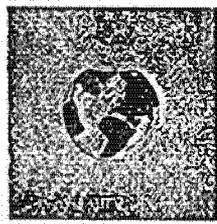


# La faune, indicateur de la qualité des sols



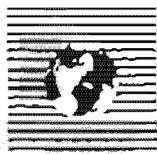
DONNÉES ET RÉFÉRENCES

Ademe



# LA FAUNE, INDICATEUR DE LA QUALITE DES SOLS

Ademe



Direction scientifique  
Service recherche impacts et milieux

## AVANT-PROPOS

L'exigence de la société pour un sol propre est de plus en plus exprimée au même titre que le besoin de respirer un air pur ou de boire une eau propre. Cette demande a déjà trouvé des réponses réglementaires dans le cadre des politiques nationales de réhabilitation des sols et de prévention des pollutions résultant du stockage des déchets.

Ces politiques reposent, notamment, sur la notion de meilleure technologie disponible à un coût économiquement acceptable. Actuellement, cette approche ne constitue plus une réponse unique, en terme d'objectifs et de niveaux à atteindre en matière de protection de l'environnement : L'appréciation scientifique des risques et des impacts sur l'homme et les écosystèmes devient un des éléments incontournables dans l'élaboration des réglementations environnementales et des choix technologiques qui en découlent.

Les stratégies d'évaluation des risques écotoxicologiques des sols pollués ont pour objectif de caractériser les effets potentiels et réels des polluants sur les organismes vivants en complément des approches physico-chimiques classiques qui renseignent uniquement sur la teneur en polluants dans les milieux.

Le premier but de cette évaluation est de désigner les cibles biologiques à risques (populations humaines, animales ou végétales, ou encore la capacité fonctionnelle d'un écosystème). Il s'agit ensuite, d'évaluer la nature des effets toxiques prévus (le danger) et la probabilité de réalisation de ces effets (le risque).

Ces données sont obtenues par différentes méthodes. Le devenir et le comportement des polluants dans les milieux sont estimés par des tests de laboratoire, des mesures de terrain ou simulés par des modèles mathématiques. La caractérisation des effets relève des mêmes approches, études de relation dose-effet au laboratoire sur des espèces animales ou végétales et études *in situ* des populations présentes dans l'écosystème considéré.

C'est dans cette démarche que se situe cet ouvrage qui dresse un état de l'art des outils utilisant des organismes de la faune du sol pour évaluer la qualité des sols. Ces indicateurs se situent à différents niveaux d'intégration biologiques, depuis le niveau moléculaire jusqu'aux paramètres populationnels, dont les avantages et limites sont discutés.

L'état des connaissances scientifiques présenté ici devrait intéresser non seulement les spécialistes du domaine mais aussi l'ensemble des acteurs impliqués dans la gestion des sites et des sols pollués.

Nous tenons vivement à remercier les auteurs de cet ouvrage:

C. TEXIER et D. CLUZEAU du Laboratoire Ecologie du Sol et Biologie des Populations, Université de Rennes

J. CORTET du Laboratoire Biosystématique et Ecologie Méditerranéenne, Université de Provence

A. GOMOT du Laboratoire Biologie des Organismes et Ecosystèmes, Université Franche-Comté

ainsi que les experts ayant bien voulu le relire et le compléter : Nicole BALAGUER, André CHABERT, Marcel BOUCHE, Michel ECHAUBARD, Lucien GOMOT, François RAMADE, M. BELLIDO, Paul TREHEN et Yves CROUAU.

Il s'agit d'un travail important qui ne prétend pas être exhaustif étant donné l'énorme diversité de la faune du sol, et parfois délicat étant donné les difficultés terminologiques subsistant en écotoxicologie.

Ce document illustre également le rôle d'animation et de fédération de laboratoires que joue l'ADEME auprès des écotoxicologues français s'intéressant aux domaines des sols et des déchets. Qu'ils soient, ici, également chaleureusement remerciés.

Valérie MAYEUX  
ADEME, Département milieux et technologies

Denis SAVANNE  
ADEME, Service recherche impacts et milieux

## TABLE DES MATIERES

RESUME.....	1
ABSTRACT.....	1
INTRODUCTION.....	2
A- QUALITE D'UN SOL ET BIOINDICATEUR.....	2
B- TOXICOLOGIE ET ECOTOXICOLOGIE.....	3
C- LA FAUNE DU SOL.....	4
I- LES INDICATEURS BIOLOGIQUES DE BIOACCUMULATION.....	12
A- LES MICROARTHROPODES.....	12
B- LES LOMBRICIENS ET LES ISOPODES.....	13
C- LES GASTEROPODES.....	14
II- LES INDICATEURS BIOLOGIQUES D'EFFETS.....	17
A- LES INDICATEURS TOXICOLOGIQUES.....	17
1- Mortalité / reproduction / croissance.....	18
1.1- Les tests.....	18
a- Les enchytréides.....	18
b- Les vers de terre.....	19
c- Les gastéropodes.....	23
d- Les acariens* et les collemboles**.....	24
e- Les isopodes.....	26
1.2- La standardisation des tests.....	27
2- Autres paramètres.....	30
2.1- Le dysfonctionnement des processus biologiques du sol.....	30
a- La décomposition de la matière organique.....	30
b- La création et la conservation de la structure grumeleuse du sol.....	31
2.2- La perturbation de la vélocité de l'influx nerveux par les polluants.....	31
2.3- Les biomarqueurs d'exposition.....	32
B- LES INDICATEURS ECOLOGIQUES.....	33
1- Les types d'études.....	33
2- Les variables.....	36
2.1- les variables relatives à la densité du peuplement.....	36
2.2- les variables relatives à la structure du peuplement.....	36
3- Méthodes de prélèvement de la faune du sol.....	37
3.1- Les enchytréides.....	37
3.2- Les vers de terre.....	37
3.3- Les gastéropodes.....	38
3.4- Les microarthropodes.....	38
3.5- Les isopodes.....	39
CONCLUSION.....	40
BIBLIOGRAPHIE.....	44
GLOSSAIRE.....	56
LISTE DES FIGURES.....	59
LISTE DES TABLEAUX.....	59
ANNEXE I : DETAILS DES TESTS STANDARDISES OU PROPOSES (TABLEAU N° 10).....	60

## RESUME

---

### LA FAUNE, INDICATEUR DE LA QUALITE DES SOLS

Une liste critique des paramètres biologiques utilisés dans certains travaux pour indiquer l'impact des polluants sur la qualité des sols a été établie. Ces paramètres font référence à un ou plusieurs invertébrés du sol.

Le rôle d'organisme indicateur des invertébrés du sol dépend de leur caractéristiques biodémographiques, de leur mode de vie et de leur taille spécifique. Globalement, les acariens, les collemboles, les enchytréides, les vers de terre, les isopodes et les gastéropodes peuvent être utilisés à différents titres en tant qu'indicateur biologique.

Les indicateurs biologiques sont des indicateurs:

- de bioaccumulation,
- d'effets (toxicologiques et écologiques)

Les indicateurs biologiques de bioaccumulation servent au suivi des polluants dans l'environnement mais les approches au laboratoire et au terrain nécessitent une clarification en fonction de leur objectif.

Les bioindicateurs d'effets toxicologiques et écologiques apportent des informations complémentaires sur l'effet des polluants. En effet, les études de laboratoire ne permettent pas d'établir de diagnostic en ce qui concerne l'impact des polluants dans les écosystèmes mais seulement des pronostics.

## ABSTRACT

---

### A CRITICAL LITERATURE REVIEW ON THE USE OF SOIL FAUNA AS INDICATOR OF POLLUTANTS EFFECTS ON SOIL QUALITY.

A critical review of biological parameters used to indicate pollutant impact on soil quality was performed. These parameters mention some soil invertebrates.

The function of soil invertebrates as indicators depends on their life expectancy, life style and specific importance. Usually, mites, collembola, enchytraeids, earthworms, isopods and molluscs are used differently such as biological indicators.

Biological indicators are :

- of bioaccumulation,
- of effects (toxicological and ecological)

Biological indicators of bioaccumulation are used for pollution monitoring but laboratory and field approaches need to be better defined according to their purpose (health, homologation, environmental risk).

Toxicological and ecological bioindicators yield complementary informations on pollutant effects. Thus, laboratory studies do not establish a diagnosis, but only forecast pollution impact in ecosystems.

### A- QUALITE D'UN SOL ET BIOINDICATEUR

Le terme de qualité d'un sol, d'après Eijsackers (1983), "*peut être défini comme le système des caractéristiques abiotiques et biotiques qui assurent le fonctionnement de l'écosystème du sol. Ces caractéristiques doivent, par conséquent, posséder un certain minimum au dessus duquel la qualité d'un sol variera en fonction de la phase de succession et du type d'écosystème du sol.*"

La qualité d'un écosystème ne se juge pas aisément en raison de sa complexité. Pour contourner cette difficulté, il est souvent fait appel à des indicateurs de perturbation. Le concept de bioindicateur a été défini de manière générale par Blandin (1986) comme "un organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocément que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées".

La faune du sol présente des caractéristiques biotiques susceptibles de traduire les perturbations apportées par le polluant à la qualité d'un sol. Elle participe au fonctionnement de l'écosystème sol. Elle assure plusieurs fonctions, notamment :

- la décomposition de la matière organique (les saprophages n'en sont pas les principaux responsables mais la fragmentation est un maillon important, parfois essentiel),
- la régulation partielle des activités microbiennes,
- le cycle des nutriments,
- la création et la conservation de la structure grumeleuse du sol.

D'ailleurs, une étude des effets néfastes d'un polluant ne prétend pas à la protection de la faune elle-même mais à celle des fonctions qu'elle exerce dans le sol (Van Straalen & Van Gestel, 1993).

Dans la réalité, l'indicateur idéal est rarement représenté par un organisme vivant. Chacun réagit différemment vis à vis des polluants. Un ensemble de groupes zoologiques doit donc être appréhendé.

## B- TOXICOLOGIE ET ECOTOXICOLOGIE

L'étude de l'impact des polluants sur la qualité des sols par le biais de la faune du sol fait appel à la toxicologie et l'écotoxicologie. Ces deux disciplines sont très liées ; l'écotoxicologie est née sous l'influence de la toxicologie (Legay, 1995). Ainsi, la distinction entre ces deux disciplines n'est pas très bien définie, en raison du recouvrement entre les méthodes utilisées pour chacune.

D'après Ramade (1993), l'écotoxicologie actuelle, étant l'étude des polluants dans les écosystèmes et leurs conséquences écologiques, recouvre cinq domaines :

1. l'analyse de la circulation des polluants entre les biotopes et les communautés vivantes,
2. la compréhension des conséquences écologiques de l'action des polluants sur la structure et le fonctionnement des systèmes écologiques naturels,
3. l'étude des modalités d'action des polluants sur les processus écologiques fondamentaux,
4. le monitoring des polluants dans l'environnement,
5. la prévision des effets potentiels de la pollution d'un écosystème donné par un produit chimique ou encore un effluent complexe d'origine industrielle.

Ramade (1993) différencie la toxicologie environnementale de l'écotoxicologie d'après leur finalité. La première discipline s'adresse à l'homme ; quant à la deuxième, elle concerne les écosystèmes.

Ces définitions amènent à distinguer les études de toxicité de celles d'écotoxicité suivant le contexte et les objectifs des travaux :

1. santé humaine
2. homologation des produits
3. gestion environnementale des déchets<sup>1</sup>

L'ambiguïté se situe dans la dénomination des tests réalisés au laboratoire. S'agit-il de tests de toxicologie ou d'écotoxicologie lorsque l'on travaille avec la faune du sol ?

Les niveaux concernés par les tests au laboratoire sont la molécule, la cellule, l'organe et l'individu. Les réponses aux polluants relevées à ces niveaux ont peu de signification écologique. Cependant, pour la gestion environnementale, la finalité est l'étude des effets des polluants dans les écosystèmes et leurs conséquences écologiques et si l'on se réfère à la définition de Ramade, il s'agirait de tests d'écotoxicité.

---

<sup>1</sup> Par gestion environnementale des déchets il est sous-entendu l'écocompatibilité des déchets ou les risques écologiques suite à une pollution (prise en compte des différents niveaux de complexité des systèmes écologiques)

## C- LA FAUNE DU SOL

La faune du sol regroupe une multitude d'organismes de taxonomie ou de taille différentes. Cette énorme diversité empêche de traiter la faune du sol dans sa totalité. Les exemples sont puisés parmi les invertébrés, les êtres vivants les plus nombreux et les plus variés de la faune du sol.

Chez les invertébrés du sol, leur grande variété taxonomique et de taille fournit des possibilités de classification. Ainsi, la taille permet de définir trois classes qui rassemblent d'ailleurs très souvent des groupes taxonomiques :

- la microfaune se compose essentiellement des protozoaires et des nématodes. Leur taille est inférieure à 0.02 mm.
- la mésofaune réunit les organismes de taille intermédiaire entre 0.02 et 4 mm. Les collemboles, les acariens, les enchytraéides en sont les plus communs
- la macrofaune de taille supérieure à 4 mm et pouvant atteindre 80 mm regroupe les lombriciens, les isopodes, les chilopodes et les gastéropodes.

Par leur régime alimentaire (saprophagie, phytophagie ou prédation), les organismes du sol entretiennent des relations étroites entre eux, avec les microorganismes, les végétaux ou le sol (figure n° 1).

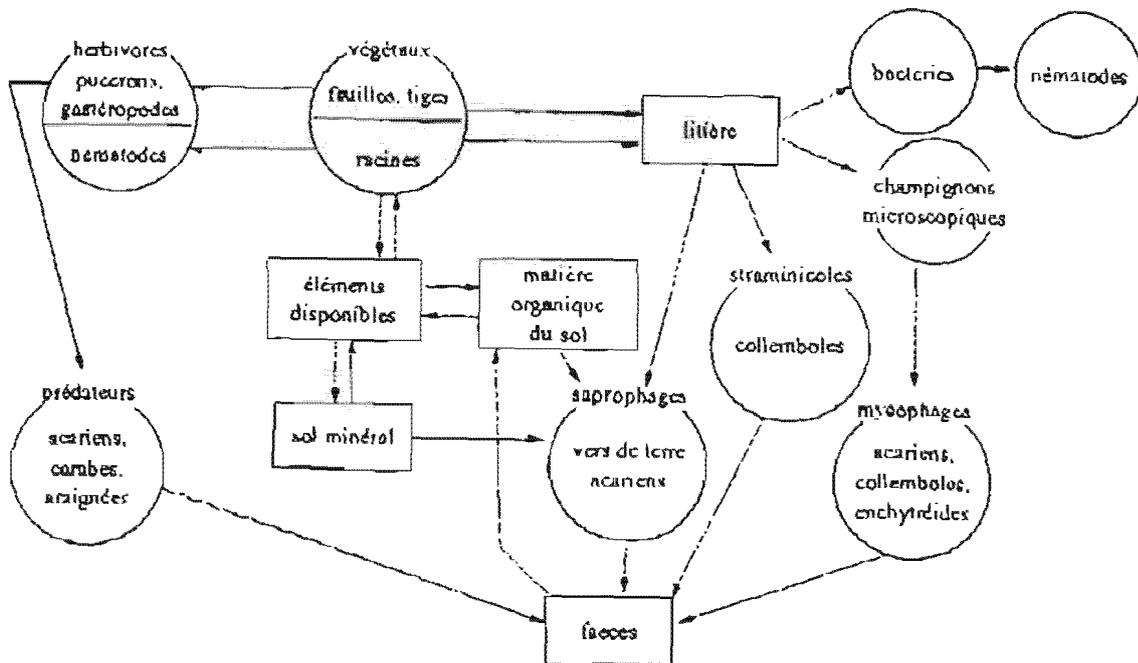


figure n° 1 : Relations trophiques entre les composantes d'un écosystème terrestre (d'après Sreen, 1983).

Au sein de certains groupes taxonomiques, une classification est établie selon l'écologie des organismes. Ci-après, trois exemples sont présentés avec les vers de terre (figure n° 2), les acariens et les collemboles (figure n° 3).

En zone tempérée, trois grands types de vers de terre ont été définis par Bouché (1972) :

- Les épigés, qui vivent à la surface du sol dans les accumulations organiques (fécès de bétail, litière, racines, feuilles mortes, ...)
- Les endogés, qui vivent en permanence dans le sol. Ils se nourrissent essentiellement de terre plus ou moins riche en matière organique.
- Les anéciques, qui entraînent les débris organiques superficiels et s'en nourrissent mélangés au sol prélevé en profondeur.

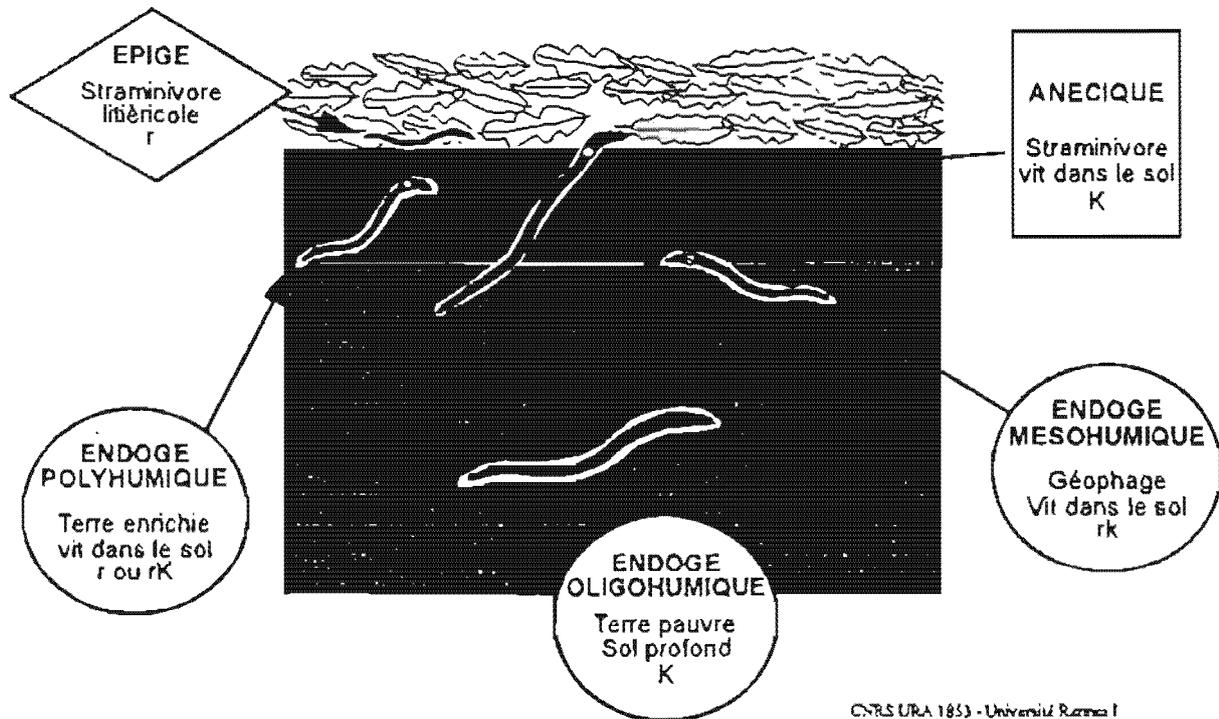


figure n° 2 : Catégories écologiques des vers de terre (d'après Bouché, 1972 ; Lavelle, 1981)<sup>2</sup>

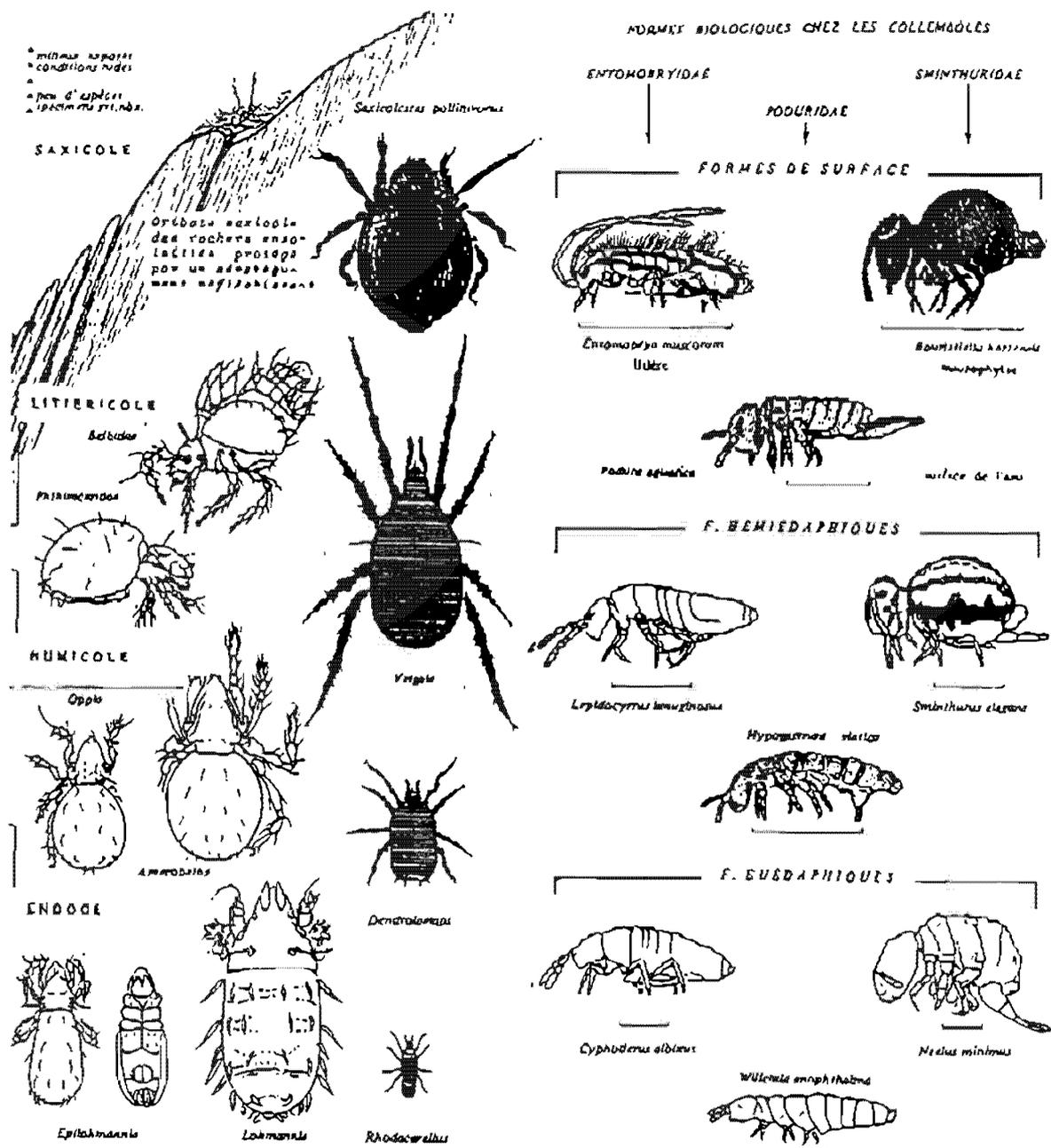
La figure n° 3 présente les diverses catégories écologiques des microarthropodes avec :

- les litiéristes, les humicoles et les endogés pour les acariens,
- les formes de surface, les hémiedaphiques et les euédaphiques pour les collembolés

Pour les microarthropodes, Siepel (1995) propose aussi une classification fondée sur les différentes stratégies adoptées par les microarthropodes. Différents critères sont pris en compte : reproduction, développement, synchronisation, dispersion. Douze classes différentes ont finalement été retenues (tableaux n° 1 et 1bis)<sup>2</sup>.

Ce nouveau type de classification présente un grand intérêt, puisqu'il semble très utile en écotoxicologie. En effet, le nombre d'espèces par classe semble différent dans les systèmes perturbés par rapport aux systèmes non perturbés (Siepel, 1995)

<sup>2</sup> La définition des termes employés est reportée dans un lexique à la fin du document.



Les **A.C.A.R.I.FÈRES**. Leur taille diminue statistiquement avec l'augmentation de la profondeur, phénomène évoqué par les trois *Mecastigmatus* figurés en gradé à la même échelle.

Les *Oribates* n'offrent pas de formes biologiques aussi marquées. Beaucoup de genres très homogènes occupent plusieurs horizons. Toutefois les *Palitidae* et les *Dacnariidae* de bonne taille, encombrés de sculptures et à longues poches noueuses sont littéricoles, la plupart des petites espèces d'*Oppia* sont humicoles, la plupart des petits et allongés vit dans le sol profond aux côtés de *Lohmannia* qui fait exception à cette règle des tailles. Il fait partie des *Oribates* primitifs qui sont plus abondants en sol profond que dans les milieux superficiels.

Dans ces trois zones de **COLLEMBOLÉS** on voit apparaître de haut en bas des caractères liés à la vie endogée. Dans les mêmes phylums, les formes eudaphiques sont particulièrement régressives par rapport à celles de l'aérobios, les hémidaphiques apparaissent comme des formes intermédiaires. On note chez les formes adaptées à la vie dans le sol profond:

- réduction de la taille du corps
- réduction des dimensions relatives des appendices
- réduction ou disparition des organes visuels
- disparition des pigments oculaires
- dépigmentation
- chélotaxie simplifiée et plus courte
- hypométabolisme

figure n° 3 : Catégories des acariens et des collembolés (Coineau, 1974)  
 (avec l'aimable autorisation du professeur Yves Coineau)

	Parasitisme	Phorésie	Anémochorie	Léthargie	Reproduction sexuée	Thélytoquie
Ia	total		non	non	oui	non
Ib	en partie		non	quiescence possible	oui	non
II	non	facultative ou obligatoire avec un porteur spécifique	non	diapause possible	oui	apparaît
III	non	obligatoire pour les juvéniles adaptations morphologiques et physiologiques	non	quiescence	oui	non
IV	non	obligatoire pour les adultes	non	quiescence	oui	non
V	non	non	non	diapause obligatoire	oui	peut apparaître
VI	non	non	non	diapause ou quiescence	oui	peut apparaître
VII	non	non	oui	diapause ou quiescence	oui	non
VIII	non	non	non	diapause ou quiescence	oui	peut apparaître
IX	non	non	non	non	non	oui
X	non	non	non	non	non	oui
XI	non	non	non	non	oui	non
XII	non	non	non	non	oui	non

tableau n° 1 : Classification de Siepel (1995) pour les microarthropodes

	Amphitogonie	Arrhénotogonie	sémelparité	itéroparité	production des oeufs	viviparité	Développement
Ia	non	non	non	continue	faible	apparaît	modéré
Ib	non	non	non	continue	faible	apparaît	modéré
II	rare	apparaît	peut apparaître	continue	faible	apparaît	lent
III	non	apparaît	peut apparaître	continue	forte	apparaît	rapide
IV	non	apparaît	peut apparaître	continue	forte	peut apparaître	rapide
V	non	non	peut apparaître	continue	modérée	peut apparaître	lent à rapide
VI	non	peut apparaître	oui	non	forte	peut apparaître	rapide
VII	non	apparaît	non	continue	forte	peut apparaître	rapide
VIII	non	non	non	continue	modérée	peut apparaître	rapide
IX	non	non	non	continue ou saisonnière	faible à modérée	peut apparaître	lent
X	non	non	non	continue	modérée	non	assez rapide
XI	non	non	non	continue	modérée à forte	non	assez rapide
XII	non	non	non	saisonnière	modérée	non	lent à assez rapide

tableau n° 1bis : Suite de la classification de Siepel (1995) pour les microarthropodes

## Groupes zoologiques utilisés comme bioindicateurs

Les protozoaires et les nématodes, qui vivent dans les fractions d'eau libre du sol, sont assez peu utilisés pour l'étude des sols. En effet, ces groupes requièrent un savoir faire de spécialiste et une bonne technicité pour les dénombrer et les identifier. Les tests utilisés rappellent plus ceux de la toxicologie aquatique (Van Straalen & Van Gestel, 1993) ; par ailleurs, ces organismes présenteraient un bon potentiel de bioaccumulation (Bispo, 1996). Des tests en microcosmes sont actuellement en cours de développement (Ekelund *et al*, 1995). Cependant, le cas des protozoaires et des nématodes n'est pas traité par la suite.

Les enchytréides (annélides oligochètes) sont présents en grand nombre dans la plupart des sols et jouent un rôle important dans les processus de décomposition. Ils occupent surtout les 5 premiers cm du sol et sont donc potentiellement des bioindicateurs intéressants.

Les vers de terre (annélides oligochètes) sont reconnus comme de bons indicateurs. Les vers de terre préfèrent certains sols à d'autres mais il y a peu de sols qui ne contiennent pas au moins une espèce de ver de terre (Bouché, 1972). De plus, les vers de terre ne migrent pas sur de longues distances (Helmke *et al*, 1979 in Hopkin, 1989). La robustesse et la sensibilité font aussi partie de leurs qualités.

Les limaces et escargots (mollusques gastéropodes terrestres) se déplacent à la surface du sol où ils consomment des végétaux et de la terre, mais certaines phases de leur cycle biologique (repos, abri, ponte, développement embryonnaire, hibernation) se passent dans le sol dont ils absorbent des contaminants. Leur vaste répartition, la facilité de leur récolte, leur capacité importante de bioaccumulation et leur régime phytophage ont amené plusieurs chercheurs à considérer les gastéropodes terrestres comme des indicateurs de pollution (revue dans Berger & Dallinger, 1993).

Les collemboles (insectes) et acariens (arachnides) sont les plus nombreux des arthropodes du sol. Ils sont présents partout, en quantité variable suivant le type de sol. Leur petite taille peut sembler être un obstacle à la mesure de l'accumulation, car elle nécessite le cumul d'organismes, et donc multiplie la marge d'erreur. En effet, bien que la variation interclonale de certaines espèces (notamment *Folsomia candida*) ne remette pas en cause leur utilisation pour des tests écotoxicologiques (Crommentuijn *et al*, 1995b), il existe des différences de réactions importantes entre espèces de collemboles (Van Straalen & Van Wensem, 1986 ; Janssen *et al*, 1991 ; Lupetti *et al*, 1994).

Les isopodes (arthropodes crustacés) méritent une attention à cause de leur surprenante capacité à accumuler les métaux et de leur abondance non négligeable dans certains sols (Hopkin, 1989).

Quant aux insectes holométaboles, ils sont en général considérés comme de mauvais accumulateurs et par ailleurs leur présence dans le sol correspond à un stade particulier de leur cycle de développement.

Nous avons regroupé dans le tableau n° 2 les groupes animaux qui nous semblent être de bons bioindicateurs pour au moins une des raisons suivantes (Hopkin, 1993) :

- avoir un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème sol.
- posséder une large distribution, être commun et facile à prélever
- présenter des réponses mesurables (concentration de polluants dans les tissus, perturbation de caractéristiques biologiques telles que croissance et fécondité ou résistance génétique).

Une multitude de travaux dont une partie seulement sera citée ici concerne les bioindicateurs. Pour clarifier l'état actuel des connaissances scientifiques, ces travaux sont présentés suivant le type de réponse des organismes (niveau biochimique, cytologique, physiologique, éthologique ou écologique)(Echaubard, 1995) :

1- Les indicateurs biologiques de bioaccumulation

2- Les indicateurs biologiques d'effets

a- toxicologiques (les méthodes utilisées relèvent de diverses disciplines biologiques telles que la biochimie ou l'éthologie)

b- écologiques (les techniques employées sont propres à l'écologie)

		Enchytréides	Vers de terre	Gastéropodes	Collemboles	Acariens	Isopodes
Bioaccumulation							
bioindicateurs toxicologiques	fonction						
	mortalité						
	reproduction / développement						
	perturbation neurologique						
	biomarqueurs d'exposition						
bioindicateurs écologiques	abondance						
	biomasse						
	richesse spécifique						
	diversité						

tableau n° 2 : Bioindicateurs étudiés (cases en grisé)

## I- LES INDICATEURS BIOLOGIQUES DE BIOACCUMULATION

---

La bioaccumulation est un phénomène par lequel une substance, présente dans un biotope, pénètre dans un organisme même si elle n'a aucun rôle métabolique, voire si elle est toxique à ce dernier (Ramade 1993). Le rapport des teneurs de l'organisme en une certaine substance à la teneur du milieu extérieur est généralement appelé facteur de bioconcentration (Phillips, 1993)

L'étude de la bioaccumulation permet d'indiquer le niveau de contamination d'un milieu et ainsi de définir la qualité d'un milieu voire cartographier celle-ci (Dallinger & Berger, 1992). D'autre part, elle amène aussi à l'étude de la biomagnification des toxiques (transfert des polluants dans les chaînes alimentaires).

Les métaux lourds sont les polluants les plus connus pour leur accumulation dans les organismes. Toutefois, le devenir de certains pesticides a également été étudié.

La bioaccumulation des métaux lourds par les organismes terrestres est largement analysée. Cependant à l'instar des tests de toxicité aiguë, aucune proposition de protocole standardisé n'est connue pour mesurer la bioaccumulation (Phillips, 1993). D'ailleurs, les approches au laboratoire comme au terrain nécessitent une clarification en fonction de leur objectif (santé, homologation, gestion environnementale des déchets)

### A- LES MICROARTHROPODES

Très peu d'informations sont disponibles sur les phénomènes d'accumulation chez les microarthropodes (Edwards & Bohlen, 1995). Cependant, il faut citer la capacité des collemboles à concentrer certains organochlorés, comme les pp'DDE. Lupetti *et al* (1994) proposent l'utilisation de l'espèce *Orchesella villosa* pour évaluer la présence de xénobiotiques, notamment en surface. La technique d'extraction consiste à geler la faune dans de l'azote liquide et analyser les résidus des pesticides par chromatographie en phase gazeuse. Crommentuijn *et al* (1993), ont adopté, lors d'une étude de bioaccumulation de cadmium chez *Folsomia candida*, la technique mise au point par Van Straalen & Van Wensen (1986), qui consiste à lyophiliser l'animal et analyser les résidus par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Selon Janssen *et al* (1991), l'étude de l'ingestion et de l'excrétion du cadmium par certaines espèces serait une bonne méthode pour prédire les taux de polluants dans les invertébrés du sol et calculer les flux de ces polluants.

Toujours à propos des phénomènes de bioaccumulation chez les microarthropodes, Van Straalen (1993) signale qu'il n'existe pas, chez un organisme, de relation entre la bioconcentration potentielle d'un polluant et la disposition à l'intoxication métallique.

## B- LES LOMBRICIENS ET LES ISOPODES

Pour les lombriciens, plusieurs synthèses ont été réalisées (Edwards & Lofty, 1977 ; Cluzeau, 1985 ; Abdul Rida, 1992)

Chez les lombriciens et les isopodes, les teneurs en métaux *in vivo* varient selon des critères propres aux organismes et/ou au métal.

Concernant les organismes, des différences de concentrations ont été observés :

- entre espèces de même taxon (Vers de terre : Ireland, 1979 ; Ash & Lee, 1980 ; Terhivuo *et al*, 1994) (Isopodes : Williamson, 1979 ; Joosse & Van Vliet, 1984 ; Hopkin *et al*, 1985)
- entre individus de même espèce mais de maturité différente (Vers de terre : Carter *et al*, 1980) (Isopodes : Hopkin & Martin 1982)
- suivant la saison (Vers de terre : Ireland & Wooton, 1976 ; Andersen, 1980) (Isopodes : Wieser *et al*, 1977).

Quant au métal, sa bioaccumulation varie selon :

- l'élément (Isopodes : Hopkin *et al*, 1986)
- sa concentration dans le milieu (Gish & Christensen, 1973)
- les conditions physico-chimique du sol pour les vers de terre (Ma, 1982)

Exemple d'étude : L'accumulation du plomb par différentes catégories écologiques de vers de terre au voisinage d'une fonderie. Terhivuo *et al* (1994) ont recherché l'impact d'un sol fortement pollué par le plomb sur des espèces écologiquement différentes (épigées et endogées) composant la communauté lombricienne proche d'une fonderie de plomb en Finlande du sud.

Seize échantillons sur une surface de 25x50 cm chacun ont été prélevés aux abords d'une fonderie et le long de deux transects s'en écartant. Les vers ont été extraits à la main des blocs de sol prélevés. Ils ont ensuite été identifiés, comptés et pesés au laboratoire. De plus, huit prélèvements témoins identiques aux précédents ont été faits dans un sol similaire mais éloigné de 25 km de la fonderie.

Le pH et la concentration en plomb ont été mesurés en surface (3 cm) et en profondeur (10 cm) de chaque échantillon de sol. Pour le sol et les vers de terre, les teneurs en plomb ont été mesurées par un spectrophotomètre d'absorption atomique et exprimées en mg de plomb par kg de poids sec de sol ou de ver.

Les concentrations en plomb du sol diminuent rapidement sur une distance de 200 m depuis la cheminée de la fonderie. A proximité, les concentrations sont plus fortes en surface mais le plomb a été transféré plus uniformément en profondeur dans les échantillons en raison des activités agricoles.

Dans les blocs de sol fortement pollués par le plomb, la concentration en plomb et les facteurs de concentration des vers de terre diffèrent significativement ; les teneurs sont plus élevées chez *Aporrectodea caliginosa* (endogé) que chez *Lumbricus rubellus* et *L. castaneus*. Ces différences s'effacent dans les prélèvements témoins (tableau n° 3). Les auteurs concluent qu'une espèce endogée telle que *A. caliginosa* est plus appropriée pour un suivi biologique du plomb. Néanmoins, ils soulignent l'importance de l'exposition préalable des organismes aux métaux dans leur capacité d'accumuler.

espèces	Tikkurila			Pörnainen			Mann - Whitney
	m±SD	n	médiane	m±SD	n	médiane	
[ ] Pb dans les vers							
<i>A. caliginosa</i>	1058.0±480.4	10	904.5	61.7±42.7	7	50.0	***
<i>L. rubellus</i>	133.6±116.5	9	129.1	56.2±36.7	5	61.1	ns
<i>L. castaneus</i>	75.6±109.4	6	11.9	88.3±59.8	3	97.2	ns
Kruskall-Wallis entre espèces		***			***		
facteur de concentration							
<i>A. caliginosa</i>	0.98±0.38	10	0.92	3.8±3.1	7	3.1	▼
<i>L. rubellus</i>	0.07±0.05	9	0.08	3.2±2.1	5	3.8	0
<i>L. castaneus</i>	0.05±0.06	6	0.01	5.3±5.0	3	4.3	*
Kruskall-Wallis entre espèces		***			***		

tableau n° 3 : Taux de concentration du plomb dans les vers ( $\text{mg.kg}^{-1}$  de poids sec) et facteur de concentration (= rapport de la concentration de Pb dans les vers sur celle du sol) pour les trois espèces lombriciennes abondantes à Tikkurila (sol fortement pollué par le plomb) et de Pörnainen (site de contrôle) (Terhivuo *et al*, 1994)

### C- LES GASTEROPODES

Les gastéropodes terrestres (escargots et limaces) présentent un important pouvoir bioaccumulateur de métaux. Après dessiccation des tissus et minéralisation acide, les métaux sont analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique. Des concentrations élevées de plomb, cuivre, cadmium et zinc ont ainsi été détectées dans les tissus des escargots (Coughtrey & Martin, 1976) ou des limaces (Greville & Morgan, 1989) prélevés sur des sols contaminés au voisinage de mines ou de fonderies. Des contaminations expérimentales de nourriture (laitue) ont permis de montrer que, pour une même espèce (*Helix pomatia* par exemple), l'accumulation et le stockage des métaux sont variables suivant les organes (hépatopancréas, rein ou pied) et les métaux considérés (Dallinger & Wieser, 1984). La bioaccumulation peut également varier considérablement pour des espèces très voisines, ce qui a conduit Dallinger (1993) à distinguer des macroconcentrateurs (facteur de concentration  $> 2$ ) et des microconcentrateurs (facteur de concentration: 1 - 2). Par exemple, *Helix pomatia* est

macroconcentrateur pour Cd et Zn et microconcentrateur pour Pb tandis que *Helix aspersa* est macroconcentrateur pour Cd et microconcentrateur pour Zn

Les gastéropodes survivent bien sur des sites contaminés en métaux; ainsi, *Helix pomatia* est considéré comme l'un des concentrateurs les plus efficaces de métaux traces des habitats terrestres pollués (Dallinger *et al.*, 1993). Cette résistance résulte de la capacité que présentent ces invertébrés terrestres de retenir et d'inactiver les métaux toxiques soit par compartimentation intracellulaire (granules de séquestration, vésicules...) et excrétion, soit par liaison avec des protéines dont les métallothionéines qui se lient fortement aux métaux (principalement le cadmium) et permettent leur stockage pendant de longues périodes. Parmi les organes des gastéropodes terrestres, c'est surtout au niveau de la glande digestive que l'on trouve les plus fortes concentrations en cadmium et en zinc, mais ces métaux présentent une répartition subcellulaire différente puisque chez *Helix pomatia* la plus grande partie du zinc est localisée dans des granules de pyrophosphate des cellules à calcium de la glande digestive, tandis que le cadmium se lie à une métallothionéine spécifique du cytosol (Dallinger *et al.*, 1993).

Parmi la faune du sol, les escargots et les limaces sont des indicateurs de contamination importants et ils ont fait l'objet de nombreux travaux (tableau n° 4); la synthèse bibliographique des "charges métalliques" déterminées chez différentes espèces de gastéropodes terrestres provenant de milieux variés a conduit Berger & Dallinger (1993) à distinguer 3 niveaux (classes 1 à 3) de pollution. Afin d'apprécier la "qualité" des escargots consommés par l'homme, la détermination des teneurs en métaux (Cu, Zn, Pb) de différentes espèces d'escargots soit sauvages, soit d'élevage, a également amené Pihan *et al* (1994) à proposer des classes en fonction de la charge en métaux et à amorcer une étude des relations entre la concentration de ces métaux dans les tissus d'escargots et celle des aliments consommés.

Les gastéropodes terrestres permettent aussi de suivre le transfert des métaux dans les écosystèmes par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire (Beeby, 1985). Le problème du rôle des gastéropodes dans la biomagnification des métaux dans la chaîne alimentaire a été évoqué par Williamson (1980) et Dallinger (1993). A ce sujet, les gastéropodes sont sans doute à prendre en compte au même titre que les vers de terre pour les concentrations élevées qui ont pu être observées chez les petits mammifères prédateurs de ces deux groupes (Ma *et al*, 1991)

Les capacités de bioaccumulation des pesticides par les gastéropodes terrestres ont été peu étudiées jusqu'à présent ; les travaux de Schuytema *et al* (1994) montrent que les concentrations de deux pesticides (atrazine et azinphosmethyl) dans les tissus d'escargots après deux semaines d'exposition par la voie alimentaire ne révèlent pas de bioaccumulation.

Enfin, malgré la littérature importante sur la capacité des gastéropodes terrestres à refléter la contamination de leur milieu de vie, il existe encore très peu de tests standards pour mesurer

l'accumulation des toxiques chez ces organismes. Il y a donc besoin de développer des méthodes pour ces mesures indispensables selon Phillips (1993) pour étayer les efforts qui sont fait par ailleurs pour protéger les ressources naturelles contre les effets des polluants.

	Polluant	Source de contamination	Espèce	Durée du test	Paramètres
Meineke & Schaller, 1974	Fe, Pb, Zn		<i>H. pomatia</i>	4 semaines, Août-Sept 71	effet température sur teneur en Fe, Pb, Zn dans différents organes
Coughtrey & Martin, 1976	Cd, Cu, Pb, Zn	sites contaminés ou non	<i>H. aspersa</i>	escargots de la nature, Sept. 75	concentration des métaux dans les organes
Williamson, 1980	Cd, Pb, Zn	bord de route	<i>Cepaea hortensis</i>	Juill.-Sept. 75	
Dallinger & Wieser, 1984	Cd, Cu, Pb, Zn	nourriture (laituc) contaminée	<i>H. pomatia</i>	30 - 35 jours (Mars 1981)	bioaccumulation distribution cellulaire et moléculaire des métaux
Beeby, 1985	Pb	gels d'Agar + Pb ou +Pb et Ca	<i>H. aspersa</i>	4 semaines	Bioaccumulation assimilation et excrétion Pb
Greville & Morgan, 1989	Ca, Cd, Cu, Pb, Zn,	mine désaffectée Pb/Zn	6 espèces de limaces	limaces de la nature, Sept. 86	concentration en métaux des tissus
Dallinger, 1993	divers	diverses	gastéropodes + invertébrés terrestres	variable	contamination compartimentation cellulaire détoxification
Dallinger <i>et al.</i> , 1993	Cd, Zn	plaques d'Agar avec Cd et Zn	<i>H. pomatia</i>	30 jours	distribution subcellulaire dans la glande digestive
Bergor & Dallinger, 1993	Cd, Cu, Pb, Zn	sites urbains	<i>Arianta arbustorum</i> et comparaison interspécifique	prélèvements saisonniers	concentration des métaux des tissus (+ influence de la taille des individus)
Pihan <i>et al.</i> , 1994	Cu, Zn	naturelles et par l'alimentation	<i>H. aspersa aspersa</i> et <i>H. aspersa maxima</i> <i>H. pomatia</i>	escargots adultes nature et élevage	concentration des métaux des tissus facteurs de bioaccumulation et de pollution

tableau n° 4: Les gastéropodes pulmonés terrestres comme indicateurs de contamination.

## II- LES INDICATEURS BIOLOGIQUES D'EFFETS

---

Pour relier la toxicité d'un polluant à des effets écologiques, on a recours aux informations apportées par la réponse biologique des organismes au polluant. Plusieurs niveaux biologiques existent en partant de la molécule jusqu'à la communauté et confèrent aux réponses une pertinence toxicologique ou écologique

Parmi les indicateurs biologiques (apportant une réponse à l'exposition d'un polluant), deux ensembles se distinguent :

- les indicateurs toxicologiques (organismes, cellules, molécules). Une relation étroite existe entre l'intoxication et la réponse observée. Les informations constituent une aide à la compréhension de phénomènes se déroulant au niveau supérieur mais ont peu de signification écologique. Ces indicateurs sont assimilés à des "systèmes d'alarme précoce d'une contamination dont les effets peuvent être réversibles" (Echaubard, 1995).
- les indicateurs écologiques. La description de la structure des populations, communautés ou peuplements par des techniques propres à l'écologie soulignent les modifications s'étant produites mais n'informent pas sur les causes des perturbations.

Les types d'approches se différencient par une approche expérimentale au laboratoire pour les premiers et une approche semi-expérimentale à descriptive sur le terrain pour les seconds (Cluzeau *et al*, 1992). Par rapport au laboratoire, les expériences de terrain ont le désavantage d'être consommatrices de temps, de main d'œuvre, d'argent et de place. En contrepartie, leur atout réside dans leur significativité écologique. Ces deux types d'indicateurs biologiques sont considérés comme complémentaires. (Lafaurie, 1991)

### A- LES INDICATEURS TOXICOLOGIQUES

Peu de travaux sur les invertébrés du sol concernent les niveaux autres que celui de l'organisme. Dans un premier paragraphe, nous avons abordé les études réalisées sur la mortalité, la reproduction et la croissance au travers de tests dits létaux dans le premier cas ou sublétaux pour les deux suivants. Dans un deuxième paragraphe, nous avons présenté des paramètres « secondaires » mais utilisés aussi en toxicologie.

## 1- Mortalité / reproduction / croissance

Pour juger l'impact d'un polluant, le premier descripteur s'imposant d'emblée est la toxicité aiguë d'un polluant. Au contact de xénobiotiques, la mortalité dans une population se calcule facilement et constitue une réponse rigoureuse. Cette toxicité aiguë est exprimée par une dose ou concentration qui entraîne la mort de 50% des individus testés. La dose létale ou DL50, exprimée en mg/kg de poids corporel, est relative à l'animal. La CL50 indique elle une concentration létale exprimée en mg/kg de substrat. Pour la faune du sol, il semble donc plus sensé de parler de CL50. Parfois, il est mentionné le terme de NOEC ("no observed effect concentration") lors des tests de létalité. Comme les effets peuvent être bénéfiques ou néfastes, on trouve également l'indice NOEAC (no observed adverse effect concentration) utilisé pour les effets contraires.

Dans les études sur les effets sublétaux, il est calculé généralement la CE50 ou concentration efficace sur un processus biologique dont elle provoque 50% d'inhibition ou de diminution (Ramade, 1992). La LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) est également utilisée et est la plus faible concentration donnant une différence significative du paramètre étudié par rapport au témoin. On peut aussi trouver la LOAEC (lowest observed adverse effect concentration), utilisée lorsqu'il y a un effet contraire.

Toutefois, les NOEC et LOEC ne sont pas toujours considérés comme de bons critères car il faut effectuer des gammes importantes de concentrations pour obtenir une valeur assez correcte. La CL50 et CE50 sont mieux appréciées.

### 1.1- Les tests

#### a- Les enchytréides

	polluant	source de contamination	espèce	duree du test	paramètres
Weistheide <i>et al</i> (1991) in Van Straalen & Van Gestel (1993)	benomyl	gélose contaminée	<i>Enchytraeus crypticus</i> <i>Enchytraeus minimus</i>	30 jours	nbre de cocons juvéniles éclos
Römbke <i>et al</i> (1994)	parathion amitrole diuron	substrat	<i>Enchytraeus albidus</i>	8 semaines	LC 50 sur cocons
Christensen & Jensen (1995)	diméthoate pirimicarb fenpropirimorph	aliments (flocons d'avoine)	<i>Enchytraeus bigeminus</i>		LC 50 croissance

tableau n° 5 . Liste non exhaustive des études concernant les enchytréides

On calcule généralement le nombre de cocons produits (Weistheide *et al*, 1991 in Van Straalen & Van Gestel, 1993), ainsi que la viabilité de ces cocons (Römbke *et al*, 1994) Le nombre de juvéniles éclos est également souvent évalué (Weistheide *et al*, 1991 in Van Straalen & Van Gestel, 1993).

Pour évaluer la croissance, Christensen & Jensen (1995) ont mesuré la formation de nouveaux segments, pendant la phase de croissance de *Enchytraeus bigeminus*. Pour cela, une reproduction exclusivement asexuée a été provoquée, en cultures denses, sur sable humide. Puis, les animaux sont transférés dans des boîtes de pétri, où le test est effectué (ajout de pesticides à l'eau et des flocons d'avoine). Au bout de 7 jours, la croissance des organismes survivants est mesurée. Le test s'est avéré concluant : il présente l'avantage d'être de courte durée et facile à mettre en oeuvre.

Toutefois c'est *Cognettia sphagnetorum* qui semble avoir été sélectionnée comme espèce test (Rundgren & Augustsson, 1994).

Christensen & Jensen (1995) ont évalué sur *Enchytraeus bigeminus* la LC 50 pour différents pesticides (diméthoate, pirimicarb, fenpropimorph). Les animaux sont nourris avec de la farine d'avoine contaminée.

#### b- Les vers de terre

	polluant	source de contamination	espèce	duree du test	paramètres
Heimbach (1984)	19 polluants fongicides et insecticides en majorité	- contact (papier filtre) - sol artificiel - Artisol	- <i>Eisenia fetida</i>	- 48 h  - 14 jours - 14 jours	LC50
Pizl (1988)	5 herbicides	- contact (papier filtre) - sol brun	- <i>Eisenia fetida</i> - <i>Aporrectodea caliginosa</i> - <i>Lumbricus rubellus</i> - <i>Oecolaium lacteum</i>	- 48 h  - 7 jours	- LC50 - croissance (poids)
Neuhauser <i>et al</i> (1985)	Cd, Cu, Ni, Pb et Zn	- contact (papier filtre) - sol artificiel	- <i>Eisenia fetida</i>	- 48 h  - 14 jours	LC50
Neuhauser <i>et al</i> (1986)	10 produits chimiques organiques	- contact (papier filtre) - sol artificiel	- <i>Eisenia fetida</i> - <i>Allolobophora nuberculata</i> - <i>Eudrilus eugeniae</i> - <i>Perionyx excavatus</i>	- 48 h  - 14 jours	LC50

Kula & Kotta (1992)	- parathion - propoxur	- sol artificiel	- <i>Eisenia fetida</i> - <i>Aporrectodea caliginosa</i> - <i>Aporrectodea longa</i> - <i>Allolobophora chlorotica</i>	- 14 jours  - 6 à 8 semaines	- LCSO  <i>E. fetida</i> - croissance (poids) - reproduction
Springett & Gray (1992)	- captan - glyphosate - azinphos-methyl	- pulvérisation sur un mélange sol /aliment	- <i>Aporrectodea caliginosa</i> (immature de 220 mg)	100 jours	croissance (poids)
Reinecke & Venter (1985) Venter & Reinecke (1988)	- dieldrin	- milieu de culture organique	- <i>Eisenia fetida</i> (juste éclos)	90 jours	- croissance - maturité sexuelle - reproduction
Lofs-Holmin (1980)	- TCA - benomyl	- sol minéral avec du fumier	- <i>Aporrectodea caliginosa</i> - <i>Allolobophora chlorotica</i> - <i>Allolobophora rosea</i> - <i>Lumbricus terrestris</i> (juvéniles)	90 jours	- croissance (poids)  - maturité sexuelle
Lofs-Holmin (1982)	- benomyl	- sol minéral avec du fumier	- <i>Aporrectodea caliginosa</i>	- 26 jours	reproduction
Neuhauser & Callahan (1990)	10 polluants	- fumier de cheval + sable	- <i>Eisenia fetida</i> (juvéniles)	- 4 à 6 semaines	- croissance - reproduction
Van Gestel <i>et al</i> (1989)	-Cu, -pentachlorophenol, -2,4-dichloroaniline	- sol artificiel	- <i>Eisenia fetida</i> (adultes, cocons)	3 semaines + 5 semaines	- croissance - reproduction
Van Gestel <i>et al</i> (1992)	Cd, Cr 1 insecticide 4 fongicides 2 herbicides	- sol artificiel	- <i>Eisenia fetida</i> (adultes, cocons)	- 14 jours - 3 semaines + 5 semaines	- LCSO - croissance - reproduction
Bouché & Qiu (1996)	sols et déchets	- Arisol	- <i>Eisenia fetida</i>	- 14 jours	seuil de non-toxicité observée
Cluzeau <i>et al</i> (1990)	2 insecticides 4 fongicides 2 herbicides	sable + sol organo-limoneux + foin	- <i>Lumbricus terrestris</i>	- 16 à 20 semaines	- survie - croissance - maturité sexuelle - reproduction

tableau n° 6 : Exemples de travaux évaluant la mortalité, la reproduction et la croissance chez les vers de terre.

### b.1- Les tests létaux

Pour les lombriciens, une standardisation des tests de toxicité aigüe a été développée et réalisée, dès 1980, sous couvert de la CEE par plusieurs laboratoires européens (Edwards, 1983 ; OCDE, 1984). Les recommandations portent, entre autres, sur l'utilisation :

- d'un sol de test soit l'Artisol (Ferrière *et al*, 1981 ; AFNOR, 1984) qui évite une interférence du substrat avec le polluant soit le sol artificiel (Edwards, 1983 ; OCDE, 1984).
- d'adultes d'une espèce ayant un cycle de développement rapide et un taux de reproduction élevé permettant un élevage accessible à partir d'une souche standardisée.

Le ver *Eisenia fetida* est souvent utilisé comme espèce-test (Edwards, 1983 ; OCDE, 1984 ; Greig-Smith, 1992). Cependant, *Eisenia fetida* est reconnue comme hétérogène voire multi-spécifique ; ainsi le terme de complexe *Eisenia fetida* est employé. Dans ce complexe, *Eisenia andrei* est une espèce relativement homogène (Bouché, 1992) et est généralement utilisée. Les autres espèces utilisables sont *Lumbricus terrestris* et *Aporrectodea caliginosa* en raison de leur représentativité au sein de la faune lombricienne dans les zones à risques mais aussi de leur comportement anécique ou endogé qui les expose différemment aux produits (Boström & Lofs-Holmin, 1982 ; Edwards, 1983). La difficulté de leur élevage a joué en leur défaveur dans le choix de l'espèce-test malgré une meilleure sensibilité (Stenersen, 1979 ; Dean-Ross, 1983 ; Haque & Ebing, 1983 ; Heimbach, 1984 ; Edwards & Coulson, 1992).

Les polluants couramment testés sont des substances chimiques connues. Dans le cas de sols pollués et de déchets, Bouché & Qiu (1996) ont dû revoir la conception des tests vis à vis des normes par rapport au contenant, à l'espèce et au mélange testé.

### b.2- Les tests sublétaux

Les vers de terre déposent dans le milieu des cocons dans lesquels un ou plusieurs oeufs peuvent se développer. Plusieurs travaux mettent en évidence les effets réducteurs de polluants sur la production de cocons des vers de terre (Van Rhee 1969, 1972, 1975 et 1977 ; Lofs-Holmin (1982) ; Cluzeau *et al*, 1990 ; Reinecke & Venter, 1985 ; Venter & Reinecke, 1988 ; Neuhauser & Collahan, 1990 ; Van Gestel *et al*, 1989).

Van Gestel *et al* (1989) ont proposé un test de toxicité fondé sur la production de cocons à partir des recommandations faites en toxicité aigüe (Le complexe *Eisenia fetida* - sol artificiel)

Cette proposition de test semble une bonne base que les auteurs ont d'ailleurs essayée avec plusieurs pesticides (Van Gestel *et al*, 1992) mais elle nécessiterait un développement avec d'autres espèces comme *A. caliginosa* ou *L. terrestris* pour établir des comparaisons spécifiques à l'exemple des tests de létalité.

Les troubles de l'incubation et du taux d'éclosion dus à des polluants peuvent survenir suite à une exposition soit des cocons et de leurs parents, soit des parents uniquement, soit des cocons. La plupart des travaux traitent la première possibilité qui regroupe cocons et parents avec des proportions temporelles très variables (Bengtsson *et al*, 1986 ; Venter & Reinecke, 1988 ; Van Gestel *et al*, 1988, 1989 ; Cluzeau *et al*, 1990)

Très souvent, le taux de croissance des vers de terre est couplé avec le développement des caractères sexuels secondaires (Lofs-Holmin, 1980 ; Springett & Gray, 1992 ; Reinecke & Venter, 1985 ; Venter & Reinecke, 1988). Cette maturation peut, elle-aussi, être perturbée.

L'effet sublétal se traduit soit par un retard observé chez *A. caliginosa* et *E. fetida* (Lofs-Holmin, 1980 ; Venter & Reinecke, 1988 ; Springett & Gray, 1992), soit une régression à l'exemple de *L. terrestris* exposé au mancozèbe et au carbendazime (Cluzeau *et al*, 1990).

Pour Kokta (1992), le taux de croissance des juvéniles n'est pas une des variables les plus faciles à mesurer pour mettre en évidence une intoxication mais cela peut apporter des précisions concernant la démographie de populations en zone à risques. Les études se heurtent à plusieurs difficultés. La première est la durée de l'expérience qui dépend de celle de la croissance. Pour les espèces à cycle long, la mortalité occasionnelle est un risque supplémentaire pour la validité des résultats.

Pour contourner le problème temporel, la période analysée est réduite mais les durées avoisinent les 100 jours. Dans la plupart des expériences, les juvéniles sont exposés au produit pendant toute leur croissance. Cependant, le problème du devenir du polluant n'est pas posé. Les substrats ne sont pas renouvelés et la concentration du polluant est sujet à variation. De plus, sa dégradation éventuelle engendre d'autres produits. Un autre point concerne le substrat lui-même. La plupart des auteurs ont choisi un substrat naturel favorisant la croissance mais pouvant interagir avec les produits à l'inverse d'un substrat artificiel qui ralentirait le temps de croissance.

Néanmoins, les différents auteurs s'accordent sur l'importance de la croissance des juvéniles et le développement de la maturité sur le potentiel reproducteur d'une population. Des déficiences au niveau de ces caractéristiques, effets sublétaux, ont des conséquences à long terme sur la population en la menaçant d'extinction.

c- Les gastéropodes

Auteurs	Polluant	Sources de contamination	Espèces	Durée du test	Paramètres
Russel <i>et al.</i> 1981	Cd	aliment rats + CaCO <sub>3</sub> et CdCl <sub>2</sub>	<i>H. aspersa</i>	30 jours	croissance reproduction
Schuytema <i>et al.</i> 1994	12 pesticides	aliment rats + pesticides dans plaques d'Agar	<i>H. aspersa</i>	10 et 14 jours	léthalité LC 50 croissance EC50
Gomot & Gomot 1996	Cd  Cd, Cr, Cu, Zn	aliment escargots + Cd Cl <sub>2</sub> aliment escargots + sol contaminé	<i>Helix aspersa</i> <i>H. aspersa</i> <i>maxima</i>	2 à 4 semaines	croissance (EC 50, EC 75...)

tableau n° 7: Exemples de travaux traitant de la mortalité, de la croissance et de la reproduction chez les gastéropodes terrestres

Peu de recherches ont été réalisées sur les effets toxiques des métaux ou des polluants organiques. Pourtant un essai expérimental d'étude de la toxicité du cadmium avait été effectué chez des escargots (*Helix aspersa*) âgés de 4 mois et élevés en boîte de polyéthylène avec une nourriture pour rats supplémentée avec du carbonate de calcium contaminé par des doses croissantes de chlorure de cadmium, de 10 à 100 ppm (Russel *et al.*, 1981). Cette expérience montre que le cadmium ne provoque pas de mortalité significative même aux fortes doses mais que la croissance, la reproduction et le comportement des animaux sont perturbés. Des modifications histopathologiques sont également observées dans la plupart des tissus (intestin, glande digestive, rein, ovotestis).

Ayant acquis la maîtrise complète du cycle biologique des escargots, Gomot & Gomot (1996) ont établi une méthodologie rationnelle afin de disposer d'un test de croissance standardisable pour évaluer les effets de polluants. Les organismes tests retenus sont deux sous-espèces d'escargots (*Helix aspersa aspersa*: le petit gris et *Helix aspersa maxima*: le gros gris). Le métal qui sert de référence est le cadmium. Ce métal induit une inhibition de la croissance proportionnelle à la dose et les effets sont appréciables en 2 à 4 semaines chez des escargots traités à l'âge de 1 mois (pesant environ 1 g) nourris avec un aliment spécial pour escargots (Helixal ®) contaminé par du chlorure de cadmium. Les effets sur la croissance du cuivre, du plomb et du zinc sont en cours d'étude, de même que les répercussions d'une exposition à ces métaux sur la reproduction.

La mise au point de ces tests permet dès à présent de mettre en oeuvre l'étude du pouvoir toxique de nouvelles substances à usage pharmacologique par exemple; elle est aussi applicable à des fins écotoxicologiques car elle permet d'évaluer soit en laboratoire, soit *in situ* les risques écologiques de sols ou de matrices contaminés.

Considérant le rôle important des mollusques dans les biocénoses forestières, Schuyttema *et al* (1994) ont comparé les effets de 12 pesticides employés en forêt sur la mortalité, la croissance et le stress de jeunes *Helix aspersa* âgés de 6 à 8 semaines. Suivant les pesticides considérés, ils ont pu distinguer des effets létaux et sublétaux. La voie est ouverte à de nouveaux essais à l'aide d'animaux « standardisés »

d- Les acariens\* et les collembolés\*\*

	polluant	source de contamination	espèce	durée du test	paramètres
<b>MICROCOSME</b>					
Bengtsson <i>et al</i> (1985)	Pb., Cu.	aliment (champignons)	- <i>Onychiurus armatus</i> *	40 semaines	mortalité reproduction
Van Straalen <i>et al</i> (1989)	Cd.	aliment (algue verte)	- <i>Platynothrus peltifer</i> * - <i>Orchesella cincta</i> **	84 jours	mortalité LC50, NOEC
Badejo & Van Straalen (1992)	atrazine	aliment (algue verte)	- <i>Orchesella cincta</i> **	42 jours	croissance reproduction
Posthuma <i>et al</i> (1993)	Cd.	aliment (algue verte)	- <i>Orchesella cincta</i> **	42 jours	mortalité LC50
Crommentuijn <i>et al</i> (1993)	Cd.	substrat	- <i>Folsomia candida</i> **	9 semaines	mortalité LC50, ECS0
Tranvik <i>et al</i> (1993)	Cu., Zn., Pb.	aliment (Champignons)	- <i>Onychiurus armatus</i> ** - <i>Isotoma notabilis</i> **	6 mois	survie
Krogh (1994 & 1995)	diméthoate pirimicarb fenpropimorph	substrat	- <i>Hypoaspis aculeifer</i> *	41 à 48 jours	reproduction EC50, LOEC, LOAEC, NOEC
Krogh & Petersen (1995)	diméthoate pirimicarb fenpropimorph	substrat	- <i>Folsomia candida</i> ** - <i>Folsomia fimetaria</i> **	33 jours	EC 10 EC 50 NOEC NOAEC LOAEC
Houx <i>et al</i> (1996)	parathion carbofuran diméthoate oxamyl	milieu aqueux	- <i>Folsomia candida</i> **	96 heures	EC 50
<b>MESOCOSME</b>					
Petersen & Gjelstrup (1995)	diméthoate pirimicarb fenpropimorph	substrat	- <i>Isotoma notabilis</i> ** - <i>Folsomia fimetaria</i> ** - <i>Hypoaspis aculeifer</i> *	10 semaines	EC 50

tableau n° 8 : Exemples de tests entrepris pour évaluer la mortalité et la reproduction chez les microarthropodes

#### d 1- Les tests létaux :

Parmi les acariens, l'oribate *Platynothrus peltifer* est l'espèce la plus couramment testée. L'élevage au laboratoire se fait sur un sable purifié et recouvert d'un morceau de papier filtre. (Van Straalen, Schobben & de Goede, 1989).

Plus récemment (Krogh, 1995), des tests en laboratoire ont été entrepris sur le Gamaside *Hypoaspis aculeifer*, prédateur de collemboles, notamment *Folsomia fimetaria* et *Folsomia candida*. Dans ce cas, les contaminants, deux pesticides (fenpropimorph et pirimicarb), sont ajoutés au substrat, de façon homogène ou hétérogène. Parallèlement, différents types de mésocosmes (situation intermédiaire entre le microcosme de laboratoire et l'étude au champ) ont été testés, sur ce même Gamaside (Petersen & Gjelstrup, 1995).

En ce qui concerne les collemboles plusieurs types de contamination ont été décrites :

- au travers de l'alimentation sur des champignons cultivés sur de l'agar contaminé (Bengtsson, Gunnarsson & Rundgren, 1983, 1985 ; Tranvik *et al*, 1993)
- par de la nourriture directement contaminée (Van Straalen, Schobben & de Goede, 1989 ; Badejo & Van Straalen, 1992 ; Posthuma *et al*, 1993).
- par une exposition directe au polluant par l'intermédiaire du substrat (B.B.A., 1990 in Van Straalen & Van Gestel, 1993 ; Krogh & Petersen, 1995 ; Petersen & Gjelstrup, 1995 ; Crommentuijn *et al* 1993).
- en milieu aqueux (Houx *et al*, 1996)
- par une exposition par voie aérienne : ce nouveau type de test, encore à l'étude, permettrait d'évaluer l'influence des composés volatiles sur les sols. Pour ce faire, l'organisme est mis en contact avec de l'air contaminé, dans une enceinte sur un substrat sain (Bispo, 1996)

L'espèce *Folsomia candida* est celle qui semble avoir été retenue par l'organisation internationale de standardisation, en vue de la normalisation de tests (Riepen, 1993)

#### d.2- Les tests sublétaux

Les oeufs des acariens et des collemboles sont dénombrables puisqu'ils sont pondus directement.

En ce qui concerne les acariens, les tests de toxicité vis à vis de la reproduction en terme de production d'oeufs ont souvent été jugés laborieux (Van Straalen & Van Gestel, 1993), à cause de la difficulté de trouver les oeufs et de la trop longue durée d'expérimentation

Krogh (1994) a étudié la production d'oeufs du Gamaside *Hypoaspis aculeifer* sous l'effet de divers pesticides (diméthoate, pirimicarb, fenpropimorph) : seul le diméthoate semblait avoir

un effet sur la production d'oeufs. De plus, parfois à faibles concentrations, ce pesticide paraissait stimuler la reproduction. En effet, en conditions de stress l'acarien aurait tendance à augmenter sa reproduction ; de plus ses proies potentielles ont pu être affectées par le pesticide, les rendant ainsi plus vulnérables et donc plus accessibles. C'est pourquoi l'indice LOAEC a été introduit

D'après Krogh & Petersen (1995), la reproduction est un paramètre qui fournit des informations plus fiables que la mortalité. En effet, la reproduction semble être une mesure plus sensible que la mortalité. Le calcul de la reproduction chez les collemboles peut-être obtenu, selon les cas, en évaluant le nombre d'oeufs ou le nombre de juvéniles éclos. Généralement, les deux sont calculés. Toutefois, le test actuel au stade de prénormalisation porte sur le paramètre nombre de juvéniles avec deux modèles principaux : *Folsomia candida* et *Isotoma viridis* (Jepson *et al*, 1994)

Généralement, la couleur des oeufs renseigne sur le degré de maturation de ces derniers (Posthuma *et al*, 1993). Le taux d'éclosion peut alors être mesuré. Souvent, on calcule également le nombre de mâles et de femelles écloses (Posthuma *et al*, 1993, Crommentuijn *et al*, 1993).

Le calcul de la croissance des collemboles se fait soit par la pesée (Van Straalen, Schoeben & de Goede 1989 ; Bådejo & Van Straalen, 1992 ; Posthuma *et al*, 1993 ; Crommentuijn *et al*, 1993) soit par la biométrie (Bengtsson, Gunnarsson & Rundgren, 1983 ; Tranvik *et al*, 1993). Une standardisation est proposée avec *Isotoma viridis* (Jepson *et al*, 1994). Cependant, ce paramètre est très lourd à utiliser pour les collemboles car il implique de retirer les animaux un à un (taille parfois inférieure à 1 mm pour les jeunes) du sol artificiel grumeleux au moins une fois par semaine pendant 2 ou 3 mois et avec un minimum de perte. Il est de plus coûteux puisqu'il nécessite une caméra vidéo et un système d'analyse d'images pour les mesures.

#### e- Les isopodes

Les isopodes sont élevés sur du substrat en plâtre et alimentés avec des feuilles en partie décomposées auxquelles est ajouté le polluant testé. Certains expérimentateurs utilisent un sol artificiel et alimentent les organismes avec des pommes de terre ou des carottes (Fischer *et al*, 1994). Les trois espèces les plus fréquemment étudiées sont *Porcellio scaber*, *Oniscus asellus* et *Trichoniscus pusillus*. (Van Straalen & Van Gestel, 1993).

	polluant	source de contamination	espèce	durée du test	paramètres
Van Wensem <i>et al</i> (1991)	Triphenyltin Hydroxide	aliments (feuilles)	- <i>Porcellio scaber</i>	25 jours	NOEC
revue dans Van Straalen & Van Gestel (1993)		aliments (feuilles)	- <i>Porcellio scaber</i> - <i>Oniscus asellus</i> - <i>Trichoniscus pusillus</i>	25 jours	NOEC
Crommentuijn <i>et al</i> (1994)	Cd.	aliments (feuilles)	- <i>Oniscus asellus</i> - <i>Porcellio scaber</i>	91 jours 63 jours	LC 50 EC 50
Crommentuijn <i>et al</i> (1995a)	Cd.	aliments (feuilles)	- <i>Porcellio scaber</i>	63 jours 308 jours	LC 50 EC 10 SSI
Crouau (1996)	pentachlorophenol	substrat	- <i>Porcellio scaber</i>	4 à 5 semaines	LOEC

tableau n° 9 : Liste non exhaustive d'études concernant les isopodes

### 1.2- La standardisation des tests

La dernière des cinq règles d'un bon indicateur, la reproductibilité des réponses, exige le plus souvent une standardisation des tests. Néanmoins, elle n'est pas toujours effective pour les invertébrés du sol. Elle débute chez certains groupes zoologiques face à la multiplication des travaux sans comparaison possible la plupart du temps.

L'inconnu est le polluant et ses effets. En revanche, l'expérimentateur doit définir les caractéristiques standardisées de son test.

Au laboratoire, les caractéristiques à standardiser sont :

- l'espèce et son stade de développement,
- le mode de contamination et la méthode d'élevage
- la durée de l'expérimentation

Les mesures sont calculées suivant le paramètre recherché (survie, reproduction ...). Là aussi, une standardisation des indices à calculer serait nécessaire

a- Le tableau synthétique des tests standardisés ou proposés

	espèce	paramètre	source de contamination	durée du test	référence
Enchytréides	<i>Cognettia shagnictorum</i>	croissance reproduction	sol 70% sphaigne + 30% sol LUFA	10 semaines	Rundgren & Augustsson (1994)
Vers de terre	<i>Eisenia fetida</i>	survie	artisol sol artificiel	14 jours	Ferrière <i>et al</i> (1981) AFNOR (1984) OCDE (1984)
		reproduction	sol artificiel	4 + 5 semaines	Van Gestel <i>et al</i> (1989)
Gastéropodes	<i>Helix aspersa aspersa</i> <i>H. aspersa maxima</i>	croissance	alimentation	1 mois	Gomot & Gomot (1996)
Collemboles	<i>Folsomia candida</i>	reproduction	sol artificiel	4 semaines	Riepen (1993)
Acariens	<i>Platynothrus peltifer</i>	croissance reproduction	sol artificiel alimentation	2 à 10 semaines	Van Gestel & Doornekamp (1994)
	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	croissance reproduction	sol artificiel	3 semaines	Lokke <i>et al</i> (1994)
Isopodes	<i>Porcellio scaber</i>	croissance reproduction	alimentation	10 semaines 8 semaines	Fischer <i>et al</i> (1994)

tableau n° 10 . Tests normalisés ou proposition de tests standardisés

b- Remarques :

Trois types de substrats sont utilisés lors des tests .

1. un sol naturel
2. un sol artificiel (10% de tourbe broyée, 20% de kaolinite et 70 % de sable)
3. un substrat chimiquement inerte (silice, billes de verre ...)

Pour le premier type de substrat, la composition varie d'un sol à un autre. Les teneurs en argiles et matières organiques (réputés comme interagissant avec les polluants) auront un influence sur la réponse de l'organisme au polluant. Dans le deuxième cas, la composition proposée n'est pas assez précise en ce qui concerne la tourbe, le sable et le kaolinite. Ainsi, la reproductibilité des réponses est quasiment impossible avec ces deux substrats.

Le troisième type n'a plus cet inconvénient mais il s'agit de milieu artificiel où il ne se produit que l'interaction entre le polluant et l'organisme.

La nourriture pour les organismes du sol est de la matière organique. Comme pour les composants du substrat artificiel, l'apport de matière organique dans un sol lors d'un test ajoute un facteur de variabilité de la réponse de l'organisme au polluant car il y a une interaction entre ce dernier et la matière organique. Certains chercheurs préfèrent l'éviter. Ainsi les organismes vivant sur leurs réserves, la durée du test doit être la plus courte possible. Néanmoins, la majorité des tests sublétaux ne peuvent pas répondre à cette exigence durable. De plus, l'inanition ne provoque-t-elle pas une modification de la réponse de l'organisme au polluant ?

La composition de la nourriture est inconnue et très variable. Il serait donc à envisager la création de substance trophique (comme l'aliment standard donné aux escargots par Gomot & Gomot, 1986).

Des normes ou des lignes directrices de tests utilisant la faune du sol existent ou sont en cours pour l'homologation des substances chimiques. Elles ont été formulées par l'AFNOR, OCDE ou l'ISO<sup>1</sup>.

Dans le cas de la gestion environnementale, il est à voir si les mêmes normes sont valables pour les tests employés et dans quelle mesure.

Si l'on cherche à ce rapprocher des conditions naturelles, il faut donc travailler avec :

- des espèces représentatives,
- les élever sans perturber leurs conditions normales de vie (ex : ne pas court-circuiter les périodes de diapause)...

---

<sup>1</sup> AFNOR : Association Française de NORmalisation ; OECD ou OCDE : Organisation pour la Coopération et le Développement Economiques ; ISO : International Standards Organization

## 2- Autres paramètres

### 2.1- Le dysfonctionnement des processus biologiques du sol

Les processus biologiques du sol sont les fonctions accomplies par la faune du sol .

- la décomposition de la matière organique,
- la régulation partielle des activités microbiennes,
- le cycle des nutriments,
- la création et la conservation de la structure grumeleuse du sol.

Peu de travaux ont mis en relation la faune du sol et l'interruption de processus biologiques dans un sol contaminé (Bengtsson *et al*, 1988).

#### a- La décomposition de la matière organique

La perturbation de la décomposition de la matière organique a été étudiée au travers des effets sur les isopodes (Van Wensem *et al*, 1991), les microarthropodes et enchytréides (Bengtsson, Berden & Rundgren, 1988).

Les études citées précédemment ont été menées au moyen de microcosmes avec ou sans animaux. La litière est la source de contamination pour les isopodes alors que la colonne de sol reconstitué avec ses différentes couches est entièrement contaminée pour les microarthropodes et enchytraeides. La décomposition est évaluée au moyen du taux de respiration et/ou de lessivage de composés solubles.

L'utilisation des sacs de litière a été entreprise par de nombreux chercheurs. Cette technique consiste à introduire dans un sac en Nylon, de dimensions et de maille définies, une quantité précise de matériel végétal. La perte en masse, ainsi que le contenu en nutriments du matériel végétal peuvent ensuite être étudiés, en microcosmes ou au champs Edwards & Bohlen (1995) signalent de bons résultats grâce à cette méthode. Toutefois, Siedentop (1995) pense que cette méthode pose certains problèmes sur le terrain : il semblerait, en effet, qu'une agrégation de faune soit observée dans ces sacs, qui constitueraient alors des zones refuges. Une augmentation de dégradation de la litière est alors observée dans les sacs soumis au polluant (en l'occurrence, un insecticide, le dursban). Tingle (1995) observent une diminution de la perte en masse, si la maille est supérieure à 4 mm et si les sacs sont enterrés à 5 ou 6 cm de profondeur.

Les lombriciens assurent la fragmentation et l'incorporation dans le sol de la matière organique. L'effet des polluants sur les activités des lombriciens a souvent été observé indirectement avec l'accumulation de litière de feuilles dans les vergers lorsque ceux-ci ont reçu des pulvérisations (Cook & Swait, 1975)

Le nombre d'études sur les effets directs des polluants sur les activités des vers de terre est peu élevé. L'un des tests proposés pour l'étude de la sublétalité est le test de "l'entonnoir de Daniel" (Bieri *et al*, 1989). Ce test est destiné à une catégorie bien spécifique de lombriciens ; il s'agit des anéciques tels que ceux appartenant à l'espèce *L. terrestris*. Le système rempli avec de la terre est sensé simuler pour le ver une galerie unique (tube prolongeant l'entonnoir) débouchant sur une surface (partie évasée de l'entonnoir) où est déposée soit de la litière soit des appâts. Les variables comportementales relevées sont la disparition de litière ou d'appât et la position du ver dans la galerie.

#### b- La création et la conservation de la structure grumeleuse du sol.

Par leurs déjections, les lombriciens agissent sur la structure du sol. Ainsi, une réduction de la quantité de turricules de vers de terre à la surface du sol a été notée suite à un traitement soit par fongicide soit par DDT (Keogh & Whitehead, 1975 ; Cook *et al*, 1980). La réduction de population par mortalité est parfois la cause de ce phénomène, mais ces auteurs ont observé une stabilité du nombre de vers de terre malgré une diminution de turricules.

L'activité fouisseuse des vers intervient aussi sur la structure du sol. Au cours de nos travaux au laboratoire, nous avons quantifié l'activité fouisseuse de vers de terre épiendogés par la longueur de galeries et la profondeur de pénétration. Les vers de terre ont été exposés au polluant dans des colonnes artificielles de sol (microcosmes). L'aldicarbe (carbamate) mélangé au sol s'est avéré inhibiteur de l'activité fouisseuse des vers contrairement à son premier produit de dégradation (Texier, 1993). Nous avons aussi mis en évidence une correspondance entre le comportement et l'état hydrique des vers.

### 2.2- La perturbation de la vitesse de l'influx nerveux par les polluants

Les travaux de Drewes & McFall (1980), Drewes *et al* (1978, 1980 et 1983) sur le calcul de la vitesse de l'influx nerveux chez les vers de terre ont conduit naturellement à des études sur les effets neurotoxiques de polluants (Drewes & Vining, 1984 ; Drewes *et al*, 1984, 1987, 1988 ; Drewes & Lingamneri, 1992)

Drewes & Vining (1984) ont présenté les effets neurotoxiques *in vivo* du dieldrin sur les fibres nerveuses géantes chez *Eisema fetida*. Le premier effet neurotoxique est la décroissance de la vitesse de la conduction de l'influx nerveux.

Parallèlement, d'autres effets toxiques physiologiques et comportementaux surviennent comme une hypersensibilité des fibres géantes, une production spontanée de pics des fibres géantes, une diminution graduelle de l'amplitude du potentiel du muscle, des spasmes toniques entraînant un raccourcissement et une rigidité corporels, une ataxie et une diminution de poids.

La méthode de mesure électrophysiologique de la vitesse de l'influx nerveux développée par l'équipe de Drewes possède un arout très appréciable avec la possibilité de travailler *in vivo*,

c'est à dire sans sacrifier l'animal. La pertinence des résultats sur les effets neurotoxiques est bien établie. Néanmoins, Kobra (1992) reproche à cette technique son équipement onéreux et peut-être aussi un manque de valorisation sur le terrain.

### 2.3- Les biomarqueurs d'exposition

Les définitions des biomarqueur d'exposition sont parfois variables. Pour certains, les biomarqueurs d'exposition portent sur les mécanismes biochimiques et moléculaires, les principaux en cours de développement portent essentiellement sur :

- l'induction de protéines des systèmes de biotransformation (cytochrome P-450, enzymes de conjugaison), ou des protéines de réponse à des stress plus ou moins spécifiques (métallothionéines, catalase. .)
- des atteintes de cibles moléculaires spécifiques (acétylcholinestérase, ADN...).

D'autres englobent dans cette définition toutes les modifications physiologiques, biochimiques, cytologiques, immunologiques et moléculaires mesurables dans les systèmes biologiques en relation avec l'exposition directe ou indirecte aux toxiques.

Le dosage des adduits d'ADN (nucléotides des l'ADN modifiés) est un bon bioindicateur des doses efficaces des substances génotoxiques, susceptibles d'être cancérogènes (Dirheimer & Keith, 1995)

Suite aux travaux de Posthuma *et al* (1993), considérant l'évolution génétique de certaines espèces de collemboles (notamment *Orchesella cincta*) présentes sur des sites pollués en métaux lourds (augmentation de la capacité d'excrétion de ces métaux lourds), Tranvik *et al* (1994) ont proposé une méthode biochimique pour exprimer les différences génétiques observées chez les collemboles (*Orchesella bifasciata*) situés sur des sites contaminés.

Bien que des différences aient été constatées pour certains allèles, le test a été jugé insuffisant. En effet, une certaine homogénéisation des populations, due à de nombreux facteurs (vents, eaux, animaux) semble s'effectuer. Toutefois, il serait utile d'élargir ces travaux à d'autres espèces.

Walsh *et al* (1995) ont recherché chez les vers de terre des marqueurs de toxicité sensibles et précoces, indicateurs de pollution. Ils ont vérifié la faisabilité de la mesure des adduits d'ADN par le post-marquage au P<sup>32</sup> chez *Lumbricus terrestris* exposé à des sols plus ou moins pollués. La détermination des adduits d'ADN a été jugée concluante pour détecter la présence de substances génotoxiques dans les sols.

La recherche de biomarqueurs d'exposition est également en cours chez les gastéropodes : la quantification des métallothionéines métal-spécifiques représente un potentiel d'avenir pour évaluer les risques dus à la pollution chimique (Berger *et al*, 1995).

## B- LES INDICATEURS ECOLOGIQUES

Les données recueillies sur le terrain permettent de définir des indicateurs écologiques basés sur les peuplements. Au préalable, il faut définir le type d'étude, les variables à mesurer et choisir les méthodes de prélèvement de la faune.

### 1- Les types d'études

Le but de ces études de terrain est de mesurer l'influence de l'intensité de la pollution ou de corréler l'impact d'une pollution et l'organisation des communautés soumises au stress écotoxicologique. Il faut une comparaison dans les deux cas entre le site en cause et un témoin. Les procédures employées sont une comparaison :

1. des données d'un même site relevées avant et après la pollution ou
2. des données relevées dans des sites identiques soumis ou non à la pollution.

Lorsqu'on examine certaines synthèses sur les effets des polluants sur les populations de vers de terre au terrain (Edwards & Thompson, 1973 ; Edwards & Lofty, 1977 ; Lee, 1985), l'information majoritaire est fondée sur la toxicité létale des produits. En fait, cela illustre une difficulté d'estimer sérieusement la toxicité des différents polluants à cause d'une hétérogénéité des protocoles d'études. Dans leur rapport sur les effets des pesticides sur la faune du sol, Boström & Lofs-Holm (1982) ont relevé pour les divers articles analysés des différences et même des lacunes au niveau :

- des contrôles,
- des répliques,
- de la dose employée,
- de la description du sol (pH, MO, pF, texture...),
- des méthodes d'échantillonnage,
- et dans la durée d'expérimentation

Lors de l'atelier d'écotoxicologie de Sheffield, plusieurs propositions de standardisation des protocoles d'études de terrain ont été faites et concordent sur plusieurs points (Edwards, 1992 ; Lofs, 1992 ; Kula, 1992) (tableau n° 11).

La standardisation des études de terrain passe par une homogénéisation des paramètres les plus contrôlables (détermination du site, dimensions et nombre de parcelles unitaires, dates de traitement et doses employées, méthodes, nombre et dates d'échantillonnage, ...). Les paramètres non contrôlables doivent eux être relevés et reportés dans le rapport.

	Edwards (1992)	Loû (1992)	Kula (1992)
site	prairie, terre arable	***	prairie, terre arable, site agricole
description du sol	texture, mo, homogénéité	texture	au moins texture, mo, pH, pF
histoire	> 5 ans sans pesticides	***	***
paramètres supplémentaires			températures et pluviométries
densité populations espèces représentatives	> 100 ind/m <sup>2</sup> au moins les six espèces les plus communes	> 100 ind/m <sup>2</sup> une endogée et une anécique	> 100 ind/m <sup>2</sup> <i>Lumbricus terrestris</i> <i>Anorctodes caliginosa</i>
taille de la parcelle unitaire nombre de réplication	5 m <sup>2</sup> 10 m <sup>2</sup> > 4 par traitement	*** > 4 par traitement	> 10 m x 10 m > 4 par traitement
pesticide doses employées dates de traitement	utilisation d'un pesticide standard caractéristiques physico-chimiques et toxiques la plus forte dose recommandée en 1922, 1938, 1956 printemps	caractéristiques physico-chimiques et toxiques *** période d'activité des vers	caractéristiques physico-chimiques et toxiques *** printemps
critères estimés	abondance et biomasse	abondance et biomasse stades de développement	abondance biomasse avec réserve
méthodes d'échantillonnage et taille de l'échantillonnage	extraction manuelle (0,25-1 m <sup>2</sup> ) x 30-60cm extraction au formol (0,25-1 m <sup>2</sup> ) extraction mixte (0,25-1 m <sup>2</sup> ) x 5-10cm	extraction non destructive ***	extraction au formaldéhyde extraction électrique > 0,25 m <sup>2</sup>
nombre d'échantillonnages durée de l'échantillonnage	> 4 ***	*** 1 jour	> 2 ***
durée d'expérimentation et dates d'échantillonnage	> 6 mois - mensuellement > 2 ans pour pesticides rémanents (1, 2, 4, 8, 12 et 24 mois après le traitement)	> 4-6 mois	12 mois (1, 4, 6 et 12 mois après le traitement)

\*\*\* : caractéristique non précisée

tableau n° 11 : Synthèse des propositions de standardisation du protocole pour des études de terrain (Texier, 1993)

Pour les microarthropodes, une étude des fluctuations naturelles des populations *in situ* est d'abord nécessaire. Ces fluctuations sont dues à différentes causes :

- facteurs abiotiques habituels (climat, température, photopériode) : ainsi, Sgardellis *et al* (1993) ont établi la phénologie de différents groupes de microarthropodes pour trois climats différents (mousson, tempéré, méditerranéen). Ils ont mis en évidence, pour les mêmes groupes de microarthropodes, des réponses différentes suivant le type de milieu.
- facteurs biotiques (compétition inter et intra spécifique, cycles de vie propre à chaque espèce). Par exemple, en région méditerranéenne, différentes stratégies sont adoptées par les arthropodes du sol, et chaque espèce possède une phénologie qui lui est propre (Stamou *et al*, 1993)
- facteurs abiotiques exceptionnels (grand froid en hiver, sécheresse estivale).

Ces fluctuations naturelles rendent d'ailleurs difficile la standardisation des études de terrain.

Les populations d'escargots peuvent être utilisées comme indicateurs écologiques car elles constituent un maillon important des chaînes alimentaires (sol - végétation - prédateurs). Ainsi Graveland *et al*. (1994) ont observé en Hollande que l'abondance des populations naturelles d'escargots a diminué de 1970 à 1993 à cause de l'acidification des sols. Comme conséquence

de la diminution des escargots dont la coquille représente la principale source de calcium pour les passereaux (dont *Parus major*), les femelles de ces oiseaux pondent des oeufs à la coquille mince et poreuse. Ces oeufs se développent mal et les populations de mésanges (niveau trophique supérieur de l'écosystème) diminuent. Cet exemple montre l'intérêt de disposer d'inventaires réguliers et précis des différentes espèces de la faune du sol

Pour l'analyse des données, les tests statistiques les plus fréquemment employés sont :

a- univariés

- le test de Mann et Whitney (Filser *et al*, 1995) (comparaison de 2 sites)
- le test de Kruskal wallis (Filser, 1994) (test non-paramétrique ; comparaison de plusieurs sites)
- l'analyse de variance (test paramétrique ; comparaison de plusieurs sites)

b- multivariés

Plusieurs sites sont échantillonnés à des degrés divers de pollution ou non.

- Analyse factorielle des correspondances (variables qualitatives)
- Analyse en composantes principales ( Abdul Rida, 1992 ; Greenslade & Majer, 1993) (variables quantitatives)
- Analyse canonique des correspondances (Dekkers *et al*, 1994) (effet de variables explicatives)

Quant au choix des organismes indicateurs, selon Frampton (1994), un petit nombre devrait être utilisé, simultanément de préférence. En effet, l'utilisation d'une seule espèce risquerait de masquer les relations interspécifiques qui existent dans un écosystème donné. A l'inverse, la prise en compte globale de toutes les espèces risquerait de masquer les effets sur certaines espèces, particulièrement si les espèces abondantes sont moins affectées que les espèces rares

Toutefois, Hagvar (1994) pense que la distribution log-normale, généralement attribuée aux peuplements stables, ne peut être prise comme seul critère. En effet les systèmes très perturbés peuvent avoir également une distribution log-normale. Il faut donc également prendre en compte le nombre d'espèces rares, qui sont généralement absentes en systèmes perturbés.

## 2- Les variables

Deux types de variables sont distingués :

### 2.1- les variables relatives à la densité du peuplement

#### a- l'abondance

"L'abondance d'une espèce est évaluée d'après le nombre d'individus se rapportant à l'espèce par rapport au nombre total d'individus de toutes les espèces vivant dans le même milieu. L'abondance s'exprime aussi, surtout pour les populations animales, par le nombre d'individus par unités de surface ou de volume, ce qui correspond à la densité" (Touffet, 1982).

#### b- la biomasse

"On appelle biomasse la masse totale des êtres vivants pris dans leur ensemble ou par groupe systématique, par unité de surface dans un biotope donné et à un instant donné." (Ramade, 1993)

### 2.2- les variables relatives à la structure du peuplement

#### a- la richesse spécifique

"Caractère relatif au nombre d'espèces d'une communauté ou d'un site donné" (Touffet, 1982)

#### b- la diversité

"La diversité dépend de l'importance numérique relative des espèces en un site donné et rend compte de sa richesse biologique." (Touffet, 1982)

Il est fait usage d'indices de diversité, les plus communément employés étant l'indice de Shannon<sup>2</sup> et celui de Simpson<sup>3</sup>. Le premier est pondéré par les espèces les plus rares alors que le deuxième l'est par les espèces les plus communes

Généralement, les milieux perturbés ont des indices de diversité plus faibles, car la diversité baisse. Toutefois, Ramade (1992) pense qu'en écotoxicologie, les indices doivent être utilisés avec beaucoup de discernement

<sup>2</sup> indice de Shannon - Wiener :  $H = - \sum p_i$  où  $p_i$  est la proportion d'individus trouvés chez la  $i^{\text{ème}}$  espèce

<sup>3</sup> Indice de Simpson :  $D = 1/\sum p_i^2$

### 3- Méthodes de prélèvement de la faune du sol

#### 3.1- Les enchytréides

##### a- Prélèvement

Les échantillons de sol sont prélevés sur le terrain. Cependant, l'échantillonnage doit tenir compte de la répartition en agrégats des enchytréides.

##### b- Extraction (Bachelier, 1978)

###### b.1- Méthode à l'alcool

Les échantillons de sol sont émietter dans une solution alcoolique à 5%. Les enchytréides montent à la surface et sont ensuite récoltés. Les inconvénients de cette méthode sont la durée trop longue et les quantités de terre triées trop faibles.

###### b.2- Méthode de l'entonnoir à eau (Baerman)

Cette extraction rappelle celle de Tullgren. L'entonnoir débouche dans un tube et l'ensemble est rempli d'eau. L'échantillon est immergé et retenu par une grille au sommet de l'entonnoir. Sous l'action d'une source de chaleur, les enchytréides tombent dans le tube.

#### 3.2- Les vers de terre

Les vers de terre sont habituellement récoltés sur le terrain par :

##### a- un tri manuel

Des blocs de sol (25-30 cm de profondeur sur 1 m<sup>2</sup> de surface ou moins) sont prélevés à l'aide d'une bêche et sont ensuite passés par un lavage-tamissage. La mise en œuvre de cette technique est lourde mais elle permet de récolter les cocons et de mieux estimer la diversité et la structure des communautés lombriciennes (Cluzeau *et al*, 1987).

##### b- la méthode au formol (Raw, 1959)

Une solution de formol à 2,5 ‰ est répandue sur une surface de sol déterminée (1m<sup>2</sup> par exemple). Après arrosage, les vers irrités légèrement par le formol dilué montent à la surface du sol. La technique nécessite plusieurs arrosages (3 généralement) et ne permet pas la récolte de tous les vers. Le stade cocon est aussi négligé. Cependant, l'application de cette méthode est moins lourde que la précédente quoique les quantités d'eau utilisées soient importantes.

##### c- la méthode étho-physique

Très souvent les deux précédentes méthodes de prélèvement des vers de terre sont combinées : L'application de formol est suivie d'un prélèvement de sol qui est trié manuellement

### 3.3- Les gastéropodes

#### a- en période d'activité

La récolte se fait à vue sur des quadrats de surface déterminée

#### b- en périodes de repos (estival ou hivernal)

Les escargots sont recherchés dans les abris tels que les anfractuosités, les murs, les amas de branches, etc ou dans le sol par un tri manuel (cf les vers de terre).

### 3.4- Les microarthropodes

#### a- Prélèvement

##### a 1- Carottage

Des carottes de sol sont prélevées sur le terrain à l'aide d'une tarière

##### a 2- Méthode des sacs de litière

Cette méthode a été mise au point par Crossley & Hoglund (1962). Elle a déjà été décrite puisqu'elle est également utilisée dans l'étude de décomposition de litières. Cette méthode a l'avantage d'être facilement standardisable. De plus elle n'est pas destructive. Elle apporte cependant un biais puisqu'elle a tendance à sélectionner les microarthropodes qui vivent préférentiellement dans la litière. Cette méthode est actuellement peu employée (Siedentop, 1995 ; Tingle, 1995).

#### b- Extraction

##### b.1- Extracteur de Tullgren (Berlèse) et de MacFadyen

La carotte de sol ou le sac de litière est placé sous une source de chaleur et disposée sur un treillis fixé à un entonnoir qui débouche dans un récipient collecteur rempli de liquide

Ce type d'extracteur a subi diverses modifications apportant des stimuli répulsifs (la chaleur, la lumière et la dessiccation) ou attractifs (faible température, humidité) pour améliorer son pouvoir d'extraction (MacFadyen, 1971). Une des plus connue est celle de MacFadyen (1961) qui combine chaleur et humidité. Un gradient de température et d'humidité est appliqué à l'échantillon de sol avec les conditions les plus sévères en surface.

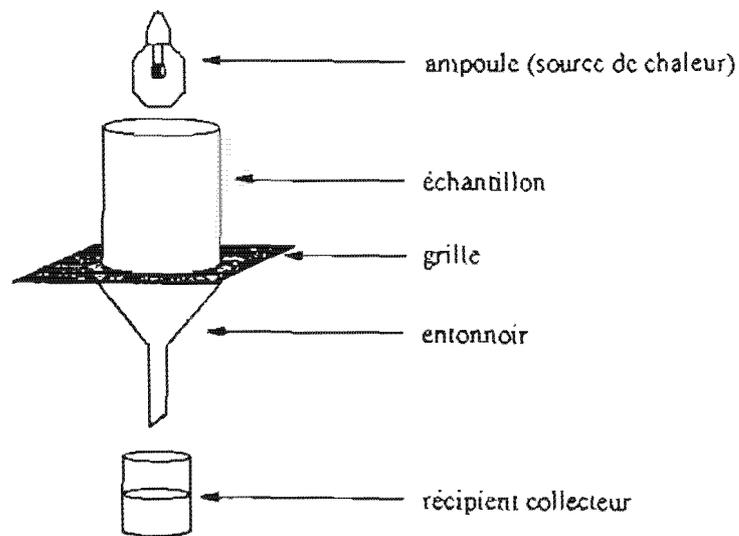


figure n° 4 : Schématisation de l'extracteur de Tullgren

### b.2- Flottation (Healey & Russel-Smith, 1970)

L'échantillon de sol ou de litière est immergé dans un mélange glycéro-glycériné puis agité. Après décantation, les animaux se trouvent dans le surnageant qui est recueilli par débordement.

### 3.5- Les isopodes

Les isopodes sont prélevés soit par une récolte à vue soit avec un échantillon de litière et extraits par la méthode de Tullgren.

## CONCLUSION

---

Dans ce rapport, nous avons relevé les paramètres utilisés dans certains travaux pour indiquer l'impact des polluants sur la qualité des sols. Ces paramètres font référence à un ou plusieurs organismes indicateurs.

Tous les invertébrés du sol ne peuvent pas jouer au même titre le rôle d'organisme indicateur et malheureusement, l'indicateur idéal n'existe pas (Hopkin, 1993). Néanmoins, les acariens, les collembolés, les enchytréides, les vers de terre, les isopodes et les gastéropodes sont généralement retenus.

Nous avons présenté leurs caractéristiques biotiques les plus couramment utilisées. Elles ont été regroupées en trois catégories de bioindicateurs :

- de bioaccumulation
- toxicologiques
- écologiques

Il faut regretter l'absence de standardisation des protocoles de mesure de la bioaccumulation (Phillips, 1993). Néanmoins, les mesures de bioaccumulation ne peuvent en aucun cas être écartées. Crommentuijn *et al* (1994) soulignent d'ailleurs que la connaissance des schémas d'accumulation est indispensable pour apprécier la sensibilité des espèces vis à vis des xénobiotiques.

Quant aux bioindicateurs d'effets toxicologiques ou écologiques, une complémentarité des informations rend nécessaire les études des uns et des autres. En fait, les études au laboratoire ne permettent pas d'établir de diagnostic en ce qui concerne l'apport des polluants dans les écosystèmes. Elles ne peuvent permettre que d'établir des pronostics visant à faire en sorte que le futur diagnostic résultant de nos pratiques soit aussi positif que possible. (Bouché & Qiu, 1996)

Les systèmes écologiques correspondent à des systèmes hiérarchiques appartenant à différents niveaux d'intégration (figure n° 5). Le polluant agit à l'échelle de la réaction biochimique et l'effet produit se répercute successivement à des niveaux supérieurs entraînant des conséquences au niveau cellulaire, organique, individuel, populationnel ou du peuplement (Ramade, 1992).

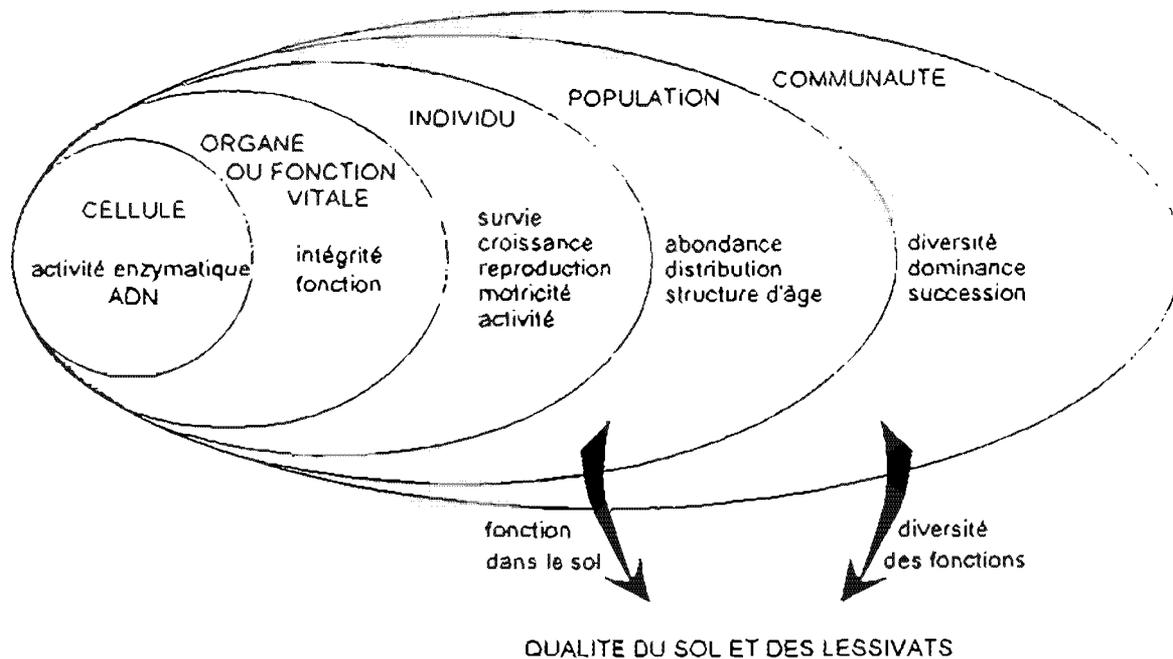


figure n° 5 : Niveaux d'action du polluant

Pour les paramètres utilisés au laboratoire, la survie et la reproduction sont les plus utilisés en tant que bioindicateurs toxicologiques alors que les bioindicateurs écologiques les plus courants sont l'abondance, la biomasse, la richesse spécifique et la diversité.

Pour les bioindicateurs d'effets toxicologiques, la standardisation des protocoles et la définition des indices à calculer sont des nécessités. Ceci nous amène à souligner les points suivants :

1- Afin d'effectuer des comparaisons valables, les conditions expérimentales devraient être standardisées (notamment en ce qui concerne la nature du sol employé). Van Straalen (1993) propose un indice NOEC ajusté, nommé NÔEC, prenant en compte les teneurs en matières organiques et en argiles.

2- De plus, certaines espèces apparaissent sensibles, si l'on prend en compte la concentration létale (LC50) En revanche, d'autres se montrent plus sensibles si on examine la concentration sublétale (EC10). Crommentuijn *et al* (1995a) ont donc proposé un nouvel indice, afin d'homogénéiser les réponses obtenues, nommé "Sublethal Sensitivity Index" (SSI). Ce dernier est calculé grâce au rapport LC50 / EC10 ou LC50 / NOEC lorsque la concentration sublétale n'a pu être mesurée

Un autre point de cette conclusion porte sur le passage du laboratoire au terrain. Différents types de modalité d'intégration ont été étudiés. Ces derniers tentent de simplifier les méthodes au champ, afin de mettre au point des méthodes standardisées, applicables sur le terrain, et utilisant les données acquises au laboratoire. Ainsi Diekkrüger & Röske (1995), ont tenté de

simuler la dynamique des populations du collembole *Isotoma notabilis* en milieux agricoles. Pour cela, ils ont utilisé les informations obtenues au laboratoire sur l'écophysiologie de cette espèce et les ont reliées aux données climatiques. Les résultats semblent concluants. De même Lokke (1995) a établi une méthode d'extrapolation

Le passage du laboratoire au terrain pose de nombreuses difficultés et demande des études plus approfondies. En effet, s'il est relativement aisé de standardiser des tests au laboratoire sur certains organismes, il est beaucoup plus délicat, compte de la variabilité spatio-temporelle des conditions mésologiques, d'intégrer ces résultats au champ.

L'intégration des données toxicologiques issues des niveaux d'organisation biologique inférieurs (molécule, cellule, organisme) aux niveaux supérieurs est nécessaire à la définition des risques environnementaux liés aux polluants (figure n° 6 d'après Cluzeau *et al*, 1992). La complémentarité entre les approches au laboratoire et au terrain est ainsi montrée. Les premiers niveaux permettent d'établir un pronostic des risques entre un grand nombre de modalités et permettent de définir ainsi au mieux un protocole du futur diagnostic en situation réelle sur un site expérimental. La validation de ce diagnostic est l'extrapolation par la complexité et la diversité des situations existantes pouvant se faire à travers une investigation sur un grand nombre de sites en place, à l'aide d'une méthodologie préalablement établie et validée sur les sites expérimentaux.

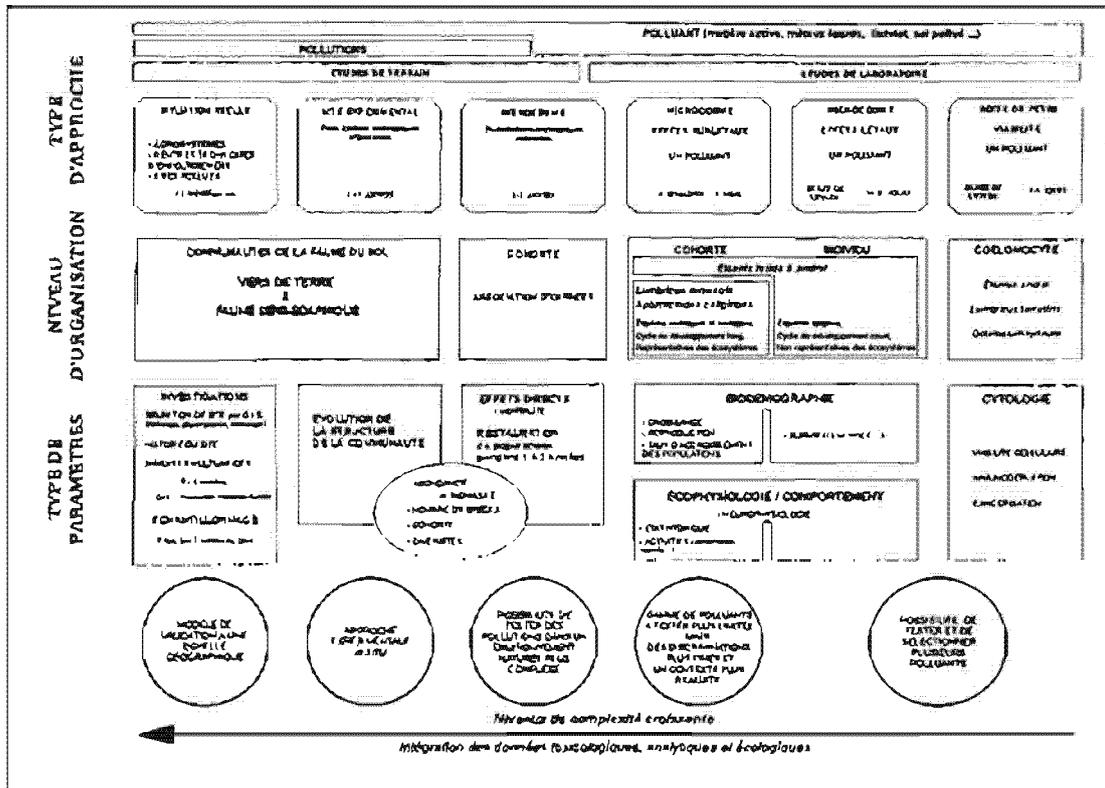


Figure n° 6 : Niveaux d'études en écotoxicologie lombricienne (d'après Cluzeau *et al.*, 1992)

## BIBLIOGRAPHIE

---

ABDUL RIDA A.M.M. (1992).- Biosurveillance de la contamination du sol : apport de l'étude des lombriciens à l'évaluation des risques liés aux éléments traces. Thèse d'Université de Montpellier II, 234 p.

AFNOR X31-250 (1984) - Qualité des sols - Détermination de la toxicité d'une substance vis-à-vis des lombriciens (Espèce *Eisenia fetida*) - Méthode "Artisol". AFNOR, Paris. 5 p.

ANDERSEN C. (1980).- Lead and cadmium content in earthworms (Lumbricidae) from sewage sludge amended arable soil. In : D.L. Dindal (Ed.), Soil Biology as Related to Land Use Practices., EPA, Office of Pesticide and Toxic Substances, Washington D.C., 148-156 pp.

ASH C.P.J. & LEE D.L. (1980).- Lead, cadmium, copper and iron in earthworms from roadside sites. *Environ. Pollut.*, 22 : 59-67.

BACHELIER G. (1978).- La faune du sol : son écologie et son action. Editions de l'ORSTOM Paris. Initiations - Documentation techniques., 38 : 391.

BADEJO M.A. & VAN STRAALLEN N.M. (1992).- Effects of atrazine on growth and reproduction of *Orchesella cincta* (Collembola). *Pedobiologia*, 36 : 221-230.

BEEBY A. (1985).- The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *J. Appl. Ecol.*, 22 : 267-275.

BENGTSSON G., BERDEN M. & RUNDGREN S. (1988).- Influence of soil animals and metals on decomposition processes : a microcosm experiment. *J. Environ. Qual.*, 17 : 113-119.

BENGTSSON G., GUNNARSSON T. & RUNDGREN S. (1983).- Growth changes caused by metal uptake in a population of *Onychiurus armatus* (Collembola) feeding on metal polluted fungi. *Oikos*, 40 : 216-225.

BENGTSSON G., GUNNARSSON T. & RUNDGREN S. (1985).- Influence of metals on reproduction, mortality and population growth in *Onychiurus armatus* (Collembola). *J. Anim. Ecol.*, 22 : 967-978.

BENGTSSON G., GUNNARSSON T. & RUNDGREN S. (1986).- Effects of metal pollution on the earthworm *Dendrobaena Rubida* (Sav.) in acidified soils. *Water Air Soil Pollut.*, 28 : 361-383.

BERGER B. & DALLINGER R. (1993).- Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environ. Monit. Assess.*, 25 : 65-84.

BERGER B., DALLINGER R. & THOMASER A. (1995).- Quantification of metallothionein as a biomarker for cadmium exposure in terrestrial gastropods. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14 : 781-791.

BIERI M., SCHWEIZER H., CHRISTENSEN K. & DANIEL O. (1989).- The effect of metaldehyde and methiocarb slug pellets on *Lumbricus terrestris*. In : I. Henderson (Ed.), Slugs and Snails in World Agriculture., Thornton Heath, 237-244 pp.

BISPO A. (1996).- Ecotoxicité terrestre. IRH Génie de l'Environnement., Paris. 39 p.

BLANDIN P. (1986).- Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, 17 : 215-307.

BOSTROM U. & LOFS-HOLMIN A. (1982).- Testing side effects of pesticides on soil fauna - a critical literature review. Swedish University of Agricultural Sciences, Suède, Report 12. 70 p.

BOUCHE M.B. (1972).- Lombriciens de France. Ecologie et systématique. *Ann. Zool. INRA F.*, N° H.S. 671 p.

BOUCHE M.B. (1992).- Earthworm species and ecotoxicological studies. In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K., 20-35 pp.

BOUCHE M.B. & QIU J.P. (1996).- Mise au point et évaluation de la signification d'une batterie de tests d'écotoxicologie utilisant les lombriciens. Rapport ADEME n° 4930032 programme "Ecotoxicologie des sols et déchets", 27 p.

CARTER A., HAYES E.A. & LAUKULICH L.M. (1980).- Earthworms as biological monitors of changes in heavy metal levels in an agricultural soil in British Columbia. In : D.L. Dindal (Ed.), *Soil Biology as Related to Land Use Practices.*, EPA, Office of Pesticide and Toxic Substances, Washington D.C., 344-357 pp.

CHRISTENSEN B. & JENSEN L.O. (1995).- Toxicity of pesticides to *Enchytraeus bigeminus*. In : H. Lokke (Ed.), *Effects of pesticides on Meso-and microfauna in soil.*, Danish Environmental Protection Agency, 33-38 pp.

CLUZEAU D. (1985).- Contribution à l'étude expérimentale du traitement des déchets par lombricompostage sur boues de station d'épuration et boues de papeteries. Rapport d'étude, Univ. Rennes I - Paimpont. 106 p.

CLUZEAU D., LAGARDE R. & FAYOLLE L. (1990).- Approche démographique d'une population de *Lumbricus terrestris*, en liaison avec des apports agropharmacutiques utilisés en polyculture-élevage. In : Coll. Int. ANPP (Ed.), *Relations entre les traitements phytosanitaires et la reproduction des animaux.*, Paris, France 25-26/04/90, .

CLUZEAU D., LAGARDE R., TEXIER C. & FAYOLLE L. (1992).- Relevance of life-history parameters in earthworm ecotoxicology. In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K., 225-229 pp.

CLUZEAU D., LÉBOUVTER M., TREHLEN P., BOUCHE M.B., BADOUR C. & PERRAUD A. (1987).- Relations between earthworms and agricultural practices in the vineyards of Champagne. Preliminary results. In: A. M. Bonvicini Pagliai & P. Omodeo (Eds), On Earthworms, Selected Symposia and Monographs U.Z.I., 2, Mucchi, Modena, 465-484 pp.

COINEAU Y. (1974).- Introduction à l'étude des microarthropodes du sol et de ses annexes. Doin, Paris. 118 p.

COOK A.G., CRITCHLEY B.R., CRITCHLEY U., PERFECT T.J. & YEADON R. ET AL. (1980).- Effects of cultivation and DDT on earthworm activity in a forest soil in the subhumid tropics. *J. Appl. Ecol.*, : 21-29.

COOK M.E. & SWAIT A.A.J. (1975).- Effects of some fungicide treatments on earthworm populations and leaf removal in apple orchards. *J. Hort. Sci.*, 50 : 495-499.

COUGHTREY P.J. & MARTIN M.H. (1976).- The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* Müller. *Oecologia (Berl.)*, 23 : 315-322.

CROMMENTUIJN T., BRILS J. & VAN STRAALLEN N.M. (1993).- Influence of cadmium on life-history characteristics of *Folsomia candida* (Willem) in an artificial soil substrate. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 26 : 216-227.

CROMMENTUIJN T., DOODEMAN C.J.A.M. & DOORNEKAMP A. (1994).- Lethal body concentrations and accumulation patterns determine time dependant toxicity of cadmium in soil arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13 : 1781-1789.

CROMMENTUIJN T., DOODEMAN C.J.A.M., VAN DER POOL J.J.C., DOORNEKAMP A. & RADEMAKER M.C.J. ET AL. (1995a).- Sublethal sensitivity index as an ecotoxicity parameter measuring energy allocation under toxicant stress : application to cadmium in soil arthropods. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 31 : 192-200.

CROMMENTUIJN T., STAB J.A., DOORNEKAMP A., ESTOPPEY O. & VAN GESTEL C.A.M. (1995b).- Comparative ecotoxicity of cadmium, chlorpyrifos and triphenyltin hydroxide for four clones of the parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* in an artificial soil. *Funct. Ecol.*, 9 : 734-742.

CROSSLEY D.A. & HOGLUND M.P. (1962).- A litter-bag method for the study of microarthropods inhabiting leaf litter. *Ecology*, 43(3) : 571-573.

CROUAY Y. (1996).- Mise au point de tests écotoxicologiques applicables aux sols et aux déchets utilisant les arthropodes du sol comme modèles biologiques. Rapport ADEME n° 4930035 programme "Ecotoxicologie des sols et déchets", 17 p.

DALLINGER R. (1993).- Strategies of metals detoxification in terrestrial invertebrates. In: Dallinger R. and Rainbow P.S. (Ed.), *Ecotoxicology of metals in invertebrates.*, Lewis publishers, Boca Raton, 245-289 pp.

DALLINGER R. & BERGER (1992).- Bio-monitoring in the urban environment. In: Bonotto S., Nobili R. and Revoltella R.P. (Ed.), *Biological indicators for environmental monitoring*, Arcs-Serono Symposia n° 27, Rome.

DALLINGER R. & WIESER W. (1984).- Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 79C : 117-124.

DALLINGER R., BERGER B. & GRUBER A. (1993).- Quantitative aspects on zinc and cadmium binding in *Helix pomatia* : differences between an essential and a non essential trace element. *In* : Dallinger R. and Rainbow P.S. (Ed.), *Ecotoxicology of metals in invertebrates.*, Lewis publishers, Boca Raton, 315-332 pp.

DEAN-ROSS D. (1983).- Methods for the assessment of the toxicity of environmental chemicals to earthworms. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 3 : 48-59.

DEKKERS T.B.M., VAN DER WERFF P.A. & VAN AMELSVOORT P.A.M. (1994).- Soil Collembola and Acari related to farming systems and crop rotations in organic farming. *Acta Zool. Fennica*, 195 :28-31.

DIEKKRUGER B. & ROSKE H. (1995).- Modelling the population dynamics of *Isotoma notabilis* (Collembola) on sites of different agricultural usage. *Pedobiologia*, 39(1) : 58-73.

DIRHEIMER G. & KEITH G. (1995).- Biomarqueurs moléculaires - Interactions avec les macromolécules. *In* : ANPP-Colloque International (Ed.), *Marqueurs Biologiques de Pollution.*, 1-16 pp.

DREWES C.D. & LINGAMNEMI A. (1992).- Use of earthworms in eco-neurotoxicology testing : sublethal effects of carbofuran in *Lumbricus terrestris*. *In* : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K., 63-72 pp.

DREWES C.D. & MAC FALL J.L. (1980).- Longitudinal variations in the efficacy of lateral giant fiber to giant motor neuron transmission in intact earthworms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66 : 315-321.

DREWES C.D. & VINIG E.P. (1984).- In vivo neurotoxic effects of Dieldrin on giant nerve fibers and escape reflex function in the earthworm, *Eisenia fetida*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 22 : 93-103.

DREWES C.D., CALLAHAN C.A. & FENDER W.M. (1983).- Species specificity of giant nerve fiber conduction velocity in Oligochaetes. *Can. J. Zool.*, 61 : 2688-2694.

DREWES C.D., LANDA K.B. & MAC FALL J.L. (1978).- Giant nerve fibre activity in intact, freely moving earthworms. *J. Exp. Biol.*, 72 : 217-227.

DREWES C.D., MAC FALL J.L., VINING E.P. & PALLAS S.L. (1980).- Longitudinal variations in MGF-mediated giant motor neuron activity and rapid escape shortening in intact earthworms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 67 : 659-665.

DREWES C.D., VINING E.P. & CALLAHAN C.A. (1984).- Non-invasive electrophysiological monitoring : a sensitive method for detecting sublethal neurotoxicity in earthworms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 3 : 599-607.

DREWES C.D., VINING E.P. & ZORAN M.J. (1988).- Regeneration of rapid escape reflex pathways in earthworms. *Ann. Zool.*, 28 : 1077-1089.

DREWES C.D., ZORAN M.J. & CALLAHAN C.A. (1987).- Sublethal neurotoxic effects of the fungicide benomyl on earthworms (*Eisenia fetida*). *Pestic. Sci. P.*, 19 : 197-208.

ECHAUBARD M. (1995).- Les animaux comme indicateurs biologiques de pollution. In : ANPP - Colloque international - Marqueurs Biologiques de Pollution., ANPP annales, Chinon, 335-358 pp

EDWARDS C.A. (1983).- Development of a standardized laboratory method for assessing the toxicity of chemical substances to earthworms. Commission of the European Communities. Environment and quality of life, 141 p.

EDWARDS C.A. (1992).- Testing the effects of chemicals on earthworms : the advantages and limitations of field tests. In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K. 75-84 pp.

EDWARDS C.A. & BOHLEN P.J. (1995).- The effects of contaminants on the structure and function of soil communities. *Acta Zool. Fennica*, 196 : 284-289.

EDWARDS C.A. & LOFTY J.R. (1977).- *Biology of Earthworms*. Second edition. Chapman and Hall, London. 300 p.

EDWARDS C.A. & THOMPSON A.R. (1973).- *Pesticides and the soil fauna*, 79 p.

EDWARDS P.J. & COULSON J.M. (1992).- Choice of earthworm species for laboratory tests. In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K., 36-43 pp.

EIJSACKERS H. (1983).- Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environ. Monit. Assess.*, 3 : 307-316.

EKELUND F., RONN R. & CHRISTENSEN S. (1995).- Effects of pesticides on Protozoa. In : H. Lokke (Ed.), *Effects of pesticides on Meso- and microfauna in soil.*, Danish Environmental Protection Agency, 27-32 pp.

FERRIERE G., FAYOLLE U. & BOUCHE M.B. (1981).- Un nouvel outil essentiel pour l'écophysologie et l'écotoxicologie : l'élevage des Lombriciens en sol artificiel. *Pedobiologia*, 22 : 196-201.

FILSER J. (1994).- The effect of the systemic fungicide Aktuan on Collembola under field conditions. *Acta Zool. Fennica*, 195 : 32-34.

FILSER J., FROMM H., NAGEL R.F. & WINTER K. (1995).- Effects of previous intensive agricultural management on microorganisms and the biodiversity of soil fauna. In : Collins H.P. et al (Ed.), *The significance and regulation of soil biodiversity.*, 123-129 pp.

FISCHER E., MAJER J., HORNING E., FARKAS S. & MOLNAR L. (1994).- Sublethal toxicity test with the woodlouse *Porcellio scaber* (Latt., 1814) (Isopoda : Porcellionidae). In : H. Kula, U. Heimbach, H. Lokke (Ed.), Progress Report 1994 of : Secofase, third technical report., Denmark, 139-158 pp.

FRAMPTON G.K. (1994).- Sampling to detect effects of pesticides on epigeal collembola (springtails). *Aspect of Applied Biology*, 37 : 121-130.

GISH C.D. & CHRISTENSEN R.E. (1973).- Cadmium, nickel, lead and zinc in earthworms from roadside soil. *Environ. Sc. Tech.*, 7 : 1060-1062.

GOMOT L. & GOMOT A. (1996).- Utilisation des escargots comme bioindicateurs de pollution par les métaux. Rapport ADEME n° 4930015 programme "Ecotoxicologie des sols et déchets" avec annexe, 30 p.

GRAVELAND J., VAN DER WAL R., VAN BALEN J.H. & VAN NOORDWIJK A.J. (1994).- Poor reproduction in forest passerines from decline of snail abundance on acidified soils. *Nature*, 368 : 446-448.

GREENSLADE P. & MAJER J.D. (1993).- Recolonization by Collembola of rehabilitated bauxite mines in Wester Australia. *Aust. J. Ecol.*, 18 : 385-394.

GREIG-SMITH P.W. (1992).- Recommendations of an international workshop on ecotoxicology of earthworms, Sheffield, UK (april 1991). In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K, 247-262 pp.

GREVILLE R.W. & MORGAN A.J. (1989).- Concentrations of metals (Cu, Pb, Cd, Zn, Ca) in six species of british terrestrial gasteropods near a disused lead and zinc mine. *J. Mollus. Snid.*, 55 : 31-36.

HAGVAR S. (1994).- Log-normal distribution of dominance as an indicator of stressed soil microarthropo communities. *Acta Zool. Fennica*, 195 : 71-80.

HAQUE A. & EBING W. (1983).- Toxicity determination of pesticides to earthworms in the soil substrate. *J. Plant Dis. Prot.*, 90 : 395-408.

HEALEY I.N. & RUSSELL-SMITH A. (1970).- The extraction of fly larvae from woodland soils. *Soil Biol. Biochem.*, 2 : 119-129.

HEIMBACH F. (1984).- Correlations between three methods for determining the toxicity of chemicals to earthworms. *Pestic. Sci.*, 15 : 605-611.

HOPKIN S.P. (1989).- *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Science, London. 366 p.

HOPKIN S.P. (1993).- *In situ* biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In : Peter Calow (Ed.), *Handbook of Ecotoxicology.*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 397-427 pp.

HOPKIN S.P. & MARTIN M.H. (1982).- The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the woodlouse *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda). *Oecologia*, 54 : 227-232.

HOPKIN S.P., HARDISTY G. & MARTIN M.H. (1986).- The woodlouse *Porcellio scaber* as a biological indicator of zinc, cadmium, lead and copper pollution. *Environ. Pollut.*, 11 : 271-290.

HOPKIN S.P., MARTIN M.H. & MOSS S.M. (1985).- Heavy metals in isopods from the supra-littoral zone on the southern shore of the Severn Estuary, U.K.. *Environ. Pollut.*, 9 : 239-254.

HOUX N.W.H., DECKER A., VAN KAMMEN-POLMAN A.M.M. & RONDAY R. (1996).- Acute toxicity test for terrestrial hazard assessment with exposure of *Folsomia candida* to pesticides in an aqueous medium. *Environ. Contam. Toxicol.*, 30 : 9-14.

IRELAND M.P. (1979).- Heavy metal binding properties of earthworm chlorogosomes. *Acta Biol. Acad. Sc. Hung.*, 29 : 47-54.

IRELAND M.P. & WOOTON R.J. (1976).- Variations in the lead, zinc and calcium content of *Dendrobaena rubida* (Oligochaeta) in a base metal mining area. *Environ. Pollut.*, 10 : 201-208.

JANSSEN M.P.M., BRUINS A., DE VRIES T.H. & VAN STRAALLEN N.M. (1991).- Comparison of cadmium kinetics in four soil arthropod species. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20 : 305-312.

JEPSON P.C., WILES J.A. & READER N. (1994).- Sublethal toxicity test with the springtail *Isotoma viridis* (Bourlet, 1839) and *Folsomia candida* (Willem, 1902) (Collembola : Isotomidae). In : H. Kula, U. Heimbach, H. Lokke (Ed.), Progress Report 1994 of : Secofase, third technical report., Denmark, 103-124 pp.

JOOSSE E.N.G. & VAN VLIET L.H.H. (1984a).- Iron, manganese and zinc inputs in soil and litter near a blast-furnace plant and the effects on the respiration of woodlice. *Pedobiologia*, 26 : 249-256.

KEOGH R.G. & WHITEHEAD P.H. (1975).- Observations on some effects of pasture spraying with benomyl and carbendazim on earthworm activity and litter removal from pasture. *N.Z.J. Exp. Agr.*, 3 : 103-104.

KOKTA C. (1992).- Measuring effects of chemicals in the laboratory : effect criteria and endpoints. In : P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K., 55-62 pp.

KROGH P.H. (1994).- Microarthropods as bioindicators, a study of disturbed populations. PhD thesis, Denmark. 95 p.

KROGH P.H. (1995).- Does a heterogeneous distribution of food or pesticide affect the outcome of toxicity tests with collembola?. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 30 : 158-163.

KROGH P.H. & PETERSEN B. (1995).- Laboratory toxicity testing with collembola. In : H. Lokke (Ed.), *Effects of pesticides on Meso-and microfauna in soil.*, Danish Environmental Protection Agency, 39-58 pp.

KULA H. (1992).- Measuring effects of pesticides on earthworms in the field : test design and sampling methods. *In*: P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K, 90-99 pp.

KULA H. & KOKTA C. (1992).- Side effects of selected pesticides on earthworms under laboratory and field conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 24 : 1711-1714.

LAFaurie M. (1991).- Introduction : Biomarqueurs de contamination de l'environnement. *Océanis*, 17 : 335-339.

LAVELLE P. (1981).- Strategies de reproduction chez les vers de terre. *Acta Oecologia / Oecol. Gener.*, 2 : 117-133.

LEE K.E. (1985).- Earthworms : their ecology and relationships with soils and land use. Academic press, 411 p.

LEGAY J.-M. (1995).- Contribution à la mise en place d'une écotoxicologie fondamentale. *Nature - Science - Sociétés*, 3 : 342-346.

LOFS A. (1992).- Measuring effects of pesticides on earthworms in the field : effect criteria and endpoints. *In*: P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards & F. Heimbach (Eds), *Ecotoxicology of Earthworms.*, U.K, 85-89 pp.

LOFS-HOLMIN A. (1980).- Measuring growth of earthworms as a method of testing sublethal toxicity of pesticides. *Swedish J. Agr. Res.*, 10 : 25-33.

LOFS-HOLMIN A. (1982).- Measuring cocoon production of earthworm *Allolobophora caliginosa* (Sav.) as a method of testing sublethal toxicity of pesticides. *Swedish J. Agr. Res.*, : 117-119.

LOKKE H. (1995).- Extrapolation from the laboratory to the field. *In*: H. Lokke (Ed.), *Effects of pesticides on Meso- and microfauna in soil.*, Danish Environmental Protection Agency, 143-149 pp.

LOKKE H., KROGH P.H., FOLKER-HANSEN P. & HOLMSTRUP M. (1994).- Sublethal toxicity test with the gamasid mite *Hypoopsis aculeifer* Canestrini (Acari : Gamasida) preying on the collembolan *Folsomia fimetaria* Linne (Collembola : Isotomidae). *In*: H. Kula, U. Heimbach, H. Lokke (Ed.), *Progress Report 1994 of : Secofase*, third technical report., Denmark, 13-23 pp.

LUPETTI P., MARSILI L., FOCARDI S. & DALLAI R. (1994).- Organochlorine compounds in litter-dwelling arthropods Collembola (Insecta Apterygota) from Central Italy. *Acta Zool. Fennica*, 195 : 94-97.

MA W., DENNEMAN W. & FABER J. (1991).- Hazardous exposure of ground-living small mammals to cadmium and lead in contaminated ecosystems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20 : 266.

MA W.C. (1982).- The influence of soil properties and worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiologia*, 24 : 109-120.

MACFADYEN A. (1961).- Improved funnel-type extractors for soil arthropods. *J. Anim. Ecol.*, 30 : 171-184.

MACFADYEN A. (1971).- Soil arthropods sampling. In : Phillipson J. (Ed.), *Methods of study in quantitative soil ecology : population, production and energy flow.*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1-34 pp.

MEINCKE K.F. & SCHALLER K.H. (1974).- Use of snail (*Helix pomatia L*) on cultivated land as indicator of environmental pollution with iron, zinc and lead. *Oecologia (Berl.)*, 15 : 393-398

NEUHAUSER E.F. & COLLAHAN C.A. (1990).- Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to sublethal concentrations of organic chemicals. *Soil Biol. Biochem.*, 22 : 175-179.

NEUHAUSER E.F., DURKIN P.R., MALECKI M.R. & ANATRA M. (1986).- Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83C : 197-200.

NEUHAUSER E.F., LOEHR R.C., MILLIGAN D.L. & MALECKI M.R. (1985).- Toxicity of metals to the earthworm *Eisenia fetida*. *Biol. Fert. Soils*, 1 : 149-152.

OCDE (1984).- Guideline for testing of chemicals no. 207, earthworm, acute toxicity tests. Adopted 4 April 1984. *Acta Biol. Acad. Sc. Hung.*

PETERSEN H. & GJELSTRUP P. (1995).- Development of a semi-field method for evaluation of laboratory tests as compared to field conditions. In : H. Lokke (Ed.), *Effects of pesticides on Meso- and microfauna in soil.*, Danish Environmental Protection Agency, 67-142 pp.

PHILLIPS D.J.H. (1993).- Bioaccumulation. In : Peter Calow (Ed.), *Handbook of Ecotoxicology.*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 378-396 pp.

PIHAN J.C., MORHAIN E. & PIHAN F. (1994).- Recherche de micropolluants métalliques (cuivre et zinc) dans l'escargot naturel et en élevage - Evaluation du facteur de contamination par la voie alimentaire. In : , *Journée Nationale Hélicole.*, ITAVI GNPE, Rennes, 1-10 pp.

PIZL V. (1988).- Interactions between earthworms and herbicides. I. Toxicity of some herbicides to earthworms in laboratory tests. *Pedobiologia*, 32 : 227-232.

POSTHUMA L., HOGERVORST R.F., JOOSSE E.N.G. & VAN STRAALLEN N.M. (1993).- Genetic variation and covariation for characteristics associated with cadmium tolerance in natural populations of the springtail *Orchesella cincta*. *Evolution*, 47 (2) : 619-631.

RAMADE F. (1992).- Précis d'écotoxicologie. Masson Collection d'Ecologie n°22, Paris, Milan, Barcelone, Bonn. 300 p.

RAMADE F. (1993).- Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Ediscience international, Paris. 822 p.

RAW F. (1959).- Estimating earthworm populations by using formalin. *Nature*, 184 : 1661-1662.

REINECKE A.J. & VENTER J.M. (1985).- Influence of dieldrin on the reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Biol. Fert. Soils*, 1 : 39-44.

RICKLEFS R.E. (1990).- Ecology. 3<sup>ème</sup> édition, W.H. Freeman and Company, New-York. 896 p.

RIEPERT F. (1993).- ISO ring test for a method for determining the effects of soil contaminants on the reproduction of Collembola. ISO document, 24 p.

ROMBKE J., KNACKER T., FOSTER B. & MARCINKOWSKI A. (1994).- Comparison of effects of two pesticides on soil organisms in laboratory tests, microcosms and in the field. In : Donker et al (Ed.), *Ecotoxicology of soil organisms.*, 229-240 pp.

RUNDGREN S. & AUGUSTSSON A. (1994).- Sublethal toxicity test with the enchytraeid worm *Cognettia sphagnetorum* (Vejdovsky, 1878), (Enchytraeidae : Oligochaeta). In : H. Kula, U. Heimbach, H. Lokke (Ed.), *Progress Report 1994 of : Secofase, third technical report.*, Denmark, 91-101 pp.

RUSSELL L.K., DEHAVEN J.L. & BOTTS R.P. (1981).- Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 26 : 634-640.

SCHUYTEMA G.S., MEBEKER A.V. & GRIFFIS W.L. (1994).- Effects of dietary exposure to forest pesticides on the brown garden snail *Helix aspersa* Müller. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26 : 23-28.

SGARDELLIS S.P., SARKAR S., ASIKIDIS M.D., CANCELA DA FONSECA J.P. & STAMOU G.P. (1993).- Phenological patterns of soil microarthropods from three climate regions. *Eur. J. Soil Biol.*, 29 (2) : 49-57.

SIEDENTOP S. (1995).- A litterbag-test for the assessment of side effects of pesticides on soil mesofauna. *Acta Zool. Fennica*, 196 : 357-360.

SIEPEL H. (1995).- Applications of microarthropods life-history tactics in nature management and ecotoxicology. *Biol. Fert. Soils*, 19 : 75-83.

SPRINGETT J.A. & GRAY R.A.J. (1992).- Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture. *Soil Biol. Biochem.*, 24 : 1739-1744.

STAMOU G.P., ASIKIDIS M.D., ARGYROPOULOU M.D. & SGARDELLIS S.P. (1993).- Ecological time versus standard clock time : the asymmetry of phenologies and the life history strategies of some soil arthropods from mediterranean ecosystems. *Oikos*, 66 : 27-35.

STEEN E. (1983).- Soils animals in relation to agricultural practices and soil productivity. *Swedish J Agr. Res.*, 13 : 157-165.

- STENERSEN J. (1979).- Action of pesticides on earthworms. Part I : The toxicity of the cholinesterase-inhibiting insecticides to earthworms as evaluated by laboratory tests. *Pestic. Sci.*, 10 : 66-74.
- TERHIVUO J., PANKAKOSKI E., HYVARINEN H. & KOIVISTO I. (1994).- Pb uptake by ecologically dissimilar earthworm (Lumbricidae) species near a lead smelter in south Finland *Environ. Pollut.*, 85 : 87-96.
- TEXIER C. (1993).- Etude expérimentale de divers modes d'action de l'aldicarbe sur *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta, Lumbricidae). Thèse d'université, Rennes I. 182 p.
- TINGLE C.C.D. (1995).- Some effects of DDT used to control tsetse fly on woodland invertebrates in Zimbabwe. *Acta Zool. Fennica*, 196 : 361-363.
- TOUFFET J. (1982).- Dictionnaire essentiel d'écologie. Editions Ouest France, Rennes. 108 p.
- TRANVIK L., BENGTSSON G. & RUNDGREN S. (1993).- Relative abundance and resistance traits of two Collembola species under metal stress. *J. Appl. Ecol.*, 30 : 43-52.
- TRANVIK L., STJORGREN M. & BENGTSSON G. (1994).- Allozyme polymorphism and protein profile in *Orchesella bifasciata* (Collembola) : indicative of extended metal pollution ? *Biochem. Syst. Ecol.*, 22(1) : 13-23.
- VAN GESTEL C.A.M. & DOORNEKAMP A. (1994).- Sublethal toxicity test with the oribatid mite *Platynothrus peltifer* (Koch, 1839)(Oribatida : Acari). In : H. Kula, U. Heimbach, H. Lokke (Ed.), Progress Report 1994 of : Secofasc, third technical report., Denmark, 63-80 pp.
- VAN GESTEL C.A.M., DIRVEN-VAN BREEMEN E.M., BAERSELMAN R. & EMANS H.J.B. ET AL (1992).- Comparison of sublethal and lethal criteria for 9 different chemicals in standardized toxicity tests using the earthworm *Eisenia andrei*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 23 : 206-220.
- VAN GESTEL C.A.M., VAN DIS W.A., VAN BREEMEN E.M. & SPARENBURG P.M. (1988).- Comparison of two methods for determining the viability of cocoons produced in earthworms toxicity experiments. *Pedobiologia*, 32 : 367-371.
- VAN GESTEL C.A.M., VAN DIS W.A., VAN BREEMEN E.M. & SPARENBURG P.M. (1989).- Development of a standardized reproduction toxicity test with the earthworm species *Eisenia fetida andrei* using copper, pentachlorophenol, and 2,4-dichloroaniline. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 18 : 305-312.
- VAN RHEE J.A. (1969).- Effects of biocides and their residues on earthworms. *Mededelingen Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen gent.*, 34 : 682-689.
- VAN RHEE J.A. (1972).- Landbouw en Plantenziekten. Publ. Landb. Voorloidsdienst Verlag, 93-102 pp.

VAN RHEE J.A. (1975).- Copper contamination effects on earthworms by disposal of pig waste in pastures. Vanek J. (Ed.), Progress in Soil Zoology. Proc. 5th Int. Colloq. Soil Zool., Prague. 451-457 pp.

VAN RHEE J.A. (1977).- Effects of soil pollution on earthworms. *Pedobiologia*, 17 : 201-208.

VAN STRAALLEN N.M. (1993).- Soil and sediment quality criteria derived from invertebrate toxicity data. In : Dallinger R. and Rainbow P.S. (Ed.), Ecotoxicology of metals in invertebrates., Lewis publishers, Boca Raton, .

VAN STRAALLEN N.M. & VAN GESTEL C.A.M. (1993).- Soil invertebrates and micro-organisms. In : Peter Calow (Ed.), Handbook of ecotoxicology., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 251-277 pp.

VAN STRAALLEN N.M. & VAN WENSEM J. (1986).- Heavy metals content of forest litter arthropods as related to body-size and trophic level. *Environ. Pollut.*, 42 : 209-221.

VAN STRAALLEN N.M., SCHOBLEN J.H.M. & DE GOEDE R.G.M. (1989).- Populations consequences of cadmium toxicity in soil microarthropods. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 17 : 190-204.

VAN WENSEM J., JAGERS OP AKKERHUIS G.A.J.M. & VAN STRAALLEN N.M. (1991).- Effects of the fungicide triphenyltin hydroxide on soil fauna mediated litter decomposition. *Pestic. Sci.*, 32 :307-316.

VENTER J.M. & REINECKE A.J. (1988).- Sublethal ecotoxicological effects of dieldrin on the earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). In : Edwards, C.A. & Neuhauser, E.F. (Eds), Earthworms in Waste and Environmental Management., SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, 337-353 pp.

WALSH P., ELADLOUNI C., MUKHOPADHYAY M.J., VIEL G., NADEAU D. & PODRIER G.G. (1995).- P-32-postlabeling determination of DNA adducts in the earthworm *lumbricus terrestris* exposed to PAH-contaminated soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54 : 654-661.

WIESER W., DALLINGER R. & BUSCH G. (1977).- The flow of copper through a terrestrial food chain. II- Factors influencing the copper content of isopods. *Oecologia*, 30 : 265-272.

WILLIAMSON P. (1979).- Comparison of metal levels in invertebrates detritivores and their natural diets : Concentration factors reassessed. *Oecologia*, 44 : 75-79.

WILLIAMSON P. (1980).- Variables affecting body burdens of lead, zinc and cadmium in a roadside population of the snail *Cepaea hortensis* Müller. *Oecologia (Berl.)*, 44 : 213-220.

## GLOSSAIRE

---

**ADDUIT D'ADN** : n. m., Nucléotide modifié de l'ADN - La modification d'une base de l'ADN se fait par exemple par alkylation ou par action d'agents physiques (rayonnement UV ou radiations ionisantes) - Les adduits d'ADN sont mis en évidence et quantifiés par plusieurs méthodes. Celle de post-marquage au [32P] phosphore est plus générale car contrairement aux autres méthodes, elle ne nécessite aucune connaissance préalable des adduits recherchés (Dirheimer & Keith 1995).

**AMPHITOQUIE** : n. f., Combinaison de thélytoque et arrhénotoque chez une même espèce.

**ANÉMOCHORIE** : n. f., Phénomène de dispersion par le vent.

**ARRHÉNOTOQUIE** : n. f., Reproduction par laquelle les oeufs infertiles donnent des mâles et les oeufs fertiles des femelles.

**BIOACCUMULATION** : n. f., Phénomène par lequel une substance, présente dans un biotope, pénètre dans un organisme même si elle n'a aucun rôle métabolique, voire si elle est toxique à ce dernier. (Ramade 1993).

**BIOCONCENTRATION** : n. f., Phénomène par lequel des êtres vivants absorbent des substances naturellement présentes dans leur biotope ou polluantes et les accumulent dans leur organisme à des concentrations supérieures à celles auxquelles elles se rencontrent dans le milieu naturel. (Ramade 1993)

**BIOINDICATEUR** : n. m., Organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écocomplexe et de mettre en évidence aussi précocément que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées. (Blandin 1986).

**BIOMARQUEUR D'EXPOSITION** : n. m., Modification biochimiques, physiologiques, cytologiques, immunologiques et moléculaires mesurables dans des systèmes biologiques en relation directe ou indirecte avec l'exposition aux toxiques de même que la mesure des produits résultant de ces modifications que l'on peut trouver dans les liquides biologiques comme le sang ou l'urine. (Dirheimer & Keith 1995).

**CONTAMINATION** : n. f., Désigne le fait qu'un biotope ou un ensemble d'êtres vivants, voire une communauté toute entière, renferment une concentration analytiquement décelable d'un polluant donné. (Ramade 1993).

**DIAPAUSE** : n. f., Phénomène caractérisé par un arrêt de développement obligatoire chez un invertébré. Celui-ci survient alors que les conditions écologiques sont encore favorables et ne s'arrêtera que si l'organisme est exposé à une intensité suffisante au facteur défavorable auquel la diapause permet de résister. (Ramade 1993).

**ECOTOXICOLOGIE** : n. f., Discipline dont l'objet est l'étude des polluants dans les écosystèmes. L'écotoxicologie comporte un aspect descriptif qui consiste en l'analyse de la circulation des polluants entre les biotopes et les communautés vivantes. Elle possède aussi un aspect causal, dont le but est de comprendre les conséquences écologiques de l'action des polluants sur la structure et le fonctionnement des systèmes écologiques naturels, l'échelle la plus réductionniste de l'approche se situant au minimum au niveau de la population. L'un des domaines les plus spécifiques de l'écotoxicologie est constitué en particulier par l'étude des modalités d'action des polluants sur les processus écologiques fondamentaux telle la productivité des écosystèmes et sur les mécanismes caractérisant leur action sur les communautés de décomposeurs ou encore sur le cycle des éléments dans les écosystèmes. Le monitoring des polluants dans l'environnement fait aussi partie des domaines majeurs de l'écotoxicologie. Tout autant que les méthodes de microanalyse chimique, celui-ci fait appel à l'usage de bio-indicateurs d'accumulation, ainsi que d'espèces indicatrices ayant une sensibilité particulière à tel ou tel polluant des écosystèmes terrestres ou aquatiques et qui de ce fait jouent le rôle d'espèce sentinelle vis-à-vis de la contamination de leur habitat. Enfin une des finalités actuelles de l'écotoxicologie est la prévision des effets potentiels de la pollution d'un écosystème donné par un produit chimique ou encore un effluent complexe d'origine industrielle. (Ramade 1993).

**ITÉROPARITÉ** : n. f., se dit d'une espèce dont les femelles se reproduisent plusieurs fois au cours de leur vie.

**LÉTAL** : adj., qui est mortel. (Ramade 1993).

**MÉSOCOSME** : n. m., Dispositif expérimental clos de taille moyenne situé en plein air, destiné à l'étude des effets des polluants sur les écosystèmes. Ils se situent à une échelle beaucoup plus réaliste et représentative des conditions écologiques réelles que les microcosmes utilisés dans les expérimentations de laboratoire sur les polluants. (Ramade 1993).

**PHORÉSIE** : n. f., Phénomène par lequel un invertébré peut se faire transporter par une espèce capable de voler dépourvue de toute affinité systématique avec son passager. (Ramade 1993).

**QUALITÉ D'UN SOL** : Terme pouvant être défini comme le système des caractéristiques abiotiques et biotiques qui assurent le fonctionnement de l'écosystème du sol. Ces caractéristiques doivent, par conséquent, posséder un certain minimum au dessus duquel la qualité d'un sol variera en fonction de la phase de succession et du type d'écosystème du sol (Eijsackers 1983)

**QUIESCENCE** : n. f., Etat d'arrêt temporaire du développement d'un invertébré provoqué par la venue de conditions écologiques défavorables : refroidissement, sécheresse excessive, par exemple. L'activité d'un organisme en quiescence reprend immédiatement, après le retour des paramètres abiotiques concernés dans la gamme de valeur favorable. (Ramade 1993).

**SÉLECTION r ET K** : Expressions de la sélection s'exerçant sur les caractéristiques de survie et de reproduction afin de favoriser soit une croissance rapide des effectifs dans les populations à faible densité (r) soit une aptitude compétitive dans le cas de densités proches de la capacité limite du milieu (K) (Ricklefs, 1990)

**SÉMELPARITÉ** : n. f., se dit d'une espèce qui ne se reproduit qu'une seule fois dans sa vie.

**SUBLÉTAL** : adj., Désigne en toxicologie de l'environnement les doses ou concentrations d'un polluant qui sont à la limite inférieure de celles causant une intoxication aiguë, de sorte que la majorité des individus exposés à ces doses ou à ces concentrations survivent. (Ramade 1993).

**THÉLYTOQUIE** : n. f., reproduction asexuée par laquelle des femelles fournissent une progéniture uniquement composée d'individus femelles.

**TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT** : étude des substances toxiques présentant un risque de pollution de l'environnement. Il s'agit de travaux effectués à un niveau réductionniste, y compris biochimique, avec une finalité souvent biomédicale. Cela différencie la toxicologie de l'environnement, dont l'objet concerne l'étude des effets des polluants et les modalités de la contamination de l'homme par ces derniers, de l'écotoxicologie dont le but spécifique est l'étude des polluants dans les écosystèmes et leurs conséquences écologiques. (Ramade 1993)

**VIVIPARITÉ** : n. f., les femelles produisent des jeunes dont le développement embryonnaire est déjà achevé.

## LISTE DES FIGURES

---

figure n° 1 : Relations trophiques entre les composantes d'un écosystème terrestre (d'après Steen, 1983).	4
figure n° 2 : Catégories écologiques des vers de terre (d'après Bouché, 1972 ; Lavelle, 1981)	5
figure n° 3 : Catégories des acariens et des collemboles (Coineau, 1974) (avec l'aimable autorisation du professeur Yves Coineau)	6
figure n° 4 : Schématisation de l'extracteur de Tullgren	39
figure n° 5 : Niveaux d'action du polluant	41
figure n° 6 : Niveaux d'études en écotoxicologie lombricienne (d'après Cluzeau <i>et al</i> , 1992)	43

## LISTE DES TABLEAUX

---

tableau n° 1 : Classification de Siepel (1995) pour les microarthropodes	7
tableau n° 1bis : Suite de la classification de Siepel (1995) pour les microarthropodes	8
tableau n° 2 : Bioindicateurs étudiés (cases en grisé)	11
tableau n° 3 : Taux de concentration du plomb dans les vers ( $\text{mg.kg}^{-1}$ de poids sec) et facteur de concentration (= rapport de la concentration de Pb dans les vers sur celle du sol) pour les trois espèces lombriciennes abondantes à Tikkurila (sol fortement pollué par le plomb) et de Pornainen (site de contrôle) (Tertivuo <i>et al</i> , 1994)	14
tableau n° 4 : Les gastéropodes pulmonés terrestres comme indicateurs de contamination	16
tableau n° 5 : Liste non exhaustive des études concernant les enchytréides	18
tableau n° 6 : Exemples de travaux évaluant la mortalité, la reproduction et la croissance chez les vers de terre	20
tableau n° 7 : Exemples de travaux traitant de la mortalité, de la croissance et de la reproduction chez les gastéropodes terrestres	23
tableau n° 8 : Exemples de tests entrepris pour évaluer la mortalité et la reproduction chez les microarthropodes	24
tableau n° 9 : Liste non exhaustive d'études concernant les isopodes	27
tableau n° 10 : Tests normalisés ou proposition de tests standardisés	28
tableau n° 11 : Synthèse des propositions de standardisation du protocole pour des études de terrain (Texier, 1993)	34

## ANNEXE 1 : DETAILS DES TESTS STANDARDISES OU PROPOSES (TABLEAU N° 10)

### a- Les enchytréides

Rundgren & Augustsson (1994) ont proposé un test sur l'espèce *Cognettia sphagnetorum*.

- stade de développement : adultes de + de 30 segments - juvéniles de - de 30 segments
- mode de contamination : introduction du polluant dans le sol
- conditions d'élevage : sol : tourbe de sphaigne 70%, sol LUFA 30%  
température de 15°C  
vial en verre  
alimentation : mycellium de *Mortierella isabellina*
- durée du test : 10 semaines

### b- Les vers de terre

Des tests de survie normalisés existent (OCDE, 1984)

- espèce : *Eisenia fetida*
- stade de développement : adulte
- mode de contamination :
  - par contact sur papier filtre (OCDE, 1984)  
conditions d'élevage :  
absence de lumière  
température de 20 °C  
papier filtre humidifié avec une solution du polluant  
durée du test : 24 et 48 heures
  - ou incorporé à un sol de test (Artisol : Ferrière *et al.*, 1981 ; sol artificiel : Edwards, 1983 ; OCDE, 1984).  
conditions d'élevage :  
intensité lumineuse faible (400-800lux)  
température de 20°C  
sol artificiel  
densité : 10 / 500g de poids sec de sol artificiel  
récipient en verre  
durée du test : 14 jours

Tests sublétaux (Van Gestel *et al.*, 1989)

- paramètre : reproduction
- espèce : *Eisenia fetida*
- stade de développement : adulte
  - mode de contamination : polluant incorporé à un sol artificiel
  - conditions d'élevage : intensité lumineuse faible (400-800lux)  
température de 20°C  
sol artificiel  
alimentation bouse de vache  
densité : 10 / 500g de poids sec de sol artificiel  
récipient en verre
  - durée du test : 4 semaines

- stade de développement : cocon
  - mode de contamination : polluant incorporé à un sol artificiel ou parent exposé
  - conditions d'élevage : intensité lumineuse faible (400-800lux)  
température de 20°C  
alimentation bouse de vache  
entre deux couches de sol artificiel  
boite de pétri
  - durée du test : 5 semaines

#### c- Les gastéropodes

Gomot & Gomot (1996) travaillent sur un test de croissance avec 2 sous-espèces d'escargots *Helix aspersa aspersa* et *H. aspersa maxima*.

- stade de développement : 1 et 2 mois
- mode de contamination : introduction du polluant dans l'alimentation ou contamination par voie épidermique et ingestion de gouttes de lixiviat
- conditions d'élevage : 18 heures de lumière par 24 heures  
hygrométrie de 80 à 95 %  
température de 20 ± 2°C  
aliment 2<sup>ème</sup> âge Hélical  
densité : 30/m<sup>2</sup>  
bacs d'élevage en polystyrène cristal (0.13m<sup>2</sup>)
- durée du test : 1 mois

#### d- Les collemboles

Actuellement, l'espèce *Folsomia candida* semble avoir été retenue par l'ISO comme organisme test, selon le protocole mis au point par Riepert (1993) :

- paramètre : reproduction
- stade de développement : 10 à 12 jours
- mode de contamination : le polluant est introduit dans le sol
- conditions d'élevage : sol artificiel  
température 20°C  
enceinte en verre de 120 cm<sup>3</sup> ou tubes en verre
- durée du test : 4 semaines.

Toutefois, ce test est encore actuellement à l'étude (Crouau, 1996). En effet, une grande variabilité des résultats a été relevées entre les différents laboratoires européens. De plus, Jepson *et al* (1994) proposent d'étendre l'étude à *Isotoma viridis*, espèce plus commune en Europe, et ayant une écologie très différente de *Folsomia candida*, puisqu'elle a une reproduction sexuée.

#### e- Les acariens

Deux types d'acariens semblent avoir été retenus : un oribate, *Platynothrus peltifer*, et un Gamaside, *Hypoaspis aculeifer*.

Pour *Platynothrus peltifer* (Van Gestel & Doornekamp, 1994), deux modes de contamination sont proposés :

- introduction du polluant dans le sol
  - stade de développement : 1 mm
  - conditions d'élevage : sol artificiel  
température de 18°C  
récipient en plastique
  - durée du test : 2 à 10 semaines
- introduction du polluant dans l'alimentation (algue verte)
  - stade de développement : adulte
  - conditions d'élevage : suspension d'algues vertes sur papier filtre  
température de 18°C  
récipient en plastique avec plâtre de Paris
  - durée du test : 10 semaines

*Hypoaspis aculeifer* (Lokke et al, 1994) :

- stade de développement : 1 mm
- mode de contamination : introduction du polluant dans le sol
- conditions d'élevage : alimentation : *Folsomia fimetaria* ou *Folsomia candida*  
température de 20°C  
sol artificiel
- durée du test : 3 semaines

#### f- Les isopodes

L'espèce proposée comme organisme test est *Porcellio scaber* (Fisher et al, 1994). Deux types de tests ont été envisagés : le premier concerne la croissance des isopodes et le second la reproduction et la production d'oocytes :

- stade de développement : 10 à 16 semaines de 20 à 40 mg
- mode de contamination : polluant ajouté à l'alimentation (mélange de litière de chêne, aliments pour lapins, poudre de pommes de terres)
- conditions d'élevage : température de 20°C  
boîtes de pétri  
alimentation : mélange de litière de chêne, aliments pour lapins, poudre de pommes de terres
- durée du test : 10 semaines (oocytes) ou 8 semaines (croissance)