004), The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, Biology and Fertility of Soils, 40, pp.181–187;

Chapitre 6 : Effet du plomb sur la biomasse des vers de terre

Chapitre 6 : Effet du plomb sur la biomasse des vers de terre

Le rôle important des vers de terre dans la bioamplification des métaux lourds dans les écosystèmes terrestres est largement reconnu. Les différences de la biomasse de vers de terre entre les sites ne sont généralement pas prises en compte dans l'évaluation des risques écologiques. Ces différences peuvent être grandes en fonction des propriétés du sol et de l'état de la pollution. [Vandecasteele *et al.* 2004].

Cependant, les métaux lourds ont des effets variables en fonction des espèces, du stade de développement, du mode de vie (lieu de vie et régime alimentaire) et de leur capacité d'adaptation face à la pollution. Ces effets varient également suivant la nature du métal, sa forme chimique et les propriétés du sol. [Huynh T.M.D., 2009].

1. Variation de la biomasse des vers de terre inter- systèmes

Les moyennes de la biomasse des vers de terre enregistrées dans les deux systèmes sont illustrées dans la figure 37.

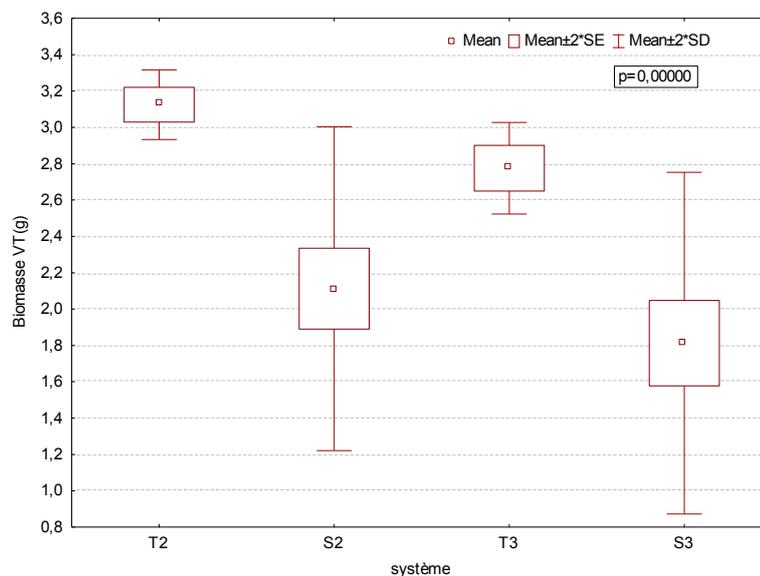


Figure 37: Variation de la biomasse des vers de terre entre les sols pollués et les sols témoins.

La biomasse des vers de terre enregistrée dans les deux systèmes (figure 37) est significativement différente ($p < 0.001$) elle est plus élevée en absence de la plante dans le système S2 (2.11 ± 0.45 g) qu'en sa présence dans le système S3 (1.81 ± 0.47 g). Cependant les biomasses des blocs témoins restent supérieures par rapport aux blocs pollués.

2. Variation de la biomasse des vers de terre intra-système

A la fin de l'expérimentation, les vers de terre ont été pesés et le taux relatif de croissance des vers de terre est calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Taux de croissance relatif} = (W_t - W_0) / (W_0) \cdot 100\%$$

Où : W_0 est le poids initial des vers de terre (3 ± 0.5 g),

W_t est le poids après 21 jours [A Lemtiri *et al.*, 2016].

Les moyennes \pm SD de chaque bloc sont représentées dans le tableau 28, en présence (S3) et absence (S2) de l'orge.

Tableau 28: Taux relatif de croissance des vers de terre (*Lumbricus* sp) en présence et/ou absence de l'orge.

Taux relatif de croissance des vers de terre				
Bloc	S2 (Absence de l'orge)		S3 (Présence de l'orge)	
BT	4.17 ± 3.19	↗	-7.5 ± 4.19	↘
B1	-13.33 ± 7.20	↘	-52.5 ± 10.32	↘
B2	-29.17 ± 15.49	↘	-27.5 ± 8.33	↘
B3	-29.17 ± 6.31	↘	-37.5 ± 23.15	↘
B4	-46.67 ± 5.44	↘	-40.83 ± 9.57	↘

↗ Augmentation du taux de croissance.

↘ Diminution du taux de croissance

La régression du taux de croissance de *Lumbricus* Sp (Tableau 28) est observée dans la totalité des traitements sauf en absence de pollution et de plante dans le bloc témoin du système (sol-vers de terre) où nous avons constaté une croissance de la biomasse de (4.17 ± 3.19 %).

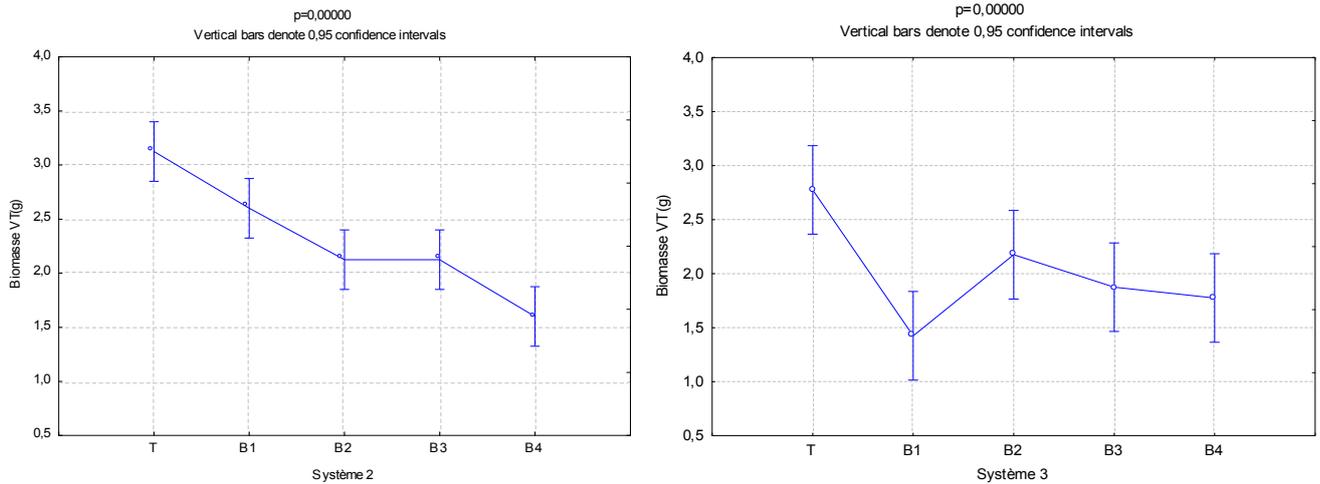


Figure 38: Analyse de variance de la biomasse des vers de terre (g) dans les différents blocs de système 2 et 3

L'ANOVA illustrée dans la figure 38 révèle une variation significative de la biomasse intra et inter système, l'effet de la concentration du plomb (Effet bloc) dans le sol sur la biomasse est hautement significatif ($p < 0.001$) ainsi que l'effet de la présence de la plante (Effet système) $p < 0.001$.

3. Corrélation entre les concentrations du plomb dans le sol et la biomasse des vers de terre

L'influence des concentrations du plomb dans le sol sur la biomasse des vers de terre est plus prononcée en absence de la plante, cet effet est bien visible dans la figure 39, où nous observons une corrélation négative pour les deux systèmes qui est significative dans le S2 (figure 39, a) avec un coefficient ($r = -0.85^{**}$) et non significative dans le S3 (figure 39, b) avec un coefficient ($r = -0.37$; NS)

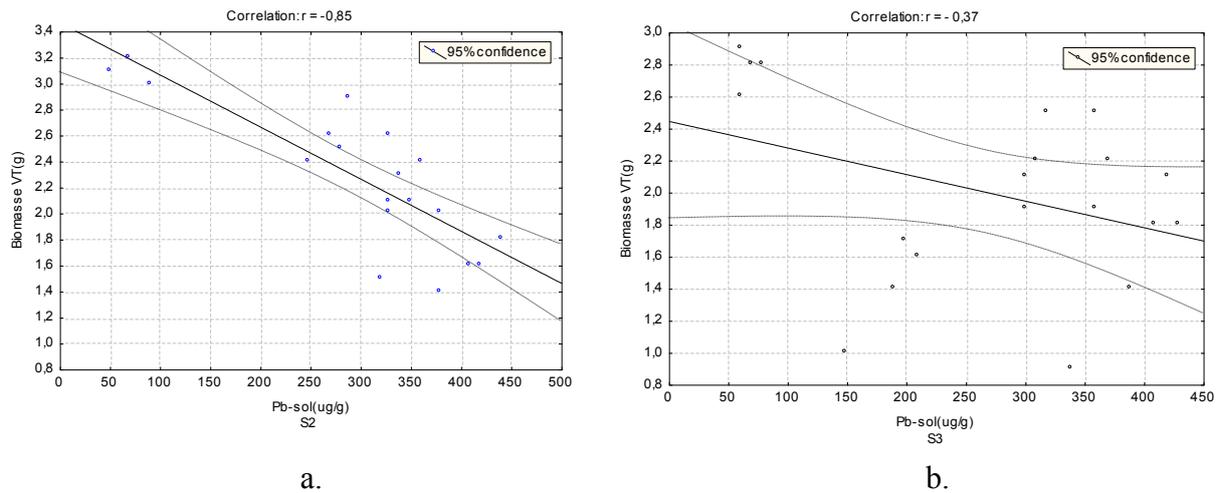


Figure 39: Corrélation entre les concentrations du plomb dans le sol et la biomasse des vers de terre dans le Système 2 (a) et le Système 3 (b).

La présence de la plante diminue le taux de plomb disponible dans le sol, dans la mesure où elle accumule une partie. Ce qui réduit l'impacte du plomb sur les vers de terre et donc leur poids. A Lemtiri *et al.*, [2016] rapportent dans leur étude qu'il existe une compétition entre les vers de terre *E. fetida* et les plantes *Vicia faba* et *Zea mays* pour l'absorption et l'accumulation des métaux lourds.

4. Influence des paramètres physico-chimiques sur la biomasse des vers de terre

La perte de poids chez les vers de terre *Lumbricus* Sp est significativement et positivement corrélée avec le pH et la CEC du sol ($r = 0.59^{***}$; $r = 0.41^{**}$) respectivement, mais négativement corrélée avec la CE ($r = -0.42^{**}$). Et une corrélation positive, non significative est observée entre la MO ($r = 0.01$), le sable ($r = 0.11$), le limon ($r = 0.03$) du sol et la biomasse ; et négative avec l'argile ($r = -0.05$) (figure 40).

L'analyse de variance indique un effet significatif du pH, CEC, MO, Argile et Sable sur la biomasse du ver ($p < 0.01$) et un effet hautement significatif du Limon et CE ($p < 0.001$).

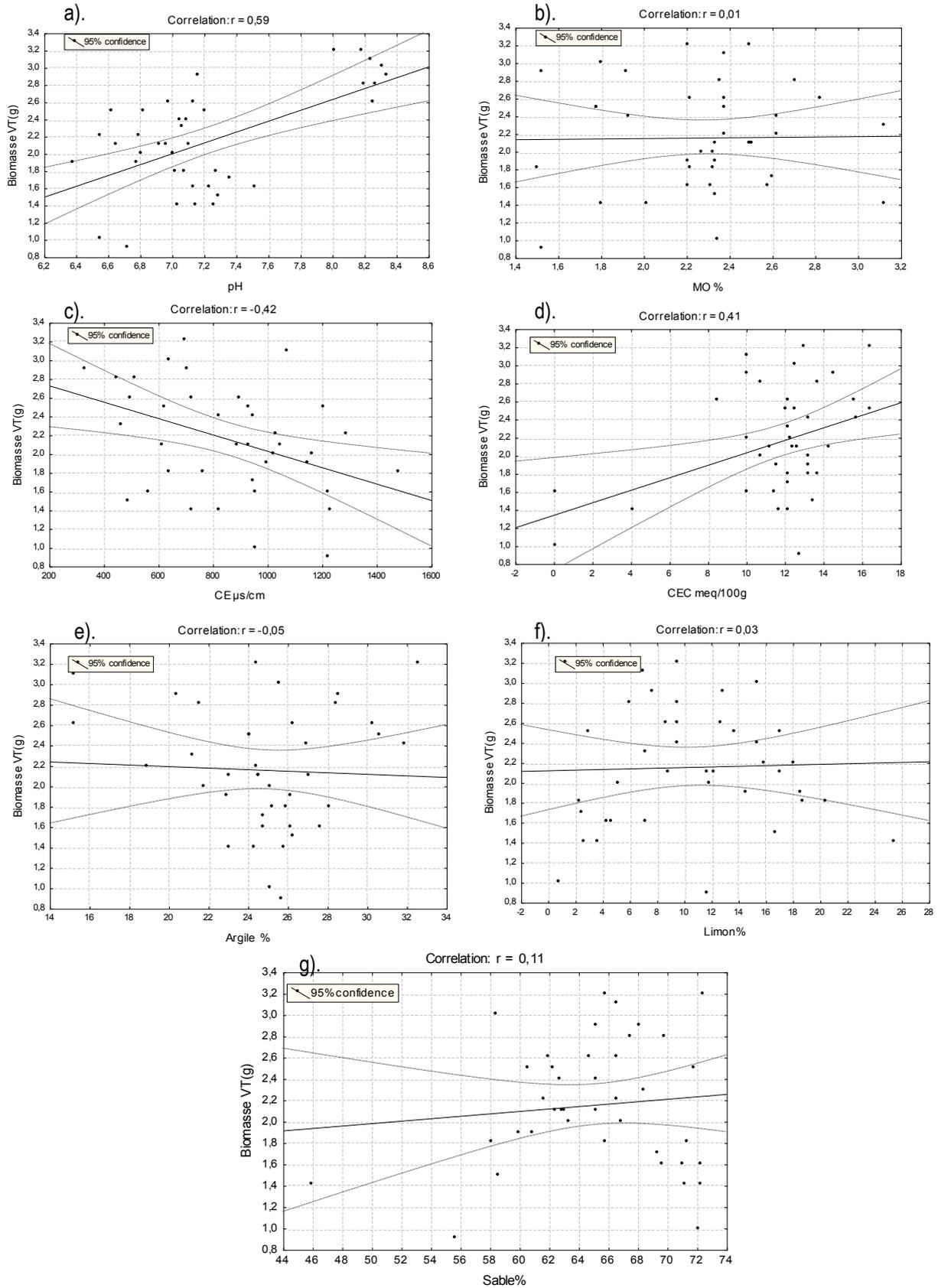


Figure 40: Corrélation entre la biomasse des vers de terre et les paramètres physico-chimiques du sol : pH (a), MO (b), CE (c), CEC (d), Argile (e), Limon (f) et sable (g).

L'augmentation de la teneur en métaux lourds au delà d'un certain seuil réduit la densité des vers [Pizl et Josen, 1995] et influe négativement sur leur croissance pondérale, leur développement sexuel et la production de cocons [Spurgeon et Hopkin, 1996, 1999]. Spurgeon *et al.*, [2000] ont observé des pertes significatives de poids à partir de 1200 – 2000 ppm de zinc.

La pollution métallique des sols n'influe pas seulement sur la croissance pondérale des vers de terre mais aussi sur leurs taux de survie comme l'indiquent Spurgeon *et al.* [2000] ou ils observent une réduction significative de 4 espèces de vers de terre pour des concentrations en zinc comprises entre 2000 – 3600 ppm.

L'influence des paramètres physico-chimiques du sol sur les vers de terre a été étudiée par W. Luo *et al.* [2014], dans cette étude ils rapportent que la survie, la croissance et la reproduction ainsi que l'absorption du plomb chez les vers de terre sont corrélées avec les concentrations totales ou disponibles de Pb et, aussi, elles peuvent être affectées par différentes propriétés du sol telles que pH, CEC et MO et teneur en sable.

Dans la même étude W. Luo *et al.* [2014] indiquent que le pH du sol et la teneur en matière organique affectent significativement le nombre de vers juvéniles, mais n'affectent pas la mortalité, la perte de poids et les concentrations du Pb interne dans les vers de terre.

Par ailleurs, Depta *et al.* [1999] indiquent que l'un des mécanismes potentiels d'adaptation des vers à la pollution est l'évitement. Les vers, placés en sols pollués, seraient ainsi en mesure de différencier la matière organique selon son niveau de contamination. Ce qui expliquerait les différences de concentration entre les vers de terre de différents sites et aussi la différence entre les espèces des vers de terre.

De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend ce processus de bioconcentration (i) l'espèce de vers et sa catégorie écologique, (ii) le type de métal et sa spéciation, (iii) les propriétés physiques et chimiques du sol, (iv)

la saison et (v) quand il s'agit d'une pollution diffuse, la distance à la source de contamination. [Huynh T.M.D., 2009].

5. Conclusion

Les différences de la biomasse des vers de terre entre les sites ne sont généralement pas prises en compte dans l'évaluation des risques écologiques, cependant, la pollution des sols par le plomb affecte considérablement la biomasse des vers de terre. Nous avons constaté que la biomasse des vers de terre dans les blocs témoins est supérieure par rapport à celle enregistrée dans les blocs pollués.

Une régression du taux de croissance de *Lumbricus* Sp suivant les taux de plomb dans le sol est enregistrée dans la totalité des traitements sauf en absence de pollution et de la plante dans le bloc témoin du système 2 (sol-vers de terre) où nous avons constaté une croissance de la biomasse de $(4.17 \pm 3.19 \%)$.

Les vers de terre sont influencés par les paramètres physico-chimiques du sol, la biomasse est corrélée avec les concentrations totales de Pb, elle est aussi affectée par différentes propriétés du sol telles que le pH, la CEC et le taux de matière organique et d'argile.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Depta, B., Koscielniak, A., Rozen, A. (1999). Food selection as a mechanism of heavy metal resistance in earthworms. *Pedobiologia* 43, 608–614.
- Huynh T.M.D., (2009). Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Pizl, V., Josens, G. (1995) Earthworm communities along a gradient of urbanization. *Environmental Pollution* 90, 7–14.
- Spurgeon, D. J., Hopkin, S. P. (1996). The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Applied Soil Ecology* 4, 147–160.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Arch Environ Contam Toxicol* 37, 332–337.
- Spurgeon, D.J., Svendsen, C., Rimmer V.R., Hopkin S.P., and Weeks J.M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, 1800–1808.
- Vandecasteele Bart, Jurgen Samyn, Paul Quataert, Bart Muys, Filip M.G. Tack. (2004), Earthworm biomass as additional information for risk assessment of heavy metal biomagnification: a case study for dredged sediment-derived soils and polluted floodplain soils *Environmental Pollution* 129 (2004) 363–375
- Wei Luo , Rudo A. Verweij, and Cornelis A.M. van Gestel (2014) Determining the bioavailability and toxicity of lead contamination to earthworms requires using a combination of physicochemical and biological methods ,*Environmental Pollution* 185 (2014) 1e 9.

***Chapitre 7 : Effet de l'interaction plante / vers de terre sur la
bioremédiation du plomb***

Chapitre 7 : Effet de l'interaction plante / vers de terre sur la bioremédiation du plomb

Les vers de terre augmentent la disponibilité des métaux lourds dans certaines situations et aident à maintenir la structure et la qualité du sol. L'introduction de vers de terre dans des sols contaminés par des métaux a été suggérée comme une aide pour les processus de phytoremédiation [A Lemtiri., *et al* 2016]. En accélérant les processus de minéralisation de la matière organique dans les sols pauvres, les vers de terre permettent aux plantes de mieux s'adapter aux conditions défavorables [Jana., 2009], et ils améliorent la croissance des plantes et la phytoextraction du plomb [Huynh T.M.D., 2009].

L'efficacité de l'association des vers de terre et des plantes pour la bioremédiation des sols contaminés a été rapportée par plusieurs auteurs. Par exemple : les résultats trouvés par Huynh T.M.D., [2009] démontrent clairement que l'association du ver de terre (*P. corethrurus*) et de la plante hyperaccumulatrice (*L. camara*) a un potentiel considérable pour la décontamination de sols pollués par plomb.

1. Concentrations totales du plomb dans les 3 systèmes accumulées par la plante et les vers de terre.

Les concentrations du plomb accumulées par les organismes (plante et vers de terre) des 3 systèmes sont représentées dans la figure 41, nous constatons que l'association plante-vers de terre (S3) présente la concentration la plus élevée, une différence hautement significative est observée entre les trois systèmes ($p < 0.001^{***}$).

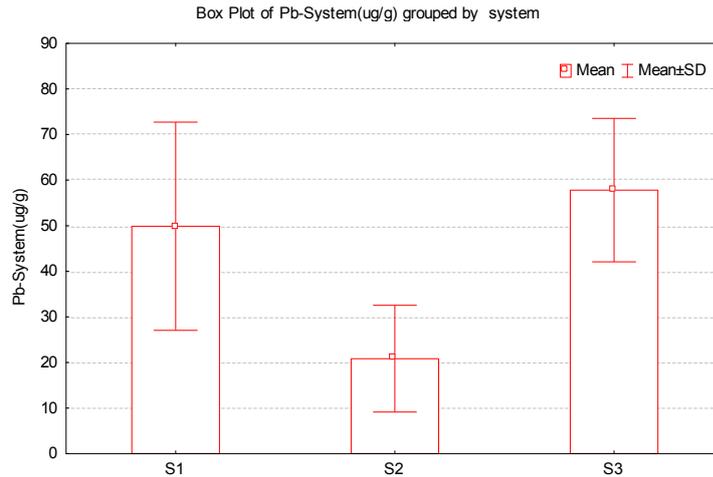


Figure 41: Concentrations du plomb extrait du sol dans les trois systèmes (S1: sol_plante ; S2: sol _vers de terre; S3: sol_plante _vers de terre)

Les concentrations du plomb accumulées par la plante et les vers de terre augmentent significativement avec le taux du plomb du sol ($p < 0.001$). ce qui concorde pour l'orge avec les résultats de Maatoug *et al.*, [2013] qui soulignent que l'accumulation du plomb par l'orge varie suivant la concentration du plomb dans le sol et les paramètres physico-chimiques du sol.

La bioaccumulation des métaux chez les vers de terre dépend beaucoup de l'espèce et des caractéristiques de leur milieu de vie, notamment de la composition du sol et de son pH [Van Gestel & Ma, 1988 ; Morgan & Morgan, 1991 ; Morgan & Morgan, 1999 ; De Vaufleury *et al.*, 2013]. La présence de la plante et des vers de terre peut créer une compétition entre eux pour l'accumulation du plomb. En produisant des exsudats, les plantes peuvent modifier la spéciation des métaux et leur comportement dans le sol, en particulier dans la rhizosphère [Chaignon et

Hinsinger, 2003; Uzu *et al*, 2009] et par conséquent, les plantes peuvent influencer sur l'accumulation des métaux par les vers de terre. [A. Lemtiri *et al.*, 2016].

2. Interaction plante/ vers de terre/ plomb

Notre étude a porté sur l'interaction entre les vers de terre (*Lumbricus sp*) et la plante (*Hordeum vulgare*) pour la bioremédiation d'un sol contaminé artificiellement par le plomb.

Pour étudier l'effet des cinq concentrations de plomb utilisées pour cette expérimentation qui sont réparties en blocs sur les concentrations enregistrées, un test ANOVA a été réalisé (figure 42). Une différence hautement significative est observée pour l'effet de la dose de plomb apportée sur la concentration du plomb dans le sol, la plante et les vers de terre ($P < 0,000^{***}$).

Nous notons un pouvoir fixateur important du plomb par le sol suivant les doses apportées au début de l'expérimentation. Le système S3 (sol-plante-vers de terre) présente la concentration la plus élevée de plomb extraite du sol.

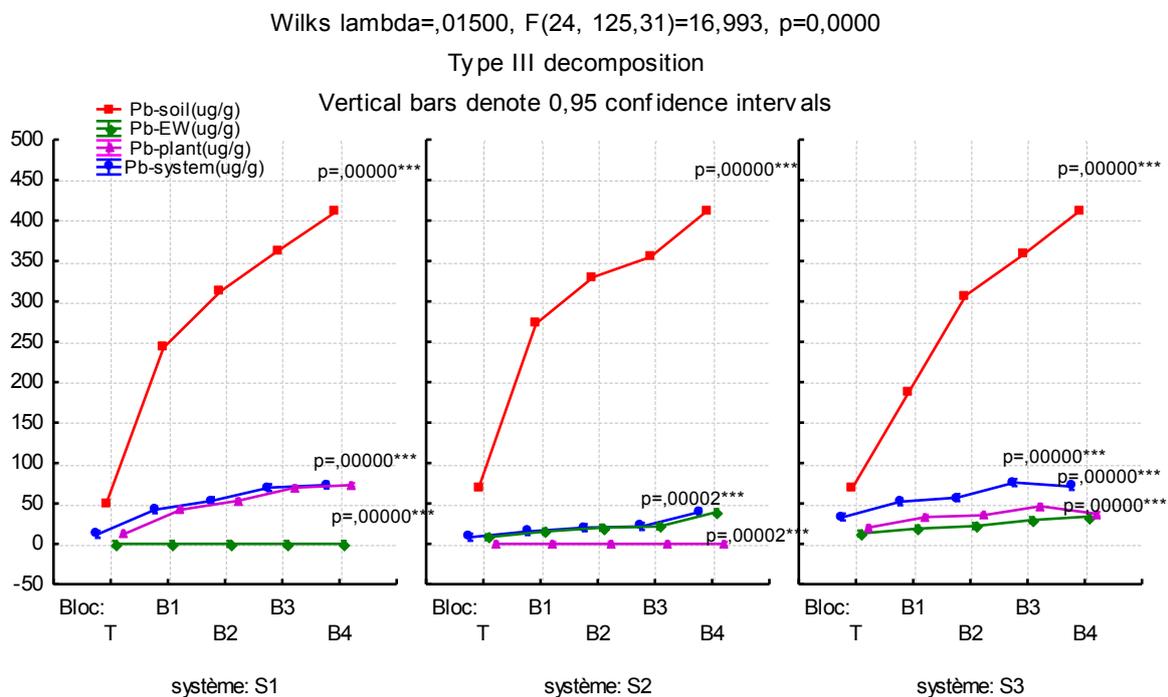


Figure 42: Effet de l'interaction bloc x Pb concentration dans la plante, vers de terre, sol et Pb système³

³ Pb système : c'est la concentration totale du plomb extrait du sol dans un système.

L'orge accumule les éléments traces à des degrés différents suivant le métal en question et sa concentration dans le sol, Maatoug *et al.*, [2013] rapportent que dans un sol agricole contaminé par le plomb ($1714.39 \pm 512.62 \mu\text{g/g}$) l'orge accumule jusqu'à ($36.28 \pm 14.90 \mu\text{g/g}$) ce qui représente 2% du plomb accumulé dans le sol.

Le plomb contrairement aux autres éléments (Zn, Cu...) n'est pas un élément essentiel car bien que présent dans les plantes, il ne participe à aucune fonction physiologique ou biochimique connue [Marschner, 1995] il est donc absorbé par la plante suivant une autre voie d'absorption que celle des éléments essentiels [A Lemtiri *et al.*, 2016]

2.1. Concentration du plomb dans les vers de terre entre présence/ absence de la plante

Les moyennes des concentrations du plomb dans les tissus des vers de terre après 21 jours d'exposition sont reportées dans la figure 43.

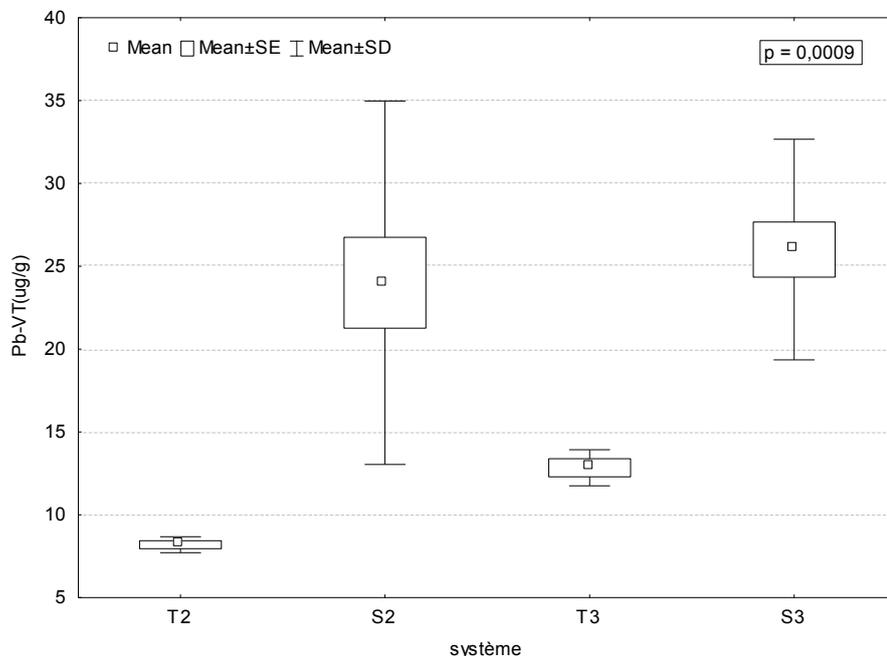


Figure 43 : Concentration du plomb dans les vers de terre en présence (S3-T3) et en absence (S2-T2) de la plante.

Nous observons que les concentrations du plomb dans les tissus des vers de terre dans les sols pollués sont plus élevées en présence de la plante (26.01 ± 8.02 ug/g) contre (24.01 ± 10.97 ug/g) en son absence. Nous avons observé la même différence dans les sols témoins entre la présence et l'absence de la plante. La présence de la plante affecte significativement les concentrations de plomb dans les vers de terre ($P < 0.001$).

2.2. Concentration de plomb dans la plante en présence/ absence des vers de terre

Les moyennes des concentrations du plomb dans la plante des deux systèmes sont représentées dans la figure 44. L'ANOVA indique que la présence des vers de terre affecte significativement les concentrations du plomb dans la plante ($P < 0.001$).

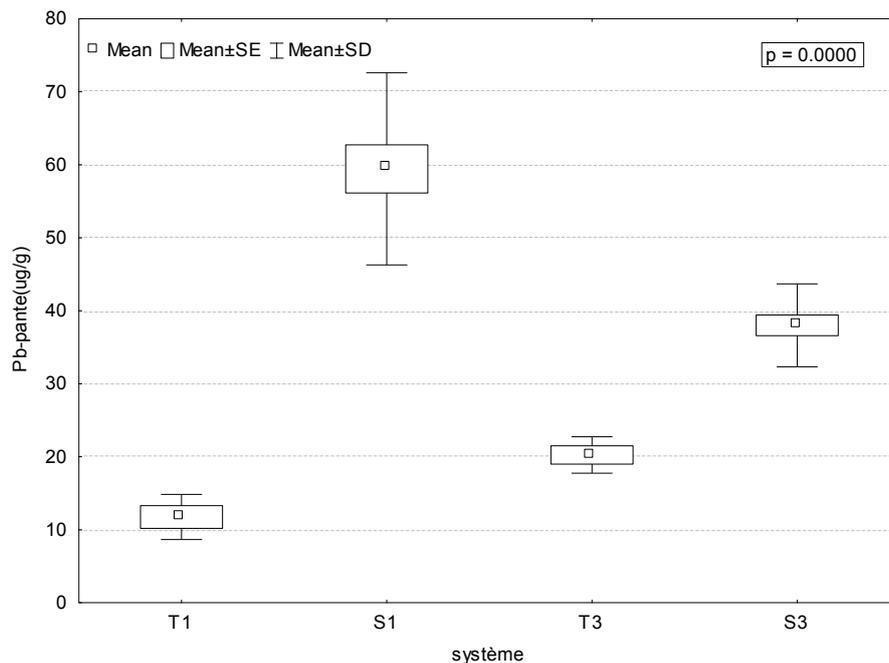


Figure 44 : Concentration du plomb dans la plante en présence (S3-T3) et en absence (S1-T1) des vers de terre.

Nous constatons que la plante accumule plus le plomb seule qu'en présence des vers de terre (59.44 ± 13.16 ug/g; 38.00 ± 5.68 ug/g) respectivement.

Wen *et al.* [2004] ont observé une augmentation de la concentration en métal dans les plantes en présence des vers de terre, ce qui est l'inverse de ce que nous avons observé dans notre étude ; la concentration du plomb dans l'orge diminue fortement en présence de *Lumbricus sp.*, ces différentes concentrations peuvent s'expliquer par des capacités d'accumulation et d'affinité suivant la plante et le métal en question.

Les vers de terre (de diverses espèces) qui vivent dans des sols pollués par des métaux, principalement de source anthropogène, ont des teneurs en métaux lourds, beaucoup plus élevées que ceux qui se développent en zones non polluées [Ireland, 1983 ; Morgan & Morgan, 1988 ; Dai *et al.*, 2004; De Vaufleury *et al.*, 2013]. D'autres études rapportent que les concentrations dans les vers de terre étaient faiblement corrélées à celles des sols [Beyer & Cromartie, 1987 ; Abdul Rida & Bouché, 1995], les résultats trouvés dans notre étude indiquent une corrélation très significative entre le plomb du sol et le plomb des vers de terre (*Lumbricus sp.*).

Les vers de terre peuvent bioconcentrer certains produits chimiques en faisant intervenir des mécanismes d'absorption sélective et d'excrétion, qui varient suivant les espèces de vers de terre et les familles de produits chimiques [De Vaufleury *et al.*, 2013].

La capacité de bioaccumulation des métaux lourds par les vers de terre est largement étudiée et de nombreuses différences dans la bioaccumulation ont été signalées entre des espèces de vers de terre écophysiologiquement distinctes [Morgan *et al.*, 1986 ; Beyer *et al.*, 1987 ; Morgan & Morgan, 1992, 1999 ; Morgan *et al.*, 1993, 1999 ; Van Vliet *et al.*, 2005 ; Kamitani & Kaneko, 2007].

En ce qui concerne l'accumulation du plomb par les vers de terre, la présence de la plante augmente la concentration du plomb dans les tissus des vers de terre ces résultats concordent avec ceux trouvés par A. Lemtiri *et al.* [2016].

3. Conclusion

L'orge accumule les éléments traces à des degrés différents suivant le métal en question et sa concentration dans le sol. Cette étude met en évidence l'influence qu'exerce l'activité des vers de terre sur la bioaccumulation du plomb.

Le taux le plus élevé de remédiation ($64.01 \pm 12.34 \text{ ug g}^{-1}$) est observé dans le système 3 (sol-plante-vers de terre) en comparaison aux deux autres : S1: sol-vers de terre ($24.01 \pm 10.97 \text{ ug g}^{-1}$) et S2 : sol-plante ($59.44 \pm 13.16 \text{ ug g}^{-1}$). Cependant la présence des vers de terre (*Lumbricus* sp) diminue la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare* (12,91% contre 18,11% en l'absence des vers de terre), alors que les concentrations enregistrées dans les tissus des vers de terre suggèrent que la présence de la plante augmente ces concentrations (8,78% en présence de la plante 7,24% en son absence). Ceci peut être expliqué par une compétition entre les deux organismes dans l'absorption des métaux lourds.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, Applied Soil Ecology., <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Abdul Rida A.M.M., Bouché M.B., (1995), The eradication of an earthworm genus by heavy metals in southern France, Applied Soil Ecology, vol.2, pp.45-52;
- Beyer W.N., Cromartie E.J. (1987), A survey of Pb, Cu, Zn, Cd, Cr, As and Se in earthworms and soils from diverse sites, Environmental Monitoring and Assessment, vol.8, pp.27-36;
- Beyer W.N., Hensler G. & Morre J., (1987), Relation of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd and Se in earthworms, Pedobiologia, vol.30, pp.167-172;
- Chaignon V., Hinsinger, P., (2003), A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil, Journal of Environmental Quality, 32, pp.824–833;
- Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Bernhard-Reversat F., Nahmani J. & Lavelle P. (2004). Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. Soil Biol. Biochem., 36, 91-98.
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes, ADEME, France, pp.46–90;
- Huynh T.M.D., (2009). Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Océan, Atmosphère. Université Paris-Est, 2009. French. <tel-00486649>
- Ireland M.P. (1983). Heavy metal uptake and tissue distribution in earthworms. In: Earthworm Ecology from Darwin to Vermiculture. Satchell J.E. (Ed.) Chapman and Hall, London, UK, 247-265.
- Jana U., (2009), Etude des interactions entre la plante *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh et les vers de terre *Aporrectodea caliginosa* (Savigny) : Application à la phytoremédiation de l'arsenic et de l'antimoine, these de doctorat de l'université Paris-Est.

- Kamitani T., & Kaneko N., (2007), Species-specific heavy metal accumulation patterns of earthworms on a floodplain in Japan, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, pp.82-91;
- Maatoug M., Amirat M., Zerrouki D., Ait Hammou M., (2013), Decontamination of Agricultural soil polluted with lead using the common barley (*Hordium vulgare*), *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 31 (1), pp.23-35;
- Marschner H., (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second edition. Academic press, London.
- Morgan A.J., Morgan J.E., Turner M., Winters C. & Yarwood A., (1993), Metal relationships of earthworms, *Ecotoxicology of Metals In Invertebrates*, Dallinger R. & Rainbow P.S. (Eds), SETAC, Lewis Publ., USA, pp.333-358;
- Morgan A.J., Morris B., James N., Morgan J.E. & Leyshon K., (1986), Heavy metals in terrestrial macroinvertebrates: Species differences within and between trophic levels, *Chemistry and Ecology*, 2, pp.319-334;
- Morgan A.J., Stürzenbaum S.R., Winters C. & Kille P. (1999). Cellular and molecular aspects of metal sequestration and toxicity in earthworms. *Invert. Reprod. Develop.*, 36, 17-24.
- Morgan J.E. & Morgan A.J. (1990). The distribution of cadmium, copper, lead, zinc and calcium in the tissues of *Lumbricus rubellus* sampled from one uncontaminated and four polluted soils. *Oecologia (Berlin)*, 84, 559-566.
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1988), Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils, *Environmental Pollution*, 54, pp.123-138;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1991), Differences in the accumulated metal concentrations in two epigeic earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus*) living in contaminated soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, pp.296-301;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1992), Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologicaly different earthworm species, *Soil Biology & Biochemistry*, 24, pp.1691-1697;
- Morgan J.E., Morgan A.J., (1999), The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus*

and *Aporrectodea caliginosa*): Implications for ecotoxicological testing, *Applied Soil Ecology.*, 13, pp.9-20;

- Uzu, G., Sobanska, S., Aliouane, Y., Pradere, P., Dumat, C., (2009), Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation, *Environmental Pollution*, 157, pp.1178–1185;
- Van Gestel C.A.M., Ma W.C., (1988), Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil, *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 15, pp.289-297;
- Van Vliet P.C.J., Van der Zee S.E.A.T.M. & Ma W.C., (2005), Heavy metal concentrations in soil and earthworms in a floodplain grassland. *Environmental Pollution.*, 138, pp.505-516;
- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004), The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 40, pp.181–187;

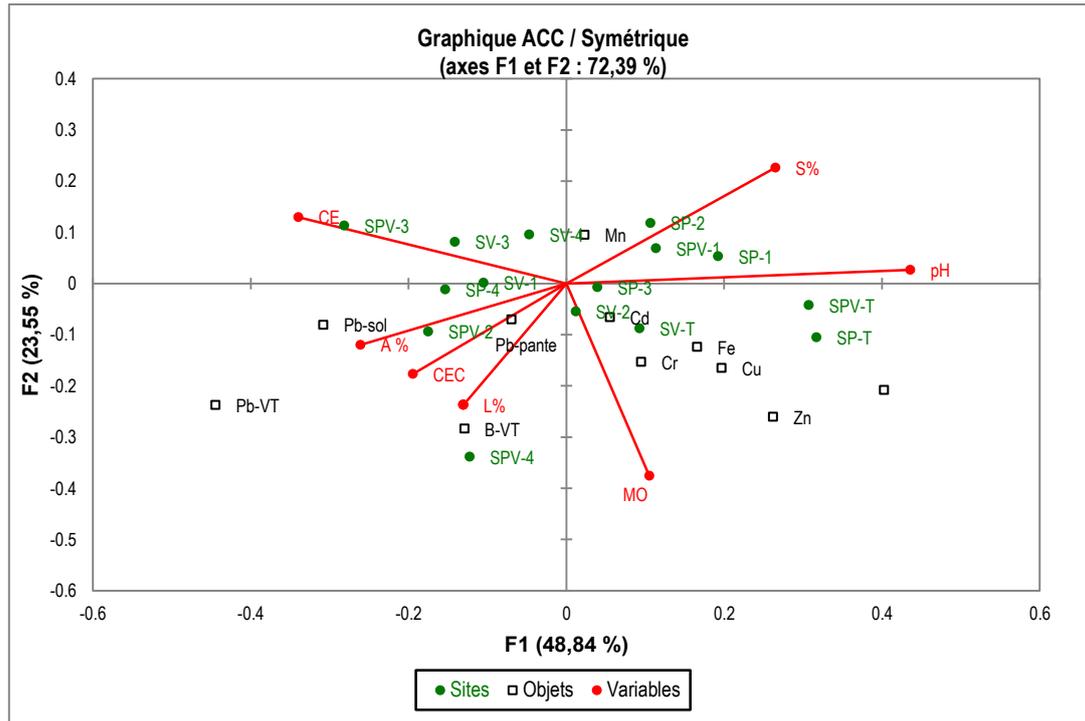
***Relations entre les caractéristiques du sol et la bioaccumulation du plomb
par les deux organismes par l'analyse canonique des correspondances***

1. Étude des Relations entre les caractéristiques du sol et la bioaccumulation du plomb par les deux organismes par l'analyse canonique des correspondances

Dans l'objectif d'étudier la relation existant entre les variables : caractéristiques du sol: pH, CEC, CE, MO%, A%, S%, L% ; le type d'interaction représenté par les 3 systèmes; les concentrations du plomb dans le sol, plante et vers de terre et la biomasse des vers de terre, nous avons réalisé une analyse canonique des correspondances (ACC)

Dans un premier lieu, nous disposant d'un tableau « X » constitué des concentrations de plomb mesurées dans la plante, les vers de terre et le sol dans les différents systèmes (SP : système sol-plante ; SV : système sol-vers de terre ; SPV : système sol-plante- vers de terre) en plus de la biomasse des vers de terre. Et d'un tableau « Y » de variables descriptives mesurées dans les sols des systèmes (pH, CEC, CE, MO%, A%, L%, S%). Notre but est de déterminer si les variables peuvent aider à expliquer les taux de plomb accumulés par les vers de terre, la plante et la biomasse des vers de terre.

Les résultats de cette ACC sont illustrés dans la figure 45, deux axes sont susceptibles d'être interprétés ; ils représentent 72.39 % de la dispersion du nuage des variables (inertie totale), dont l'axe 1 présent : 48.84% et l'axe 2 : 23.55%.



Légende :

*SP : système sol-plante ; SV : système sol-vers de terre ; SPV : système sol-plante- vers de terre

* SP-T, SV-T, SPV-T : expérimentation menée dans des sols témoins (non contaminés).

*SP-1, SV-1, SPV-1 : expérimentation menée dans des sols contaminés artificiellement avec du plomb a une concentration de 500 ug g^{-1} .

*SP-2, SV-2, SPV-2 : expérimentation menée dans des sols contaminés artificiellement avec du plomb a une concentration de 1000 ug g^{-1} .

*SP-3, SV-3, SPV-3: expérimentation menée dans des sols contaminés artificiellement avec du plomb a une concentration de 1500 ug g^{-1} .

*SP-4, SV-4, SPV-4 : expérimentation menée dans des sols contaminés artificiellement avec du plomb a une concentration de 2000 ug g^{-1} .

*Caractéristiques du sol : pH : potentiel hydrogène ; CEC : capacité d'échange cationique ; CE : conductivité électrique ; MO% : taux de matière organique ; A% : taux d'argile ; S% : taux de sable ; L% : taux de limon.

*Pb-sol : concentration totale du plomb dans le sol ; Pb-plante : concentration totale du plomb dans la plante ; Pb-VT : concentration totale du plomb dans les tissus des vers de terre.

*B-VT : biomasse des vers de terre

Figure 45 : Résultats de l'analyse canonique des correspondances, projection dans les dimensions 1 et 2 des variables : caractéristiques du sol: pH, CEC, CE, MO%, A%, S%, L% ; le type d'interaction représenté par les 3 systèmes; les concentrations du plomb dans le sol, plante et vers de terre et la biomasse des vers de terre.

Les concentrations élevées de plomb dans les tissus des vers de terre et de la plante sont associées à un taux élevé d'argile et de limon, des valeurs de CEC importantes et à des concentrations de plomb élevées dans le sol, combinées à des pH acides.

Ces résultats concordent pour la plante avec ceux trouvés par Zerrouki *et al.*, [2013] qui soulignent l'influence du pH de la CEC et du taux d'argile dans les sols sur la bioaccumulation des métaux lourds par l'orge et le tournesol.

W. Luo *et al.*, [2014] rapportent dans leur étude sur la biodisponibilité et la toxicité du plomb sur les vers de terre que les concentrations de plomb dans les vers de terre sont positivement corrélées avec les concentrations totales et disponibles de Pb dans le sol, la teneur en sable et Fe, mais négativement avec la teneur en argile et en limon et CEC, et que ces derniers facteurs expliquant moins la variation des concentrations de Pb dans les vers de terre. Ils soulignent aussi que les concentrations du Pb dans les vers de terre sont bien prédites par les concentrations totales de Pb et les teneurs en limon des sols.

Plusieurs études ont démontré que les propriétés physicochimiques du sol ont un impact significatif sur l'absorption du plomb par *E. andrei* [Spurgeon et Hopkin, 1995, Peijnenburg *et al.*, 1999; Bradham *et al.*, 2006 ; Smith *et al.*, 2012].

Le pH du sol a été suggéré comme le facteur le plus important pour contrôler la biodisponibilité du Pb dans le sol, suivie de la teneur en matière organique [Thomas, 1997, Peijnenburg *et al.*, 1999]. Dans les sols acides, le plomb semble lié à la fraction échangeable et a donc une plus grande mobilité potentielle. [Cecchi, 2008] cela explique les concentrations élevées que peut accumuler l'orge et les vers de terre à des pH bas.

La distribution granulométrique confère à un sol des propriétés particulières, notamment en ce qui concerne la fixation des polluants. Selon Pagotto, [1999], les phénomènes d'adsorption sont favorisés par les minéraux argileux, du fait de leurs

propriétés colloïdales et de leurs grandes surfaces spécifiques, la rétention des polluants sera ainsi plus élevée dans les sols riches en argiles.

Les travaux de W. Luo *et al.* [2014], rapportent l'influence des paramètres physico-chimiques du sol sur les vers de terre. Dans cette étude ils rapportent que la croissance des vers de terre ainsi que l'absorption du plomb chez les vers de terre sont affectées par différentes propriétés du sol, telles que pH, CEC et MO et teneur en sable.

Nous avons constaté que la biomasse des vers de terre semble être influencée par des valeurs élevées de MO, de limon, d'argile et de CEC, mais aussi affecté par un taux faible de sable et de pH. Ces résultats ne concordent pas avec ceux trouvés par W. Luo *et al.* [2014] qui indique que le pH du sol et les teneurs en matière organique affectent significativement le nombre de vers juvéniles, mais n'affecté pas la mortalité, la perte de poids et les concentrations du Pb interne dans les vers de terre *Eisenia andrei*.

A Lemtiri *et al.*, [2016], ont constatés que le poids corporel de *E. fetida* était affecté par la nourriture. Dans les traitements sans nourriture, la perte de poids corporel était très probablement due au fait que le carbone organique et l'approvisionnement alimentaire disponible dans ces sols étaient insuffisants pour maintenir le poids corporel initial des vers de terre. Le poids corporel des vers de terre n'était pas affecté par la contamination par les métaux. Cela pourrait s'expliquer par la concentration relativement faible des métaux ou par la concurrence des métaux avec d'autres éléments essentiels dans les sols.

Il faut noter que les études de A Lemtiri *et al.*, [2016] et W. Luo *et al.* [2014] ont été menées sur des vers de terre de type épigé qui sont saprophages, leur régime est à base de matière organique morte (fragments de végétaux, de champignons) donc ils sont plus sensible au manque de nourriture qui affect leur croissance comme l'indique Bouché, [1977].

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, Applied Soil Ecology., <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Bouché, M.B. (1977). Stratégies lombriciennes. Soil organisms as components of ecosystems. Swedish Natural Science Research Council Ecological Bulletin, Stockholm 25,122-132.
- Bradham, K.D., Dayton, E.A., Basta, N.T., Schroder, J., Payton, M., Lanno, R.P., (2006). Effect of soil properties on lead bioavailability and toxicity to earthworms. Environ. Toxicol. Chem. 25, 769e775.
- Cecchi M., (2008). Devenir du plomb dans le système sol-plante cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (fève et tomate), thèse de doctorat de l'université Toulouse.
- Pagotto C., (1999)., Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier, Thèse de doctorat de l'université de POITIERS.
- Peijnenburg, W., Baerselman, R., de Groot, A.C., Jager, T., Posthuma, L., Van Veen, R.P.M., (1999). Relating environmental availability to bioavailability: soiltype- dependent metal accumulation in the oligochaete *Eisenia andrei*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 44, 294e310
- Smith, B.A., Greenberg, B., Stephenson, G.L., (2012). Bioavailability of copper and zinc in mining soils. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 62, 1e12.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P., (1995). Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. Ecotoxicology 4, 190e205.
- Thomas, V.G., (1997). The environmental and ethical implications of lead shot contamination of rural lands in North America. J. Agric. Environ. Ethics 10, 41e54.
- Wei Luo , Rudo A. Verweij , Cornelis A.M. van Gestel. Determining the bioavailability and toxicity of lead contamination to earthworms requires using a

combination of physicochemical and biological methods. Environmental Pollution 185 (2014) 1e9

- Zerrouki D., Maatoug M., Hellal B., Ait Hammou M., (2013), Phytoremediation of contaminated agricultural soil by lead from traffic pollution using the common barley (*Hordium vulgare*) (IJER) Volume 2 Issue 3.

Conclusion générale

Conclusion générale

La pollution des sols par les métaux lourds provoquée par les activités anthropiques modifie les concentrations des éléments traces (Cu, Zn, Pb, P...) dans le sol et par conséquent leurs cycles biogéochimiques. Ces modifications de concentrations affectent directement la qualité des sols et ont un impact non négligeable sur les organismes y vivants (plantes, micro et macro organismes).

De nombreuses études ont été menées dans le but de décontaminer ces sols via l'utilisation de méthodes plus respectueuses de l'environnement (bioremédiation, phytoremédiation). Cependant, le pouvoir phyto-extracteur des plantes, leur biomasse. Et les conditions parfois défavorables au développement des microorganismes, limitent considérablement l'efficacité de ces techniques.

La proposition des vers de terre comme moyen pour améliorer le rendement de la bioremédiation en augmentant la croissance des plantes (biomasse des parties aériennes), la biodisponibilité des métaux et en favorisant la prolifération des microorganismes (qui ont aussi un rôle directe sur la disponibilité des éléments traces), a fait l'objet de plusieurs études qui ont fait ressortir des résultats différents parfois similaires suivant le sol, le type de vers de terre, de la plante et le(s) polluant(s) étudiés.

L'objectif de ce travail de thèse a été de mettre en place un système expérimental couplant les vers de terre *Lumbricus* sp et la plante *Hordeum vulgare* dans le but d'étudier la valeur de cette combinaison pour dépolluer des sols contaminés au plomb. Pour cela, une étude expérimentale a été conduite afin de mieux comprendre l'impact de l'activité des vers de terre sur la phytoextraction du plomb par *Hordeum vulgare*.

Cette expérimentation a permis l'étude du comportement phytoaccumulateur de la plante *Hordeum vulgare* dans des conditions contrôlées en présence d'une

pollution monométallique (dans notre cas le plomb), et l'étude de la bioaccumulation de ce métal par les vers de terre *Lumbricus sp.*

Une différence importante est observée dans la fixation du plomb par le sol suivant les quantités apportées dans les différents systèmes/blocs au début de l'expérimentation. La distribution granulométrique confère au sol des propriétés particulières, notamment en ce qui concerne la fixation des polluants. La nature minéralogique des éléments constituant la terre fine (< 2 mm) varie beaucoup d'une classe granulométrique à l'autre et conditionne les processus d'échanges chimiques. On notera en particulier que les minéraux argileux, du fait de leurs propriétés colloïdales et de leurs grandes surfaces spécifiques, favorisent les phénomènes d'adsorption. La rétention des polluants sera ainsi plus élevée dans les sols riches en argiles. [Pagotto, 1999], la nature sableuse du sol utilisé dans notre étude explique les faibles concentrations du plomb trouvées par rapport aux quantités ajoutées.

La concentration du plomb dans le sol sont influencées par les paramètres physico-chimiques du sol cependant d'autres facteurs peuvent modifier (augmenter ou diminuer) la rétention du plomb par le sol, par exemple : la quantité et la forme sous laquelle le contaminant est apporté.

La concentration du plomb accumulée par l'orge est de $59.44 \pm 13.16 \text{ ug.g}^{-1}$ soit 18.11% dépasse largement celle accumulée dans l'orge cultivé dans le sol témoin ($11.75 \pm 3.10 \text{ ug g}^{-1}$). Les taux d'absorption et d'accumulation du plomb varient suivant les espèces et à l'intérieur d'une même espèce, et, semblent être influencés davantage par le pH que par toute autre propriété du sol. [Seiler et Paganelli., 1987] mais aussi par les argiles qui sont des fractions fines qui interviennent majoritairement lors des phénomènes de rétention et de fixation des métaux lourds. [Sanders, J.R. 1983],

Le taux d'accumulation du plomb par l'orge enregistré dans cette étude (18.11%) dépasse fortement les taux trouvés par Zerrouki *et al.*, [2013] au champ qui est de 2%, cette variation est due à plusieurs facteurs notamment la disponibilité du plomb sous sa forme soluble dans l'eau qui est facilement bioaccumulée par la

plante et l'absence de compétition entre les éléments traces dans le sol qui est le résultat d'une contamination monométallique.

La solubilité et la mobilité initiale du plomb dans le sol dépendront du type de composé de plomb qui aura été ajouté au sol. Par exemple les nitrates de plomb sont très solubles et seront facilement lessivés des sols. [Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999], et facilement bioaccumulés par la plante.

La concentration du plomb enregistrée dans les tissus des vers de terre est de l'ordre de 24.01 ± 10.97 ug/g soit 7.24% cette valeur est trois fois supérieure à celle enregistrée dans le sol témoin (8.20 ± 0.48 ug/g). Les concentrations de plomb dans les vers de terre sont positivement corrélées avec celles du sol.

Nous avons constaté que les paramètres du sol (pH, CEC et le taux d'argile et de la MO) sont corrélés négativement avec l'accumulation du plomb par les vers de terre. De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend le processus de bioconcentration (1) l'espèce lombricienne et sa catégorie écologique [Ireland, 1979 ; Ash et Lee, 1980 ; Ireland et Richards, 1981], (2) l'élément trace [Ma, 1982 ; Marinio *et al.*, 1992 ; Abdul Rida, 1996], (3) les propriétés physiques et chimiques du sol [Smith, 1996].

Selon De Vaufleury *et al.*, [2013] il est nécessaire d'étudier les facteurs qui contrôlent la mobilisation et l'absorption des composés chez d'autres espèces animales terrestres ayant des modes de vie et des caractéristiques anatomiques et physiologiques plus variés.

L'utilisation de l'association *Hordeum vulgare* et *Lumbricus* sp augmente les concentrations du plomb extraites du sol pollué. La concentration du plomb dans les tissus de *Lumbricus* sp et de *Hordeum vulgare* augmente avec l'augmentation des taux de plomb dans le sol sans pour autant les dépasser.

La bioaccumulation des métaux dépend de leurs biodisponibilités dans le sol. Les propriétés physico-chimiques du sol sont des facteurs essentiels qui peuvent influencer la biodisponibilité des métaux, mais aussi l'activité des vers de terre et

celle de la plante. L'interaction entre ces deux organismes fait varier les concentrations du plomb accumulées par chacun d'eux.

La présence des vers de terre (*Lumbricus* sp) diminue la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare* (38.00 ± 5.68 ug/g contre 59.44 ± 13.16 ug/g en absence des vers de terre), alors que les concentrations enregistrées dans les tissus des vers de terre suggèrent que la présence de la plante augmente ces concentrations ($23,37 \pm 8.02$ ug/g en présence de la plante 20.85 ± 11.71 ug/g en son absence). Ceci peut être expliqué par une compétition entre les deux organismes dans l'absorption des métaux lourds.

Les différences de la biomasse des vers de terre entre les sites ne sont généralement pas prises en compte dans l'évaluation des risques écologiques, cependant, la pollution des sols par le plomb affecte considérablement la biomasse des vers de terre. Nous avons constaté que la biomasse des vers de terre dans les blocs témoins est supérieure par rapport à celle enregistrée dans les blocs pollués.

La pollution des sols par le plomb affecte considérablement la biomasse des vers de terre, nous avons constaté dans cette étude une régression de la biomasse des vers de terre suivant les taux de plomb dans le sol, l'influence des ces concentrations dans le sol sur la biomasse des vers de terre est plus prononcée en absence de la plante. Cependant la biomasse des vers de terre est plus élevée en absence de la plante dans le système S2 (2.11 ± 0.45 g) que dans le système S3 en présence de la plante (1.81 ± 0.47 g) et la biomasse des blocs témoins restent supérieures par rapport aux blocs pollués.

Une régression du taux de croissance de *Lumbricus* Sp suivant les taux de plomb dans le sol est enregistrée dans la totalité des traitements sauf en absence de pollution et de la plante dans le bloc témoin du système 2 (sol-vers de terre) où nous avons constaté une croissance de la biomasse de (4.17 ± 3.19 %).

Les vers de terre sont influencés par les paramètres physico-chimiques du sol, la biomasse est corrélée avec les concentrations totales de Pb. Elle est aussi

affectée par différentes propriétés du sol telles que le pH, la CEC et le taux de matière organique et d'argile.

La bioaccumulation du plomb par les vers de terre *Lumbricus* sp dépend des concentrations de plomb dans le sol et de la présence/ absence de la plante.

L'orge accumule les éléments traces à des degrés différents suivant le métal en question et sa concentration dans le sol. Cette étude met en évidence l'influence qu'exerce l'activité des vers de terre sur la bioaccumulation du plomb.

Le taux le plus élevé de remédiation ($64.01 \pm 12.34 \text{ ug g}^{-1}$) est observé dans le système 3 (sol-plante-vers de terre) en comparaison avec les deux autres : S1: sol-vers de terre ($24.01 \pm 10.97 \text{ ug g}^{-1}$) et S2 : sol-plante ($59.44 \pm 13.16 \text{ ug g}^{-1}$)

Plusieurs études rapportent que l'accumulation des ETM diffère d'une espèce à une autre (plante et vers de terre), cependant l'interaction entre deux organismes tels que les vers de terre et les plantes peut être complexe et influencée par plusieurs facteurs : l'espèce de la plante et des vers de terre, les paramètres physico-chimiques de sol, le taux de pollution et le polluant.

L'impacte de l'activité des vers de terre sur le sol se traduit par des modifications des propriétés physiques et chimiques du sol, la présence ou l'absence des organismes (plante et vers de terre) dans les sols non pollués n'affecte pas les valeurs du pH qui sont de l'ordre de (8.24 ± 0.08). Par ailleurs, dans les sols pollués par le plomb, le pH a fortement diminué et une différence remarquable est enregistrée entre les trois systèmes, l'effet des vers de terre sur le pH du sol est plus prononcé que celui de la plante avec un pH de (7.11 ± 0.13) en présence des vers de terre et (7.67 ± 0.35) en présence de la plante. L'association de ces deux organismes dans le même sol induit à un pH nettement plus bas que celui observé quand ils sont séparés, le pH diminue alors jusqu'à (6.87 ± 0.31), le pH du sol est un facteur clé affectant les comportements d'adsorption-désorption et donc la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol. Il est donc important de déterminer les changements de pH induits par l'activité des vers de terre [A Lemtiri *et al.*, 2016 ; Wen B, 2004].

Nous avons constaté une variation significative des valeurs de la MO, CEC, CE, Zn, Cu, Fe, Mn, Cd et Cr, entre les sols des différents systèmes et dans un même système entre le sol pollué et le sol témoin. S. Singh *et al.* [2016] rapportent que l'activité du ver de terre *Metaphire posthuma* diminue le pH, CE, K, Na, Ca et les métaux lourds, tandis qu'elle augmente le N, P et CO dans les vermicomposts.

Plusieurs études rapportent l'efficacité de l'association vers de terre/ plante pour la dépollution des sols, d'une part en augmentant la biodisponibilité et la phytoextraction des métaux et d'une autre part l'augmentation de la biomasse des plantes. L'interaction entre ces deux organismes diffère d'une espèce à une autre (de plante et des vers de terre), donc si l'activité des vers de terre *Lumbricus* sp réduit la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare*, l'utilisation d'une autre espèce de vers de terre (par exemple : une espèce écophysiologiquement différente) peut avoir un impact différent sur le comportement phytoextracteur de l'orge.

La présence des vers de terre diminue la bioaccumulation du plomb par l'orge de 5.2% (12,91% contre 18,11% en l'absence des vers de terre) alors que la présence de la plante augmente ces concentrations de 1.54% (8,78% en présence de la plante 7,24% en son absence).

La diminution des concentrations du plomb accumulées par l'orge peut être un avantage, si on le prend d'un point de vue sanitaire. L'utilisation de l'orge comme plante fourragère et pour la consommation humaine représente un risque de bioconcentration de ce métal dans la chaîne alimentaire et d'une manière directe ou indirecte sur la santé humaine.

Il est possible d'imaginer des inséminations de vers de terre à grande échelle dans les protocoles de phytoremédiation de sites contaminés [Mombo, 2016] pour cela il suffit de trouver la bonne association plante/vers de terre qui peut avoir le meilleur rendement de bioremédiation possible.

Perspectives

Ce travail de recherche ouvre de nombreuses perspectives dans le domaine de la phytoremédiation et dans d'autres domaines. Des travaux complémentaires à cette étude sont envisagés :

-Un inventaire des vers de terre dans les sols de la région essentiel pour déterminer la diversité spécifique et la répartition de ces macro-invertébrés.

-Une expérimentation sur terrain est envisagée pour une meilleure compréhension du comportement des vers de terre vis-à-vis de la pollution et de l'impact des métaux lourds sur les populations lombriciennes.

-Une étude complémentaire de la physiologie et la biochimie de l'orge permettra de mieux comprendre l'effet de l'activité lombricienne sur cette plante.

-Pour le sol : une étude de l'impact des vers de terre sur (i) la distribution des métaux liés aux différentes particules du sol (la fraction échangeable et la fraction liée à la MO...) par extractions séquentielles, et (ii) l'évolution des communautés bactériennes qui ont aussi un rôle dans la disponibilité des métaux lourds.

Référence

- A Lemtiri ., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2016), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- Abdul Rida, A.M.M. (1996). Concentrations et croissance de Lombriciens et de plantes dans des sols contaminés ou non par Cd, Cu, Fe, Pb et Zn: Interactions plant-sol-lombricien. *Soil. Biol. Biochem.* 28, 1037-1044.
- Ash CPJ, Lee D (1980).- Lead, cadmium, copper and iron in earthworms from roadside sites. *Environ. Pollut.*,22A: 59-67.
- Conseil canadien des ministres de l'environnement. (1999). Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Environnement et santé humaine — plomb 1999, dans *Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement*, 1999, Winnipeg, le Conseil.
- De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes, ADEME, France, pp.46–90;
- Ireland M.P. & Richards K.S. (1981).- Metal content after exposure to cadmium of two species of earthworms of known differing calcium metabolic activity. *Environ. Pollut.*, 26A : 69-78.
- Ireland M.P. (1979). Distribution of essential and toxic metals in the terrestrial gastropod *Arion ater*. *Environ. Pollut.*, 20, 271-278.
- Ma W.C. (1982).- The influence of soil properties and worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiol.* 24 : 109-119.
- Marino F., Ligerio A. and Diaz Cosin D.J.,(1992). - Heavy metals and earthworms on the border of the road next to Santiago (Galicia, Northwest of Spain). Initial results. *Soil Biol. Biochem.* 24 : 1705-1709.
- Mombo S, (2016). Transferts Des Métaux Et Metalloïdes Dans Le Système Sol-Plante-Atmosphère : Mécanismes Biogéochimiques Et Conséquences Environnement-Santé. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, 261 p.

- Pagotto C., (1999)., Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier, Thèse de doctorat de l'université de POITIERS.
- Sanders, J.R. (1983). The effect of pH on the total and free ionic concentrations of manganese, zinc and cobalt in soil solutions. *J. Soil Sci.* 34, 315-323.
- Seiler, J.R. et D. Paganelli. (1987). Photosynthesis and growth response of red spruce and loblolly pine to soil-applied lead and simulated acid rain. *For. Sci.* 33(3):668–675.
- Sharanpreet Singh, Jaswinder Singh, Adarsh Pal Vig. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: Soil vs vermicast *Ecological Engineering* 90 (2016) 1–5
- Smith S.R. (1996).- Agricultural recycling of sewage sludge and the environment. CAB, international, UK.
- Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004), The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 40, pp.181–187;
- Zerrouki D., Maatoug M., Hellal B., Ait Hammou M., (2013), Phytoremediation of contaminated agricultural soil by lead from traffic pollution using the common barley (*Hordium vulgare*) ;(IJER) Volume 2 Issue 3.

Article

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'une publication sous presse dans

INMATEH - Agricultural Engineering journalis

Indexé dans les bases de données internationales : ULRICHWeb: Global Serials

*Directory, CABI, SCIPRO, **ELSEVIER /SciVerse SCOPUS,***

*Index COPERNICUS International, EBSCO Publishing, Elektronische
Zeitschriftenbibliothek.*

BIOREMEDIATION OF AGRICULTURAL SOIL CONTAMINATED WITH LEAD USING INTERACTION: COMMON BARLEY *HORDEUM VULGARE* AND EARTHWORM *LUMBRICUS SP*

/

BIOREMEDIATION D'UN SOL AGRICOLE CONTAMINE AU PLOMB A L'AIDE D'INTERACTION : ORGE COMMUNE *HORDEUM VULGARE* ET VER DE TERRE *LUMBRICUS SP*

As. Ph.D. Boukirat D.*¹, Prof. Ph.D. Maatoug M.¹, As. Ph.D. Zerrouki D.,¹ As. Ph.D. Lahouel H¹., Prof. Ph.D. Dr. Heilmeier H.²., Prof. Ph.D. Dr. Kharytonov M.³

¹ Laboratory of Agro Biotechnology and Nutrition in Semi-arid Zones, Faculty of Natural Sciences and Life. Ibn-Khaldun University - Tiaret, Algeria; E-mail: boukirat_dyhia@live.fr

² Institute of Biosciences, TU Bergakademie Freiberg, Germany, E-mail: Hermann.Heilmeier@ioez.tu-freiberg.de

³ State Agrarian-Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine, E-mail: envteam@ukr.net
Tel: 0727651064; E-mail: boukirat_dyhia@live.fr

Keywords: earthworms, common barley, bioaccumulation, phytoremediation, lead pollution.

ABSTRACT

The aim of this work is to study the possibility of remedying polluted agricultural soils by lead with the association: earthworms / barley. An experimentation of sixty pots was conducted in controlled conditions containing artificially contaminated soil by lead. It is divided into three systems: S1: soil-plant; S2: soil-earthworms; S3: soil-plant-earthworms, and five blocks representing lead concentrations: control; 500 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1500 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 2000 $\mu\text{g g}^{-1}$ with 4 replicas each.

The results show that the S3 system (soil-plant-earthworm) has the highest remediation rate compared to the two other: S1 (soil-earthworm), S2 (soil-plant). The presence of earthworms *Lumbricus sp* decreases the bioaccumulation of lead by *Hordeum vulgare*, while concentrations recorded in earthworm tissues suggests that the presence of the plant considerably increase those concentrations.

The concentrations of lead in soil, earthworms and plants are influenced by the physical and chemical soil parameters; however, other factors related to the pollutant, the species of both earthworm and plant and their interactions can increase or decrease retention of lead by the soil and its bioaccumulation.

RÉSUMÉ

Le but de ce travail est d'étudier la possibilité de remédier les sols agricoles pollués au plomb à l'aide d'une association vers de terre / orge. Une expérimentation de soixante pots comportant des sols artificiellement contaminés au plomb a été menée dans des conditions contrôlées. Elle est répartie en trois systèmes : S1: sol-plante ; S2: sol-ver de terre; S3: sol-plante-ver de terre et cinq blocs représentant les concentrations de plomb : 500 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1500 $\mu\text{g g}^{-1}$; 2000 $\mu\text{g g}^{-1}$ et témoin avec 4 répliques chacun.

Les résultats montrent que le système S3 (sol-plante-ver de terre) présente le taux de remédiation le plus élevé comparé aux deux autres : S1 (sol-ver de terre), S2 (sol-plante). La présence des vers de terre *Lumbricus sp* diminue la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare*, alors que les concentrations enregistrées dans les tissus des vers de terre suggère que la présence de la plante accroît considérablement ces concentrations.

Les concentrations du plomb dans le sol, les vers de terre et la plante sont influencées par les paramètres physico-chimiques du sol cependant d'autres facteurs liés au polluant, à l'espèce du ver de terre et à celle de la plante et leurs interactions peuvent augmenter ou diminuer la rétention du plomb par le sol et sa bioaccumulation.

INTRODUCTION

Earthworms are one of the dominant groups of macro invertebrates of ground in several terrestrial ecosystems representing nearly 80% of the biomass of soil. They are identified as ecosystem engineers for their long-term effects on soil physical, chemical and biological properties (Edwards and Bohlen, 1996; Blouin et al, 2013; Bityutskii et al, 2016).

Due to their constant contact and their strong interaction with soil, earthworms can be profoundly affected by the soil pollution and accumulated contaminants in their bodies. Those characteristics among others allowed their use as indicator organisms of soil contamination (Lanno *et al*, 2004; Xiao *et al*, 2006).

Earthworms can concentrate some chemical products by involving selective absorption and excretion mechanisms, which vary according to species and families of chemicals. The toxic effects of a large number of chemical substances and the analysis of their absorption and metabolism have been identified to underline the importance of earthworms in biomonitoring of soil quality (De Vauffleury *et al*, 2013).

Human activity is the source of soil contamination by various organic and inorganic components. Heavy metals pollution caused by industrial enterprises activity and road traffic has reached high levels in the soil in some regions (Ha *et al*, 2011; Jiang, Z.F., 2012; Alkorta *et al*, 2004).

It is established that such heavy metals as copper (Cu), zinc (Zn), lead (Pb) and cadmium (Cd) show a different effect of acute and chronic toxicity to animals and plants (Cheng *et al*, 2002; Li M, *et al*, 2009; Li N *et al*, 2009). Excessive levels of lead in soil inhibit the normal plant growth, disturb the ecosystem equilibrium and have an extremely negative impact on the environment and human health (Mishra *et al*, 2006 Zeng *et al*, 2006).

Studies on the ability of certain plant to accumulate heavy metals propose them as an alternative to the physical and chemical methods of decontamination.

Several studies were conducted using the plant / earthworms association for soil remediation. Earthworms increase the availability of heavy metals in some situations and aid in maintaining the structure and the quality of soil. The introduction of earthworms into metal contaminated soils has been suggested as an aid for the phytoremediation processes (Lemtiri *et al*, 2015; Jusselme *et al*, 2012).

The main objectives of this study are: i) to study the possibility of decontaminating a polluted by lead arable land using the association earthworm / plant; ii) to assess these two organisms impact on soil physics-chemical parameters.

MATERIAL AND METHODS

Samples and characterization of experimental soil

The soil samples were taken in uncontaminated arable land to the depth of 0 - 30 cm. All soil samples were air dried, crushed, sieved at 5 mm and mixed. This sieved soil was used for the pot experiment.

The soil samples were sieved at 2 mm additionally to provide physics-chemical analyses,. The distribution of particles according to their size, or particle size analysis was determined by sedimentation using the Robinson pipette. Soil pH was measured using a soil suspension in a ratio (M/V) 1/5. The organic matter (OM) was determined by calcination in the oven at 500 °C according to NF ISO10694 .The cation exchange capacity (CEC) was determined by percolation according to NF X 31-130. The electrical conductivity was measured in a soil suspension (M/V) 1/5 according to NF ISO 11265. The total lead concentration was determined by tri-acid attack following standard NF X 31-147, and measured by atomic absorption spectrometry (Agilent Technology. 55 AA). The characterization of experimental soil and the averages of lead concentrations in the soil, barley and earthworms ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) are represented in Table 1.

Lead contamination of soil

The soil was artificially contaminated with four levels of lead (500 $\mu\text{g/g}$, 1000 $\mu\text{g/g}$, 1500 $\mu\text{g/g}$ and 2000 $\mu\text{g/g}$) using lead nitrate powder [Pb (NO₃)₂] dissolved in distilled water, in addition to uncontaminated soil (control) with a lead concentration (<100 $\mu\text{g/g}$) in the international norms described by (AFNOR X 31 in 1996).

Experimental procedure

Three factors were involved in the experimental design: (i) lead concentration in soil; (ii) Presence / Absence of the earthworms and (iii) Presence / Absence of the plant. The experimentation is divided into three systems: S1: soil-plant; S2: soil-earthworms and S3: soil-plant-earthworms, five blocks representing lead concentrations: control, 500 $\mu\text{g g}^{-1}$, 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$, 1500 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 2000 $\mu\text{g g}^{-1}$ with 4 replicas each (see fig. 1). This disposition will allow to study and compare the effect of each organism alone on the soil and the effect of their association at different levels of pollution.

Table 1

Lead concentrations in the soil, plants and earthworms ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW), and chemical parameters measured in the experimental soils

Parameters	Mean \pm SD	Minimum	Maximum
Soil (N=60)			
Clay (%) ^a	24,51 \pm 3,73	15,30	34,35
Silt (%) ^a	9,54 \pm 5,90	0,77	25,54
Sand (%) ^a	65,98 \pm 5,49	45,95	74,49
OM (%) ^b	2,30 \pm 0,37	1,50	3,12
pH _{water} ^c	7,42 \pm 0,57	6,39	8,34
CEC(meq100 ⁻¹ g) ^d	11,93 \pm 3,20	0,13	18,55
EC ($\mu\text{s/cm}$) ^e	831,27 \pm 273	335,00	1485,00
System 1(N=16)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	331.86 \pm 66.95	200,00	430,00
Pb plant ($\mu\text{g/g}$) ^f	59.44 \pm 13.16	38,00	75,00
Remediation (%) ^g	17.93 \pm 1.87	14,85	21,50
Control 1 (N=4)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	50.00 \pm 21.60	20,00	70,00
Pb plant ($\mu\text{g/g}$) ^f	11.75 \pm 3.10	9,00	16,00
Remediation (%) ^g	27.13 \pm 12.34	16.67	45.00
System 2 (N=16)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	342.5 \pm 54.59	250,00	440,00
Pb EW ($\mu\text{g/g}$) ^f	24.01 \pm 10.97	12.55	54.54
Biomass (g)	2.11 \pm 0.45	1.40	2.90
Remediation (%) ^g	7.54 \pm 1.95	5,32	12.99
Control 2 (N=4)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	70.00 \pm 16.33	50.00	90.00
Pb EW ($\mu\text{g/g}$) ^f	8.20 \pm 0.48	7.50	8.59
Biomass (g)	3.13 \pm 0.1	3.00	3.20
Remediation (%) ^g	12.29 \pm 1.49	10.38	14.00
System 3 (N=16)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	316.25 \pm 87.25	150,00	430,00
Pb plant ($\mu\text{g/g}$) ^f	38.00 \pm 5.68	31.00	50.00
Pb EW ($\mu\text{g/g}$) ^f	26.01 \pm 6.66	16.53	39.00
Biomass (g)	1.18 \pm 0.47	0,90	2,50
Remediation (%) ^g	18.79 \pm 2.14	15.70	22.69
Control 3 (N=4)			
Pb soil ($\mu\text{g/g}$) ^f	67.5 \pm 9.57	60,00	80,00
Pb plant ($\mu\text{g/g}$) ^f	20.25 \pm 2.25	17,00	23,00
Pb EW ($\mu\text{g/g}$) ^f	12.84 \pm 1.09	11.36	13.93
Biomass (g)	2.78 \pm 0.13	2.60	2,90
Remediation (%) ^g	49.01 \pm 10.81	40.29	64.72

^a Size particles by sedimentation using the Robinson pipette method.
^b Organic matter was determined by calcination in the oven at 500°C according to NF ISO10694
^c pH_{water} with distilled water (w:v 1:5 ratio).
^d CEC determined by percolation according to NF X31-130.
^e Electrical conductivity water suspension with ratio 1:5.
^f Digestion with mixture of three acids inspired by the NF X 31-147.
^g calculated according to : $(R_1/R_0)*100$; [R₁: accumulated Pb in the system, R₀: accumulated Pb in soil].

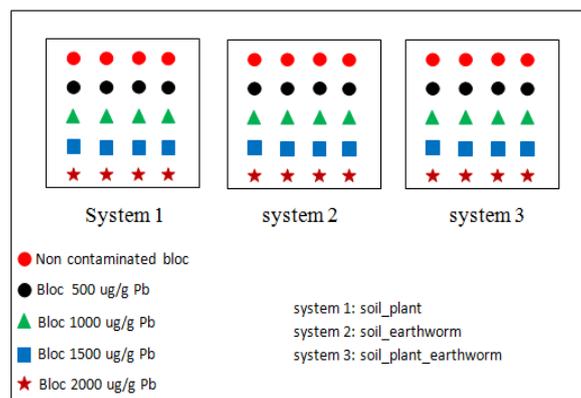


Fig.1 - Experimental design

Sixty pots (18 cm diameter x 20 cm height) were prepared with 3 kg of dry soil, contaminated and mixed. The plant used in this experiment is a grass, common barley *Hordeum vulgare* L. Ten seeds were sown in the pots of the system S1 and S3. The experiment was conducted in greenhouses (temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and $60 \pm 5\%$ relative humidity) and germination was determined visually. The pots of the three systems are watered daily to keep the soil moist. After 4 months, adult anecic earthworms *Lumbricus sp* were collected in an uncultivated and unpolluted soil of Tiaret. They were rinsed to remove the soil, kept in plastic box in the laboratory (24 h) for cleaning their gut. 2 - 3 earthworms (mass: 3 ± 0.5 g) were introduced into each pot of system S2 and S3; to provide a density of about 100 g m^{-2} (Blouin et al, 2006; Jusselme et al, 2013). The experiment was conducted under controlled conditions during 21 days.

Harvesting and treatment of samples

At the end of the experiment, the samples were harvested, the aerial part of the plant was cut at ground level. The stems and leaves separated and preserved in paper bags. Then the pots were overturned on plastic. An earthworms harvested, their survival determined by observing their activities in the hand; afterward they are rinsed, weighed and conserved for 48 hours in boxes containing moistened paper with distilled water to clean their gut (Lemtiri et al, 2015; Bityutskii et al, 2016).

The roots were collected, washed with distilled water to remove the soil and kept in paper bags, the soil dried in the open air for 48 h. The samples were the subject of a series of operations which are:

- dehydration: the usual method is dehydration in an oven at $105^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ for 72 hours, and the earthworms for 24 h.
- grinding: This step is highly critical as it can be source of contamination or loss. For this, the grinder used is an agate mortar. 0.5 to 1 g of the powder obtained is placed in quartz capsules and calcined in an oven of which temperature is gradually increased to 450°C for 3 h.
- mineralization and dissolution: after calcination, the sample are placed in an acid solution (10 ml of hydrofluoric acid HF 40% and 3 ml of perchloric acid ClHO_4 70%) and heated in a sand bath until total evaporation of the solution. Outside of the sand bath, we added 1 ml of nitric acid HNO_3 and 10 ml of distilled water and allowed 30 min, after that, it placed in the sand bath for 30 min to 1 h.
- filtration and dilution: After filtration, the obtained extracts are diluted with 100 ml of distilled water (Durand, C., 2003). The lead concentration was determined by atomic absorption spectrometry.

Statistical analysis

The statistical treatment was performed using two software packages STATISTICA 8 and SPSS 20. The data obtained were subjected to several analyzes: Descriptive statistics, ANOVA, ANOVAR and correlation analysis. Firstly, the effects of soil lead levels on the concentration of lead in earthworm's tissues and plant were evaluated through analysis of variance (ANOVA). Secondly, the effects of physicochemical parameters of soil on the concentration of lead in earthworm's tissues and plant were investigated. Finally, the effects of lead levels (block T, B1, B2, B3 and B4) and the systems (S1, S2 and S3) on Pb concentration in earthworms tissues and plant were evaluated. Differences were considered significant at $P \leq 0.05^*$, highly significant at $P \leq 0.01^{**}$ and very highly significant at $P \leq 0.001^{***}$.

RESULTS

Levels of lead in soil

The concentrations of lead in soil within blocks of each system before and at the end of the experiment are represented in fig. 2.

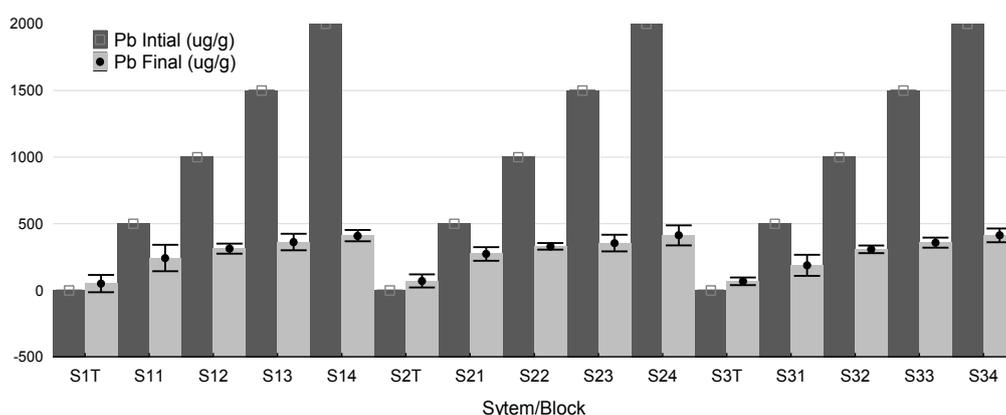


Fig.2 - Lead levels in the experimental soil

We see that the final concentrations of the soil have greatly reduced compared to the initial concentrations, a positive correlation was observed between the levels of contamination and soil concentrations with a correlation coefficient $r=0,94^{***}$ and a highly significant effect $p<0.001^{***}$.

The toxicity of metals does not depend only on the total concentration but also on their mobility and reactivity with other components of the ecosystem (Abollino et al, 2002). Many authors classify this reactivity in the order: $Ni>Zn>Cu>Pb$ (Harter, R. D., 1983; Kabala and Szerszen, 2002). Lead is generally found in surface horizons 0-20 cm than in deeper soil layers (Contat et al, 1991). Several factors affect its mobility and bioavailability: pH, soil texture especially clay content and organic matter content.

Concentrations of lead in the three systems

Remediation percentages of the three systems (including the five blocks) are shown in fig. 3. We observe that the association plant-earthworm (S3) shows the highest rate of remediation (accumulation) $24.83 \pm 13.26 \%$, a highly significant difference was observed between the three systems $p<0.001^{***}$. The concentrations of lead accumulated in the plant and earthworm increased significantly with the levels of lead in soil $p < 0.001^{***}$.

The accumulation of lead by barley varies depending on the concentration of lead in the soil and the physico-chemical parameters of the soil (Maatoug et al, 2013). This concord with the results found in our study. Bioaccumulation of metals in earthworms depends a lot on the species and the characteristics of their environment, including soil composition and pH (Van Gestel and Ma 1988; Morgan J.E. and Morgan A.J. 1991; 1999). De Vauffleury A. et al, (2013). The presence of the plant and earthworms can create a competition between them for the accumulation of lead. By producing exudates, plants can modify metal speciation and their behaviour in soil, particularly in the rhizosphere (Chaignon and Hinsinger, 2003; Uzu, G. et al, 2009). Therefore, plants can change the metal accumulation by earthworms (Lemtiri et al, 2015).

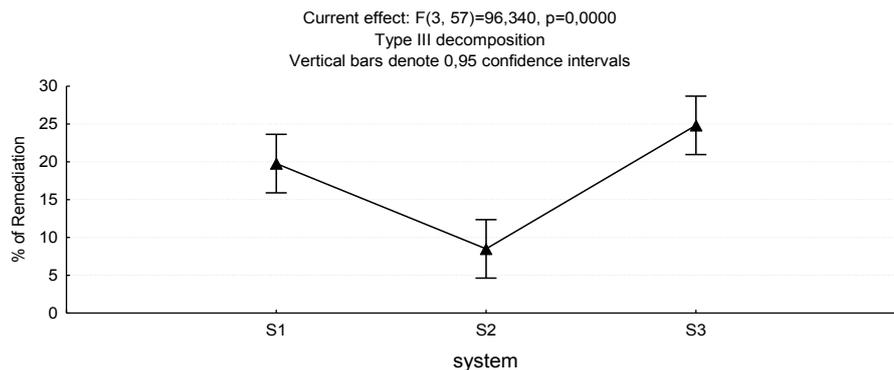


Fig. 3 - Percentage of remediation in the three systems S1: soil-plant; S2: soil-earthworm; S3: soil-plant-earthworm

Effects of the interaction plant / earthworms on the contaminated soil

Our study focused on the interaction between earthworm *Lumbricus sp* and the plant *Hordeum vulgare* for bioremediation of artificially contaminated soil with lead. In order to study the effects of the five lead concentrations used in this experiment which are divided into blocks, on the recorded soil concentrations, an ANOVA test was performed (fig. 4). A very highly significant difference is observed for the effect of lead dose added to the ground on the lead concentration in the soil, plants and earthworms $P<0.000^{***}$.

We notice an important fixative power of lead by the ground following the doses added at the beginning of the experiment.

The system S3 presents the highest concentration of lead extracted from the soil. We also observe that the plant accumulates more lead on its own $49.9 \pm 22.83 \mu\text{g g}^{-1}$ than in the presence of earthworms $34.45 \pm 8.92 \mu\text{g g}^{-1}$. The correlation matrix shows a positive correlation between Pb soil and Pb plant $r=0.688^{**}$.

The concentrations of lead in earthworm tissues after 21 days of exposure are positively correlated with soil concentrations with a correlation coefficient $r=0.919^{**}$ and a highly significant effect $p\leq 0.000^{**}$. We observed that concentrations of lead in earthworm tissues are higher in the presence of the plant $23.37 \pm 8.02 \mu\text{g g}^{-1}$ against $20.85 \pm 11.71 \mu\text{g g}^{-1}$ in its absence.

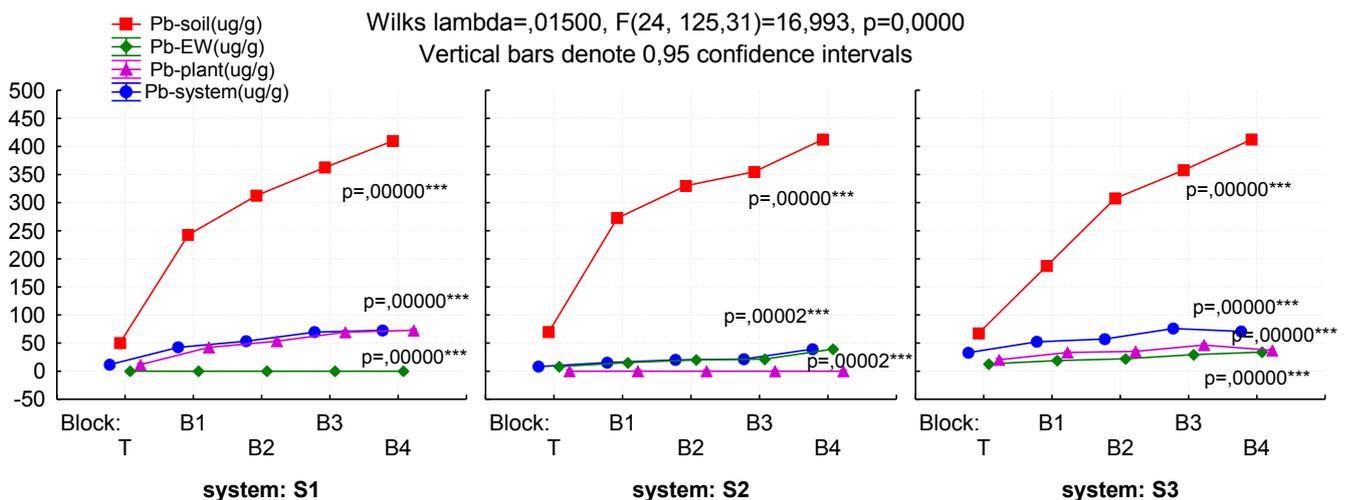


Fig. 4 - Effect of the interaction between bloc and Pb concentrations in plant, earthworm and soil for the three systems

Barley accumulates the trace elements to different degrees depending on the metal and its concentration in the soil. (Maatoug et al., 2013) reported that in an agricultural soil close to a highway contaminated with lead $1714.39 \pm 512.62 \mu\text{g g}^{-1}$, barley accumulates until $36.28 \pm 14.90 \mu\text{g g}^{-1}$. In our study, we find that for lead concentrations in the soil of the order of $331.86 \pm 66.95 \mu\text{g g}^{-1}$ barley accumulates $59.44 \pm 13.16 \mu\text{g g}^{-1}$.

Lead contrary to the other elements (Zn, Cu) is not an essential element, although present in the plants, it does not participate to any known physiological or biochemical function (Marschner H., 1995). Pb is accumulated by the plant according to another uptake pathway than those of the essential elements Zn and Cu (Lemtiri et al 2015). In this study, lead being added in a highly soluble form may be more available and easily absorbed by the plant, which explains the high concentrations accumulated by barley. Earthworms (of various species) that live in polluted soils by metals, mainly of anthropogenic source, have heavy metal contents much higher than those who develop in unpolluted areas (Morgan J.E. & Morgan A.J., 1988; Dai et al, 2004; De Vauffleury et al, 2013). Other studies report that concentrations in earthworms were weakly correlated with those of soils (Beyer and Cromartie, 1987; Abdul Rida and Bouché, 1995). The results found in this study indicate a very significant correlation between lead levels in soil and lead concentrations in earthworms *Lumbricus sp.*

An increase of metal concentration in plants was observed in the presence of earthworms (Wen and Hu, 2004), This results are opposite of what we observed in our study. Lead concentration in barley decreases greatly in the presence of *Lumbricus sp.* It can be explained by a different accumulation capacity and affinity according to the plant and the metal.

Earthworms can concentrate some chemicals involving selective absorption and excretion mechanisms, which vary according to earthworm species and chemical families (De Vauffleury A, 2013).

The ability of earthworms to accumulate heavy metals is widely studied (Morgan et al, 1986; Beyer W.N. et al, 1987; Morgan J.E. and Morgan A.J., 1992). Some differences in bioaccumulation were reported between ecophysiologically distinct earthworm (Morgan et al, 1993; Van Vliet et al, 2005; Kamitani and Kaneko, 2007). The presence of the plant increases the concentration of lead in earthworm tissues.

Effect of physicochemical soil parameters on Pb soil, Pb plant and Pb earthworms

In order to investigate the effect of physicochemical parameters of the soil on the accumulation of lead in the soil, plant and earthworms we performed a correlation analysis with a variance analysis (ANOVA).

Effect of pH

We observe a negative correlation between soil pH and lead soil, plants and earthworms with a correlation coefficient $r=-0.572^{**}$, $r=-0.396^*$, $r=-0.410^{**}$, respectively. ANOVA revealed a significant effect of soil pH on the Pb soil $p=0.037^*$ and Pb plant $p=0.002^{**}$, but no effect on the Pb earthworms $p=0.224$.

The pH is a factor whose role is crucial for the mobility of metal ions, because it influences the number of negative charges that can be brought into solution (McLaughlin, M.J., 2000). Generally, when the pH increases, the cations are less soluble and less mobile (Blanchard C., 2000; Santillan-Medrano and Jurinak, 1975; Kabala and Szerszen, 2002). Different interpretations have been advanced to explain the influence of soil pH on the accumulation of lead (McBride M.B., 1994). It was found that the Cd, Cu, Hg, Ni, Pb and Zn are strongly absorbed by the roots at $\text{pH} < 5.5$ (Blaylock and Huang, 2000).

The accumulation of metals in earthworms is influenced by their concentration in the soil, and in the case of Cd, by the pH (Spurgeon et al. 2006). The low bioavailability of metals (Cu, Pb and Zn) in a contaminated soil with an alkaline pH, and the absence of toxic effects were confirmed experimentally in *Lumbricus terrestris*, in urban soils little rich in nutriment of Montreal (Kennette D., 2002). Among the reasons that may explain the limited effects of pH change on the concentration of earthworm tissue. (Oste et al. 2001) suggest firstly, an effect of pH on the absorption by the skin, and secondly, the influence of soil particles ingested.

Effect of CEC

The cation exchange capacity is positively correlated with lead soil $r=0.221$ and earthworms $r=0.215^{**}$ and is weakly correlated with the lead of the plant with a correlation coefficient $r=0.023^{**}$. ANOVA shows no significant effect of CEC on the Pb soil, Pb earthworms and Pb plant $p > 0.05$.

The pH influences the CEC, the nature of the organic matter and its decomposition via the fauna and flora of the soil. (Allan and Jarrell, 1989) have shown that CECr decreases gradually as decreases the external pH. The soil constituents thus modified, will see increase or decrease the complexation capacity of the elements and therefore the mobility and bioavailability of trace elements (McBride et al 1997; Sauvé and McBride, 1998; Venditti D., 2000). Simultaneous measurements of the cation exchange capacity suggest that this soil parameter is a better indicator of the bioavailability of Cd and Zn because it takes into account the type of clay and organic matter (Lock K. & Janssen C.R., 2001).

Effect of clay rate

Concerning the clay content it has a positive correlation with Pb soil $r=0.234^{**}$ and Pb earthworms $r=0.102$ and negatively correlated with the Pb plant $r=-0,054^{**}$, the analysis of variance indicated a highly significant effect for Pb soil and Pb plant $p < 0.000^{***}$, and highly significant for Pb earthworms $p < 0.005^{**}$.

Clays and organic matter play a predominant role in the adsorption of lead by the plant. Trace elements show a high affinity for the humic substances with which they form stable humic-clay complex, eventually soluble. This explains the abundance of the trace elements on the surface mainly in the presence of organic matter (Baize D., 1997).

Lock and Janssen (2001) conducted experiments with *Enchytraeus albidus*, which show that the toxicity of Cd and Zn depends on the nature of the clay used and the organic matter.

Effect of Organic matter

A weak correlation was observed between the organic matter and the three variables, however it is negative with Pb soil $r=-0,029^{**}$, Pb earthworms $r=-0,038$ and positive with Pb plant $r=0.052^{**}$. ANOVA shows no significant effect $p > 0.05$.

The assimilation of trace elements by plants is highly dependent on the bioavailability of these elements in the soil. The soil constituents, especially clays and organic matter can interact with the metal across different chemical interactions (electrostatic interactions etc.) All these interactions limit the bioavailability of the metals in the soil (Tanner and Headley, 2011).

The soil characteristics have a different impact from one earthworm species to another and depending on the studied metal (Peijnenburg W.J.G.M., 1999; Posthuma L., 1998). It was observed an increase of lead concentration in earthworms exposed in soil with high lead contamination (Grelle and Descamps, 1998; Scaps et al., 1997). Pb accumulation is proportional to the time of exposure. However the concentration in the earthworms remains much lower than that of soil. These results are similar with the results that we found in our experiments.

CONCLUSIONS

The present study shows that using the association *Hordeum vulgare* and *Lumbricus sp* significantly increases the concentrations of lead extracted from the soil. The concentrations of lead in *Lumbricus sp* tissues and *Hordeum vulgare* increases with increasing levels of lead in soil.

The lead concentrations in the soil depend on the physic - chemical parameters. However, other factors (element content and mobility) may increase or decrease retention of lead by the soil. The system S3 (soil-plant-earthworm) has the highest rate of remediation 24.83 ± 13.26 % compared to the two others S1 (soil-earthworm) 8.49 ± 2.67 % and S2 (soil-plant) 19.77 ± 6.41 %.

The presence of earthworms *Lumbricus sp* decreases the bioaccumulation of lead by *Hordeum vulgare*, while content recorded in tissues of earthworms suggests that the presence of the plant significantly increases the element concentration. This can be explained by a competition between the two organisms in the absorption of trace elements.

Several studies report that the accumulation of trace elements differs from one species to another. However, the interaction between two organisms such as earthworms and plants can be complex and influenced by many factors: the species of the plant and the earthworm, the physicochemical parameters of the soil, the levels of pollution and the nature of the pollutant.

The results of this study suggest that it is possible to use the association plant/earthworms for the bioremediation of agricultural soils polluted by lead.

REFERENCES

- [1] Abdul Rida A.M.M., Bouché M.B., (1995), The eradication of an earthworm genus by heavy metals in southern France, *Applied Soil Ecology*, vol.2, pp.45-52;
- [2] Abollino O., Aceto M., Malandrino M., Mentasti E., Sarzanini C. & Barbaris R., (2002), Distribution and mobility of metals in contaminated sites, Chemometric investigation of pollutant profiles, *Environmental Pollution*, 119, pp.177-193;
- [3] Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I. et Garbisu C., (2004), Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic, *Environmental science and biotechnology*, vol.3, pp.71-90;
- [4] Baize D., (1997), *Teneurs totales en éléments traces, métalliques dans les sols de France*, Edition INRA, p.408;
- [5] Beyer W.N., Cromartie E.J. (1987), A survey of Pb, Cu, Zn, Cd, Cr, As and Se in earthworms and soils from diverse sites, *Environmental Monitoring and Assessment*, vol.8, pp.27-36;
- [6] Beyer W.N., Hensler G. & Morre J., (1987), Relation of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd and Se in earthworms, *Pedobiologia*, vol.30, pp.167-172;
- [7] Bityutskii N., Kaidun P., Yakkonen K., (2016), Earthworms can increase mobility and bioavailability of silicon in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, vol.99, pp.47-53;
- [8] Blanchard C., (2000), *Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués*, Thèse: Ecole Doctorale de Chimie de Lyon;
- [9] Blaylock M.J. and Huang J.W., (2000), Phytoextraction of metals. In: I. Raskin and B.D. Ensley eds. *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment*, New York, John Wiley & Sons, Inc, pp.53-70;
- [10] Blouin M, Barot S, Lavelle P. Earthworms (2006), *Millsonia anomala*, *Megascolecidae* do not increase rice growth through enhanced nitrogen mineralization, *Soil Biology and Biochemistry*; 38, pp.2063–2068;
- [11] Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Brun J.J., (2013), A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services, *European Journal of Soil Science*, 64, pp.161–182;
- [12] Chaignon V., Hinsinger, P., (2003), A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil, *Journal of Environmental Quality*, 32, pp.824–833;
- [13] Cheng J., Wong M.H., (2002), Effects of earthworms on Zn fractionation in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 36, pp.72–78;
- [14] Contat F., Shariat Madari H et Stadelmann FX., (1991), Déposition et accumulation de Plomb le long de quatre secteurs autoroutiers de 1978 à 1988, Évolution en fonction des années, des saisons et de la météorologie. *Recherche Agronomique en Suisse*, 30(1/2), pp.29–43;
- [15] Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Bernhard-Reversat F., Nahmani J. & Lavelle P., (2004), Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biology and Biochemistry*., 36, pp.91–98 ;
- [16] De Vaufleury A., Gimbert F., Gomot L., (2013), *Bioaccumulation, Bioamplification des polluants dans la faune terrestre, Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*, ADEME, France, pp.46–90;
- [17] Durand, C., (2003), *Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques*, Thèse de doctorat, Université de Poitiers, 248 p;
- [18] Edwards, C.A., Bohlen, P.J., (1996), *Biology and Ecology of Earthworms*. Chapman and Hall, London.

- [19] Grelle C., Descamps M., (1998), Heavy metal accumulation by *Eisenia fetida* and its effects on glutathione-S-transferase activity, *Pedobiologia*, 42, pp.289-297;
- [20] Ha, N.T.H., Sakakibara, M., Sano, S., Nhuan, M.T., (2011), Uptake of metals and metalloids by plants growing in a lead-zinc mine area, Northern Vietnam. *J. Hazard. Mater.* 186, pp.1384-1391;
- [21] Harter, R. D., (1983), Effect of soil pH on adsorption of lead, copper, zinc, and Nickel, *Soil Science Society of America Journal*, 47, pp.47-51;
- [22] Jiang, Z.F., Huang, S.Z., Han, Y.L., Zhao, J.Z., Fu, J.J., (2012), Physiological response of Cu and Cu mine tailing remediation of *Paulownia fortunei* (Seem) Hemsl, *Ecotoxicology* 21, pp.579-767;
- [23] Jusselme MD., Poly F., Miambi E., Mora P., Blouin M., Pando A., (2012), Effect of earthworms on plant *Lantana camara* Pb-uptake and on bacterial communities in root-adhering, *Science of The Total Environment*, 416, pp.200–7;
- [24] Jusselme MD., Miambi E., Mora P., Diouf M., Rouland-Lefèvre C., (2013), Increased lead availability and enzyme activities in root-adhering soil of *Lantana camara* during phytoextraction in the presence of earthworms, *Science of the Total Environment*, pp.445-446, pp.101–109;
- [25] Kabala, C., et Szerszen, L., (2002), Profile distributions of lead, zinc, and copper in Dystric Cambisols developed from granite and gneiss of the Sudetes Mountains, *Poland. Water, Air, & Soil Pollution*, 138, pp.307-317;
- [26] Kamitani T., & Kaneko N., (2007), Species-specific heavy metal accumulation patterns of earthworms on a floodplain in Japan, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, pp.82-91;
- [27] Kennette D., Hendershot W., Tomlin A. & Sauvé S., (2002), Uptake of trace metals by earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils, *Applied Soil Ecology*, 19, pp.191-198;
- [28] Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N., (2004), The bioavailability of chemicals in soil for earthworm, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57, pp.39–47;
- [29] Lemtiri A., Liénarda A., Alabib T., Brostauxc Y., Cluzeaud D., Francisb F., Colineta G., (2015), Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils, *Applied Soil Ecology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.11.021>;
- [30] Li, M., Liu, Z.T., Xu, Y., Cui, Y.B., Li, D.S., Kong, Z.M., (2009), Comparative effects of Cd and Pb on biochemical response and DNA damage in the earthworm *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta), *Chemosphere*, 74, pp.621–625;
- [31] Li, N.Y., Li, Z.A., Zhuang, P., Zou, B., McBride, M., (2009), Cadmium uptake from soil maize with intercrops. *Water Air Soil Pollution*, 199, pp.45–56;
- [32] Lock K. & Janssen C.R., (2001), Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*, *Chemosphere*, 44, pp.1669-1772;
- [33] Maatoug M., Amirat M., Zerrouki D., Ait Hammou M., (2013), Decontamination of Agricultural soil polluted with lead using the common barley (*Hordium vulgare*), *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 31 (1), pp.23-35;
- [34] Marschner H., (1995), Mineral Nutrition of Higher Plants, Second edition, Academic press, London.
- [35] McBride M., Sauvé S. & Hendershot W.H., (1997), Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils, *European Journal of Soil Science*, 48, pp.337-346;
- [36] McBride M.B., (1994), "Environmental chemistry of soils". NewYork, Oxford University Press, 406 p., ISBN 0-19-507011-9;
- [37] McLaughlin M.J., Zarcinas B.A., Stevens D.P., Cook N., (2000), Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31, pp.11-14, pp.1661-1700;
- [38] Mishra S., Srivastava S., Tripathi R.D., Kumar R., Seth C.S., Gupta D.K., (2006), Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation, *Chemosphere*, 65, pp.1027-1039;
- [39] Morgan A.J., Morgan J.E., Turner M., Winters C. & Yarwood A., (1993), Metal relationships of earthworms, *Ecotoxicology of Metals In Invertebrates*, Dallinger R. & Rainbow P.S. (Eds), SETAC, Lewis Publ., USA, pp.333-358;
- [40] Morgan A.J., Morris B., James N., Morgan J.E. & Leyshon K., (1986), Heavy metals in terrestrial macroinvertebrates: Species differences within and between trophic levels, *Chemistry and Ecology*, 2, pp.319-334;
- [41] Morgan J.E., Morgan A.J., (1988), Earthworms as biological monitors of cadmium, copper, lead and zinc in metalliferous soils, *Environmental Pollution*, 54, pp.123-138;
- [42] Morgan J.E., Morgan A.J., (1991), Differences in the accumulated metal concentrations in two epigeic earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus*) living in contaminated soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, pp.296-301;
- [43] Morgan J.E., Morgan A.J., (1992), Heavy metal concentrations in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologicaly different earthworm species, *Soil Biology & Biochemistry*, 24, pp.1691-1697;
- [44] Morgan J.E., Morgan A.J., (1999), The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): Implications for ecotoxicological testing, *Applied Soil Ecology*, 13, pp.9-20;

- [45] Oste L.A., Dolfig J., Ma W.C., Lexmond T.M., (2001), The effect of beringite on Cd and Zn uptake by plants and earthworms: More than a liming effect?, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, pp.1339-1345;
- [46] Peijnenburg W.J.G.M., Posthuma L., Zweers P.G.P.C., Baerselman R., de Groot A.C., Van Veen R.P.M., Jager T., (1999), Prediction of metal bioavailability in Dutch field soils for the oligochaete *Enchytraeus crypticus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43, pp.170-186;
- [47] Posthuma L., Notenboom J., de Groot A.C., Peijnenburg W.J.G.M., (1998), Soil acidity as a major determinant of zinc partitioning and zinc uptake in two oligochaete worms (*Eisenia andrei* and *Enchytraeus crypticus*) exposed in contaminated field soils., *In: Advances in Earthworms Ecotoxicology*. Sheppard S., Bembridge J., Holmstrup M. & Posthuma L. (Eds), SETAC Publishers, Pensacola, FL, USA, pp.111-127;
- [48] Raskin I., Kumar N.P.B.A., Dushenkov S., Salt D.E., (1994), Bioconcentration of heavy metal by plant. *Current Opinion in biotechnology* 5, pp.285-290;
- [49] Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A., Dushenkov S., Ensley B.D., Chet I., Raskin I., (1995), Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 5, pp.285-290;
- [50] Santillan-Medrano J., Jurina, J.J., (1975), The chemistry of lead and cadmium in soil: solid phase formation. *Soil Science Society of America, Proceedings*, 39, pp.851-856;
- [51] Sauv e S., McBride M., (1998), Lead phosphate solubility in water and soil suspensions. *Environmental Science and Technology*, 32, pp.388-393;
- [52] Scaps P., Grelle C., Descamps M., (1997), Cadmium and lead accumulation in the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny) and its impact on cholinesterase and metabolic pathway enzyme activity, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 116 C, pp.233-238;
- [53] Spurgeon D.J., Lofts S., Hankard P.K., Toal M., McLellan D., Fishwick S., Svendsen C., (2006), Effect of pH on metal speciation and resulting metal uptake and toxicity for earthworms, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, pp.788-796;
- [54] Tanner C. C., Headley T. R., (2011), Components of floating emergent macrophyte treatment wetlands influencing removal of stormwater pollutants, *Ecological Engineering*, 37(3), pp.474-486;
- [55] Uzu, G., Sobanska, S., Aliouane, Y., Pradere, P., Dumat, C., (2009), Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation, *Environmental Pollution*, 157, pp.1178-1185;
- [56] Van Gestel C.A.M., Ma W.C., (1988), Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15, pp.289-297;
- [57] Van Vliet P.C.J., Van der Zee S.E.A.T.M. & Ma W.C., (2005), Heavy metal concentrations in soil and earthworms in a floodplain grassland. *Environmental Pollution*, 138, pp.505-516;
- [58] Venditti, D., Dur cu, S., Berthelin, J., (2000), A multidisciplinary approach to assess history, environmental risks, and remediation feasibility of soils contaminated by metallurgical activities, Part A: chemical and physical properties of metals and leaching ability, *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*, 38, pp.411-420;
- [59] Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., (2004), The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils, *Biology and Fertility of Soils*, 40, pp.181-187;
- [60] Xiao, N.-W., Song, Y., Ge, F., Liu, X.-H., Ou-Yang, Z.-Y., (2006), Biomarkers responses of the earthworm *Eisenia fetida* to acetochlor exposure in OECD soil, *Chemosphere*, 65, pp.907-912;
- [61] Zeng, L.S., Liao, M., Chen, C.L., Huang, C.Y., (2006), Effects of lead contamination on soil microbial activity and rice physiological indices in soil-Pb-rice (*Oryza sativa* L.) system, *Chemosphere*, 65, pp.567-574;

Communications affichées



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf de M'sila



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Journée internationale de la biodiversité (JIB2016)

Inventaire et préservation de la biodiversité pour le développement durable

Le 22 Mai 2016

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le comité d'organisation atteste que :

Melle/Mme/Mr : **BOUKIRAT Dyhia**

A présenté une **Communication** affichée

Co-auteurs : MAATOUG M'hamed & ZERROUKI Dahbia

Intitulée :

Bioaccumulation des métaux lourds par les vers de terre

Le Président du comité d'organisation

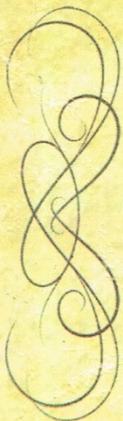
Dr. Khellaf REBBAS

Univ. M.B.M'Sila
F. sciences/SNV
JIB-22Mai2016

Le Doyen de la Faculté des Sciences

Pr. Abdelmadjid MAIRECHE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène
Faculté des Sciences Biologiques
Laboratoire Dynamique et Biodiversité



ATTESTATION

DE PARTICIPATION

ICAPCS5

LE PRÉSIDENT DE LA CINQUIÈME ÉDITION DU CONGRÈS INTERNATIONAL DES POPULATIONS ET DES COMMUNAUTÉS ANIMALES
« ÉCOSYSTÈMES, BIODIVERSITÉ ET ÉCO-DÉVELOPPEMENT » ATTESTE QUE :

BOUKIRAT Dylia

A PRÉSENTÉ UNE COMMUNICATION AFFICHÉE INTITULÉE :

**IMPACT OF THE EARTHWORM *Lumbricus* sp ON THE PHYTOEXTRACTION
OF LEAD (pb) BY *Hordeum vulgare* .**

Co-AUTEURS : MAATOUG M., HEILMEIR H. & KHARYTONOV M.

03-05 Novembre 2017

Tamanrasset - Algérie

Laboratoire de Dynamique et Biodiversité
Tamanrasset - Algérie
ICAPCS 5
03 au 05 Novembre 2017
Pr. ARAB Abdelkhalik
Président du Congrès

RÉSUMÉ

Le but de ce travail est d'étudier la possibilité de remédier les sols agricoles pollués au plomb à l'aide de l'interaction vers de terre / orge. Une expérimentation de soixante pots comportant des sols artificiellement contaminés au plomb a été menée dans des conditions contrôlées. Elle est répartie en trois systèmes : S1: sol-plante ; S2: sol-ver de terre; S3: sol-plante-ver de terre et cinq blocs représentant les concentrations de plomb : $500 \mu\text{g g}^{-1}$; $1000 \mu\text{g g}^{-1}$; $1500 \mu\text{g g}^{-1}$; $2000 \mu\text{g g}^{-1}$ et témoin avec 4 réplicas chacun.

Les résultats montrent que le niveau de contamination du sol dépend de l'importance des émissions des polluants vers le sol dans notre cas : la concentration de la solution du plomb ajoutée au sol (dose de contamination) et des phénomènes responsables de la rétention des polluants : les paramètres physico-chimiques du sol (pH, Argile, MO...).

*L'utilisation de l'association *Hordeum vulgare* et *Lumbricus sp* augmente significativement les concentrations du plomb extraites du sol pollué. La concentration du plomb dans les tissus de *Lumbricus sp* et de *Hordeum vulgare* augmente avec l'augmentation des taux de plomb dans le sol sans pour autant les dépassé.*

Le système S3 : sol-plante-ver de terre, présente le taux le plus élevé de remédiation ($64.01 \pm 12.34 \mu\text{g g}^{-1}$) comparé aux deux autres : S1: sol-ver de terre ($24.01 \pm 10.97 \mu\text{g g}^{-1}$) et S2 : sol-plante ($59.44 \pm 13.16 \mu\text{g g}^{-1}$).

*La présence des vers de terre (*Lumbricus sp*) diminue la bioaccumulation du plomb par *Hordeum vulgare* (12,91% contre 18,11% en absence des vers de terre) alors que les concentrations enregistrées dans les tissus des vers de terre suggèrent que la présence de la plante augmente ces concentrations (8,78% en présence de la plante ; 7,24% en son absence). Ceci peut être expliqué par une compétition entre les deux organismes dans l'absorption des métaux lourds.*

La pollution des sols par le plomb affecte considérablement la biomasse des vers de terre. Nous avons constaté une régression de la biomasse des vers de terre suivant les taux de plomb dans le sol, la biomasse des vers de terre est plus élevée en absence de la plante dans le système S2 ($2.11 \pm 0.45 \text{ g}$) que dans le système S3 en présence de la plante ($1.81 \pm 0.47 \text{ g}$) et la biomasse des blocs témoins restent supérieures par rapport aux blocs pollués.

L'impacte de l'activité des vers de terre sur le sol se traduit par des modifications des propriétés physiques et chimiques du sol, nous avons pu déceler une diminution du pH dans les sols pollués de l'expérimentation par rapport aux sols témoins, les sols des différents systèmes (pollués et témoins) présentent des différences dans les concentrations des métaux et nutriments.

Les concentrations du plomb dans le sol, les vers de terre et l'orge sont influencées par les paramètres physico-chimiques du sol cependant d'autres facteurs liées au polluant, à l'espèce du ver de terre et à celle de la plante et leurs interactions peuvent augmenter la rétention du plomb par le sol et sa bioaccumulation par ces deux organismes.

Mots clés : vers de terre, orge, bioaccumulation, phytoremediation, pollution du sol, plomb.

ABSTRACT

The aim of this work is to study the possibility of remedying polluted agricultural soils by lead with the association: earthworms / barley. An experimentation of sixty pots was conducted in controlled conditions containing artificially contaminated soil by lead. It is divided into three systems: S1: soil-plant; S2: soil-earthworms; S3: soil-plant-earthworms, and five blocks representing lead concentrations: control; 500 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1500 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 2000 $\mu\text{g g}^{-1}$ with 4 replicas each.

The results show that the level of soil contamination depends on the importance of pollutant emissions to the soil in our case: the concentration of the lead solution added to the soil (contamination dose) and the phenomena responsible for the retention of pollutants. : the physicochemical parameters of the soil (pH, clay, OM ...).

*The use of the combination *Hordeum vulgare* and *Lumbricus sp* significantly increases the concentrations of lead extracted from polluted soil. The concentration of lead in the tissues of *Lumbricus sp* and *Hordeum vulgare* increases with increasing levels of lead in the soil without exceeding them.*

The S3 system (soil-plant-earthworm) has the highest remediation rate ($64.01 \pm 12.34 \text{ ug g}^{-1}$) compared to the two other: S1: soil-earthworm ($24.01 \pm 10.97 \text{ ug g}^{-1}$), S2: soil-plant ($59.44 \pm 13.16 \text{ ug g}^{-1}$).

*The presence of earthworms *Lumbricus sp* decreases the bioaccumulation of lead by *Hordeum vulgare* (12,91% against 18,11% in the absence of earthworms) , while concentrations recorded in earthworms tissues suggests that the presence of the plant increases these concentrations (8,78% in the presence of the plant 7,24% in its absence). This can be explained by a competition between the two organisms in the absorption of heavy metals.*

Soil pollution by lead significantly affects the earthworm biomass, we have observed a decline in the biomass of earthworms following the lead levels in the soil, the earthworm biomass is higher in the absence of the plant in the S2 system ($2.11 \pm 0.45 \text{ g}$) than in the S3 system in the presence of the plant ($1.81 \pm 0.47 \text{ g}$) and the biomass of the control blocks remain higher compared to the polluted blocks.

The impact of earthworm activity on the soil is reflected by the changes in the physical and chemical properties of the soil, we have been able to detect a decrease in pH in the polluted soils of the experiment compared to the control soils, Soils of the different systems (polluted and controls) show differences in the concentrations of metals and nutrients.

The concentrations of lead in soil, earthworms and plants are influenced by the physical and chemical soil parameters; however, other factors related to the pollutant, the species of both earthworm and plant and their interactions can increase or decrease retention of lead by the soil and its bioaccumulation.

Keywords: earthworms, common barley, bioaccumulation, phytoremediation, soil pollution, lead.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة إمكانية معالجة التربة الزراعية الملوثة بواسطة الرصاص باستخدام الرابطة: ديدان الأرض/ الشعير. أجريت تجربة بستين وعاء في ظروف خاضعة للرقابة تحتوي على تربة ملوثة صناعيا بالرصاص. وهي مقسمة إلى ثلاثة أنظمة S1: التربة - النبات ; S2 التربة - دودة الأرض ; S3 التربة - النبات - دودة الأرض وخمس وحدات تمثل تركيزات الرصاص: تربة غير ملوثة : 1000 ug g^{-1} ; 1500 ug g^{-1} ; 2000 ug g^{-1} , 500 ug g^{-1} مع 4 تكرارات لكل منهم.

أظهرت النتائج أن مستوى تلوث التربة يعتمد على أهمية انبعاثات الملوثات في التربة في حالتنا: تركيز محلول الرصاص المضاف إلى التربة (جرعة التلوث) والظواهر المسؤولة عن الاحتفاظ بالملوثات في التربة : المعلمات الفيزيائية الكيميائية للتربة (درجة الحموضة، نسبة الطين، نسبة المادة العضوية ...).

استخدام الرابطة *Hordeum vulgare* و *Lumbricus sp* يزيد بشكل كبير من تركيزات الرصاص المستخرجة من التربة الملوثة. تركيز الرصاص في أنسجة *Hordeum vulgare* و *Lumbricus sp* يزيد مع زيادة مستويات الرصاص في التربة دون تجاوزها.

إن نظام S3: التربة- النبات - دودة الأرض ، يمثل أعلى معدل للعلاج ($64.01 \pm 12.34 \text{ ug g}^{-1}$) مقارنة بالنظامين الآخرين : S1: التربة - دودة الأرض ($24.01 \pm 10.97 \text{ ug g}^{-1}$) و S2: التربة - النبات ($59.44 \pm 13.16 \text{ ug g}^{-1}$).

يؤدي وجود دودة الأرض (*Lumbricus sp*) إلى تقليل تراكم الرصاص في *Hordeum vulgare* (12.91% مقارنة بـ 18.11% في غياب دودة الأرض) في حين تشير التركيزات المسجلة في أنسجة دودة الأرض أن وجود النبتة يزيد من هذه التركيزات (8.78% في وجود النبات 7.24% في غيابها). يمكن تفسير ذلك من خلال المنافسة بين دودة الأرض و النبتة في امتصاص المعادن الثقيلة.

يؤثر تلوث التربة بالرصاص تأثيرا كبيرا على الكتلة الحيوية لدودة الأرض، حيث شهدنا انخفاضا في الكتلة الحيوية لدودة الأرض وفقا لمعدل الرصاص في التربة. تكون الكتلة الحيوية لدودة الأرض مرتفعة في حالة غياب النبات في النظام S2 (0.54 ± 2.11 غ) مقارنة مع النظام S3 في وجود النبتة (0.47 ± 1.81 غ). الكتلة الحيوية لدودة الأرض في التربة الغير ملوثة تظل مرتفعة مقارنة بالتربة الملوثة.

إن تأثير نشاط دودة الأرض على التربة يؤدي إلى تغيرات في الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة، فقد تمكننا من الكشف عن انخفاض في درجة الحموضة في التربة الملوثة الخاصة بالتجربة مقارنة مع التربة غير الملوثة، وتظهر التربة الخاصة بمختلف الأنظمة (الملوثة والشاهدة) الاختلافات في تركيزات المعادن والمواد المغذية.

تتأثر تركيزات الرصاص في التربة ودودة الأرض والشعير بالعوامل الفيزيائية والكيميائية للتربة، إلا أن العوامل الأخرى ذات صلة بالملوثات نوع دودة الأرض و النبات و تفاعلاتهما يمكن أن تزيد من امتصاص الرصاص من طرف التربة والتراكم الأحيائي لدودة الأرض و الشعير.

الكلمات الدالة: دودة الأرض، الشعير، التراكم الحيوي، المعالجة النباتية، تلوث التربة، الرصاص.

Résumé en image

