



**HAL**  
open science

# Rôle des activités lombriciennes sur la redistribution des éléments traces métalliques issus de boue de station d'épuration dans un sol agricole

Frédérique Ablain

## ► To cite this version:

Frédérique Ablain. Rôle des activités lombriciennes sur la redistribution des éléments traces métalliques issus de boue de station d'épuration dans un sol agricole. *Ecologie, Environnement*. Université Rennes 1, 2002. Français. NNT: . tel-00007433

**HAL Id: tel-00007433**

**<https://theses.hal.science/tel-00007433>**

Submitted on 17 Nov 2004

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° Ordre : 2680

**THESE**

*présentée*

DEVANT L'UNIVERSITE DE RENNES 1

pour obtenir

Le grade de : *DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES 1*

**Mention : BIOLOGIE**

PAR

**Frédérique Ablain**

Equipe d'accueil : UMR ECOBIO 6553  
Equipe Interaction Biologique et Transfert de Matière  
Ecole doctorale Vie-Agro-Santé  
U.F.R Sciences de la vie et de l'environnement

**Rôle des activités lombriciennes sur la redistribution des éléments traces métalliques  
issus de boue de station d'épuration dans un sol agricole.**

*Soutenue le 18 Décembre 2002 devant la commission d'examen*

Benedetti, M.  
Bispo, A.  
Cluzeau, D.  
Marmonier, P.  
Morel, J.L.  
Tréhen, P.

CR1, CNRS Paris VI  
Ingénieur de Recherche, Ademe Angers  
MC, Université de Rennes 1  
Professeur, Université de Rennes 1  
Professeur, Université de Nancy  
Professeur, Université de Rennes 1.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Mr Paul **TREHEN** qui m'a accueillie au sein de l'UMR 6553 « ECOBIO » à la Station Biologique de Paimpont et qui a dirigé cette thèse. Je lui suis reconnaissante des conseils dont il m'a fait part tout au long de ce travail.

Un grand merci à Daniel **CLUZEAU** qui a initié cette étude et qui m'a encadrée tout au long de ce travail en me faisant bénéficier de ses connaissances et de ses conseils. Ses commentaires pendant la phase de rédaction m'ont beaucoup aidée.

Je remercie vivement Pierre **MARMONIER** pour ses conseils divers et variés, et son optimisme à toute épreuve. Je le remercie également d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je remercie Messieurs les membres du jury d'avoir accepté de lire ce manuscrit : Messieurs Jean-Louis **MOREL** (ENSAIA, Nancy) et Marc **BENEDETTI** (CNRS, Paris VI), en tant que rapporteurs, et Monsieur Antonio **BISPO** (ADEME, Angers), en tant qu'examineur.

Je tiens également à remercier Claire **SAHUT** pour m'avoir accueillie au CEA de Cadarache et de m'avoir initiée aux extractions séquentielles. Je tiens également à remercier Guy **GENIAUT** pour ses conseils, sa disponibilité de chaque instant et nos conversations sur Jimmy Hendrix.

Merci à Isabelle **LAMY** pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire Science du sol de l'INRA de Versailles, dès le DEA et de m'avoir expliqué en long et en large le fractionnement granulo-densimétrique. J'ai une pensée particulière pour Jean-Pierre **PETRAUD**, qui a su donner de son temps ô combien précieux pour me former au fractionnement et réparer la centrifugeuse que j'ai cassée...

Un grand merci à Gérard **GRUAU** qui m'a permis de faire les dosages de percolats à Géosciences, merci pour son optimisme et ses précieux conseils. Merci aussi à Martine **LE COZ-BOUHNİK** et Patrice **PETITJEAN** pour leurs conseils avisés en COD et ICP-MS.

Un grand merci tout spécial à Christine **TEXIER-PECHEUL**, mon maître spirituel et vénéré du ver de terre qui m'a tout appris sur les microcosmes. Merci pour ta patience, tes conseils, ta gentillesse et ta bonne humeur.

Merci à tous ceux que j'ai croisés durant mes périples dans le sud et à la Capitale, **Aurélie**, la reine des crêpes de Cadarache, **Marc**, **Grégoire** et les autres. Ma super copine **Christelle** avec qui je dansais sur Kylie pendant les centri !! **Annie** ou mobylette, **Miguel** de source sûre et **Edson**, un joli rayon de soleil.

Je remercie mes supers copains de DEA et dérivés **Gnegnes**, **Olivier**, **Fred** (garçon), **Franckinou** et **Sabrina** pour m'avoir hébergée, soignée, supportée. Je vous aime!!!!

Comment pourrais-je oublier les Gépab'girls et autres qui ont su m'accueillir à bras ouvert quand j'étais une toute pitite stagiaire débutante: Mômman **Christine**, si si tu es une mère pour moi, **Sylvie** et ses coups de folie, **Danièle** pour nos discussion ragots potins et pis la petite **Valérie** ou plutot ophélie, tu vas voir tu vas aimer !!

Un grand merci au schtroumph bricoleur Michel **LEFEUVRE** ou plutôt michoubidou qui a réalisé les microcosmes, les portoirs et j'en passe .... Merci à toi, michel pour les petits cafés du matin, et nos discussions chasse.

Un grand merci à **Valérie** qui combien de fois m'a accueillie dans sa petite famille, ta gentillesse, ta disponibilité et pis surtout ton grand cœur. RESISTE !!

Sans oublier mes petits camarades de la station : MA **Nanette** super chouette à moi tout seule, en fait c'est toi ma SUPER copine, **Jéjé** ou gamin et ses poils au menton, **Davidou** mon compagnon de rédaction, alors heureux, **Philoubidou**, c'est à toi d'amener les pains aux chocolats vendredi d'abord, **Patrick** le coupeur de tête, **Sylvain** et ses kinders surprises, **Loudo** ma qué pourquoi tou m'a fais ça, **Totof** et **Clairette** le tandem de choc, **Guéno**, c'est vrai qu'on est des supers nanas !! **Françoise** et **Léon**, my brother.

Une petite pensée pour tous ceux que j'ai croisé à la station et qui m'ont laissé comme un petit plus dans le cœur : **PE**, **CO**, **Justine**, **Bégo**, **Elodie**, **Patrick**, **Naninouette**, **Noupi**, **Hélène**, ... désolé pour les ceuces que j'oublie!

Merci également à tous les permanents et les stagiaires de la station pour leur sympathie, les soirées délires. PS spécial **Marc** : Mais oui marc je m'en vais bientôt !!

Merci à mes **parents** (ma petite môman) et à mon frère le fameux titi **Navier** qui bien qu'intrigués par ma nouvelle passion pour le fabuleux destin de *Lumbricus terrestris* m'ont toujours soutenue.

Enfin, simplement merci **Patrick**.

# SOMMAIRE

<u>CHAPITRE I</u> .....	6
<u>INTRODUCTION</u> .....	7
<u>CHAPITRE II</u> .....	21
<u>MATERIELS ET METHODES</u> .....	21
<u>1. Conditions experimentales</u> .....	22
<u>1.1- Le sol</u> .....	22
<u>1.2- La boue de station d'épuration (BSE)</u> .....	24
<u>I.3 - La ressource trophique</u> .....	26
<u>I.4 - Le matériel biologique</u> .....	26
<u>1.4.1 Lumbricus terrestris</u> .....	27
<u>1.4.2 Nicodrilus giardi</u> .....	27
<u>I.5 Dispositif expérimental : les microcosmes</u> .....	27
<u>I.6 Reconstitution de la colonne de sol</u> .....	29
<u>I.6.1 Expérimentation 1 (Redistribution des ETM dans les biostructures)</u> .....	30
<u>I.6.2 Expérimentation 2 (Qualité des eaux de percolation)</u> .....	30
<u>2. Les compartiments étudiés</u> .....	32
<u>2.1 Les turricules</u> .....	32
<u>2.2 Les parois de galeries et le sol environnant</u> .....	32
<u>2.3 Les percolats</u> .....	32
<u>3. Les analyses</u> .....	33
<u>3.2 Les extractions chimiques</u> .....	33
<u>3.2.1 La fraction échangeable</u> .....	34
<u>3.2.2 La fraction potentiellement échangeable</u> .....	34
<u>3.2.3 La fraction résiduelle</u> .....	34
<u>3.2.4 Les teneurs « totales »</u> .....	34
<u>3.3 Le fractionnement granulo-densimétrique</u> .....	35
<u>3.3.1 Principe du fractionnement granulo-densimétrique</u> .....	35
<u>3.4 Les analyses statistiques</u> .....	37

<u>CHAPITRE III</u> .....	38
<u>IMPACTS DES ETM SUR LES LOMBRICIENS</u> .....	38
<u>1. Suivi des paramètres Biodémographiques</u> .....	39
<u>1.1 Expérimentation 1</u> .....	39
<u>1.1.1 Le Taux de survie</u> .....	39
<u>1.1.2 Evolution pondérale</u> .....	40
<u>1.2 Expérimentation 2</u> .....	41
<u>1.2.1 Le Taux de survie</u> .....	42
<u>1.2.2 Evolution pondérale</u> .....	42
<u>2. Production de turricule</u> .....	42
<u>3 Discussion</u> .....	45
<u>CHAPITRE IV</u> .....	47
<u>REDISTRIBUTION DES ETM DANS LES MICROSITES D'ORIGINE LOMBRICIENNES</u>	
<u>1. Teneurs totales en carbone, azote et ETM dans le sol et les biostructures</u> .....	48
<u>1.1 Teneur totale en carbone, azote et ETM dans le sol environnant de la modalité</u> <u>Témoin et de la modalité Boue</u> .....	48
<u>1.1.1 Carbone et azote total</u> .....	48
<u>1.1.2 Teneur totale en ETM</u> .....	50
<u>1.2 - Teneurs totales en carbone, azote et ETM dans les turricules et parois de galeries</u> 51	
<u>1.2.1 Teneurs en carbone et azote</u> .....	51
<u>1.2.2 Teneurs en ETM dans les microsites</u> .....	52
<u>1.3 Discussion</u> .....	54
<u>2. Distribution Chimique des ETM dans le sol et les microsites d'origine lombricienne</u> ....	57
<u>2.1 Distribution chimique des ETM dans le sol avec boue et sans boue</u> .....	57
<u>2.2 Distribution chimique des ETM dans les turricules et parois de galeries</u> .....	59
<u>2.3 Discussion</u> .....	63
<u>3. Distribution physique des ETM dans le sol et les microsites d'origine lombricienne</u> .....	65
<u>3.1 La granulométrie</u> .....	65
<u>3.1.1 La granulométrie des sols</u> .....	65
<u>3.1.2 La granulométrie des biocompartiments</u> .....	65
<u>3.2 Bilan en % du C, N et ETM dans les fractions granulo-densimétriques</u> .....	69
<u>3.3 Distribution du carbone et de l'azote dans le sol et les microsites</u> .....	69
<u>3.3.1 Distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques</u>	

<u>des sols</u> .....	69
<u>3.3.2 Distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques des microsites</u> .....	70
<u>3.3.3 Discussion</u> .....	73
<u>3.4 Distribution des éléments traces métalliques dans le sol et les biocompartiments</u> ....	74
<u>3.4.1 Distribution des ETM dans les sols</u> .....	74
<u>3.4.2 Distribution des ETM dans les biostructures</u> .....	76
<u>3.4.3 Discussion</u> .....	79
<u>4. Complémentarité des approches chimiques et physiques de la distribution des ETM</u> ....	81
<u>5. Conclusion</u> .....	81
<u>CHAPITRE V</u> .....	84
<u>COMPOSITION CHIMIQUE DES PERCOLATS</u> .....	84
<u>1. Volume des eaux de percolation</u> .....	85
<u>2. Carbone organique dissous dans les eaux de percolation</u> .....	86
<u>2.1 Concentration en COD dans les eaux de percolation</u> .....	86
<u>2.2 Flux cumulé de COD dans les eaux de percolation</u> .....	88
<u>2.3 Discussion</u> .....	88
<u>3. Les ETM dans les eau de percolation</u> .....	90
<u>3.1 Le Cuivre</u> .....	90
<u>3.2 Le Plomb</u> .....	92
<u>3.3 Le Cadmium</u> .....	93
<u>3.4 Le Zinc</u> .....	93
<u>3.5 Discussion</u> .....	94
<u>4. Bilan des flux de carbone et Elements traces metalliques</u> .....	96
<u>4.1 Bilan des flux de carbone et ETM</u> .....	96
<u>4.2 Le risque Boue</u> .....	106
<u>5. Discussion Générale</u> .....	108
<u>CHAPITRE VI</u> .....	110
<u>DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE</u> .....	111
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u> .....	123
<u>ANNEXES</u> .....	137

## CHAPITRE I

### INTRODUCTION



## INTRODUCTION

---

Situé à l'interface entre l'eau, l'atmosphère et les végétaux, le sol assure de nombreuses fonctions : des fonctions économiques, écologiques et biologiques. Support de nombreuses activités humaines (industrialisation, urbanisation, agriculture), son rôle clef en matière d'environnement a été reconnu récemment : il intervient comme réacteur, récepteur, accumulateur, et filtre des pollutions (Robert et Juste, 1999). L'accroissement démographique et l'industrialisation ont conduit à une augmentation des flux de déchets contenant des substances diverses telles que les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP), polychlorobiphényles (PCB) et les éléments traces métalliques (ETM). Les activités humaines génèrent donc des déchets au sens large (gaz d'échappement, rejets industriels) et produisent et utilisent des molécules susceptibles d'être toxiques (pesticides, tensioactifs). Les PCB et HAP sont dégradés plus ou moins rapidement (quelques jours voire plusieurs mois) dans le sol par les micro-organismes (A.T.S.D.R., 1996 ; I.P.C.S., 1998). Les éléments traces métalliques ne sont pas dégradés et s'accumulent dans le sol (Robert, 1995). Leur temps de rémanence dans le sol ainsi que leurs effets adverses potentiels sur la santé humaine font de leur présence dans le sol un problème actuel et à venir.

### *Les éléments traces métalliques (ETM)*

La croûte terrestre ou lithosphère est composée de 80 éléments : 12 éléments majeurs et 68 éléments traces ou éléments mineurs (Coïc et Coppenet, 1989). Par convention, les éléments majeurs sont ceux dont la teneur dans la croûte terrestre est supérieure à 1 pour mille et les éléments mineurs, ceux dont la teneur est inférieure à cette valeur (Juste et Feix, 1995). Cette définition ne prend en compte, ni l'abondance de ces éléments dans les organismes vivants, ni la nature des effets (toxiques ou bénéfiques) qu'ils pourraient engendrer sur ces derniers.

Dans le monde vivant, la notion de macro ou micro-élément est utilisée. Cette notion repose sur la concentration moyenne de l'élément dans les organismes vivants. La limite des concentrations moyennes séparant macro de micro-éléments a été fixée par des spécialistes à 100 mg/kg de matière sèche. Les micro-éléments peuvent être classés en deux catégories : les

micro-éléments indispensables et les micro-éléments neutres Les micro-éléments indispensables aux processus vitaux sont appelés oligo-éléments. Ces oligo-éléments peuvent devenir toxiques si leur concentration dépasse une certaine teneur dans l'organisme. Certains micro-éléments dont le caractère indispensable n'a pas été mis en évidence peuvent également s'avérer toxiques au-delà d'un certain seuil : c'est le cas du plomb, du cadmium et du mercure.

Le terme "métaux lourds" est fréquemment employé pour désigner les éléments traces métalliques (ETM). Cette expression vient de la traduction anglaise de "Heavy metals" (Juste et Feix, 1995). Par métaux lourds, sont désignés les éléments métalliques dont la densité est supérieure à 5. Cette expression est employée à tort car elle englobe des éléments dont la masse volumique est bien en deçà de 5 g/ml (aluminium), et des éléments qui ne peuvent être considérés comme des métaux au sens strict du terme (sélénium).

### Origine

Il existe différentes sources d'apport d'éléments traces métalliques dans le sol (figure I.1).

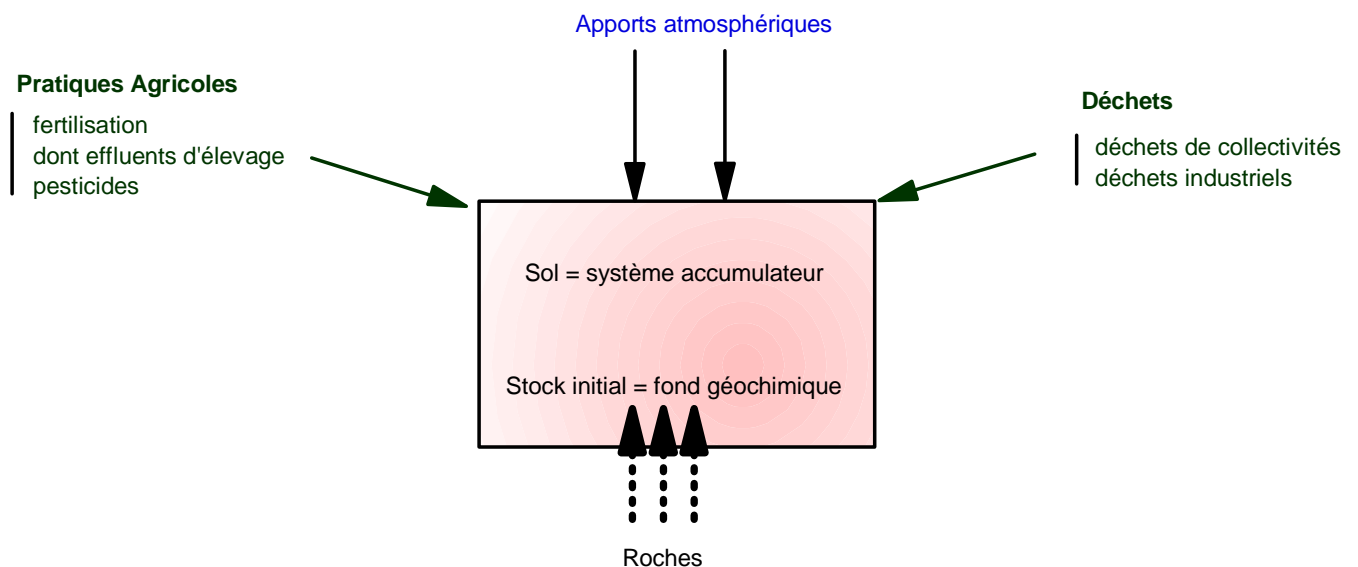


Figure I.1 Origine des ETM dans le sol  
(D'après Robert & Juste, 1999)

### Origine naturelle

Les ETM sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de

celles-ci pour constituer le fond géochimique (Bourrelrier et Berthelin, 1998). La concentration naturelle de ces éléments dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation, son âge et de la nature de l'élément.

*Tableau I.1* Teneurs moyennes en ETM dans les sols

Elément (Z)	Valeurs moyennes dans les sols en ppm		
	Monde	Europe	France
<b>Cuivre (29)</b>	20 (Kabata-Pendias, 1992 ; Mc Lean et Bledsoe, 1992)	20 - 30 (Baize, 1997)	13 - 30 (Juste et Feix, 1995) 10 - 30 (Prog ASPITET, 1997)
<b>Zinc (30)</b>	64 (Kabata-Pendias, 1992,)	40 - 50 (Bonneau et Souchier, 1979)	70 - 90 (Pailler, 1992)
<b>Cadmium (48)</b>	0,53 (Kabata-Pendias, 1992)	0,08 – 0,44 (Fao-Who, 1989)	0,23 (Gomez et al, 1989) 0,2 (Baize, 1997)
<b>Plomb (82)</b>	2-44 (Kabata-Pendias, 1992)	20 (Adriano, 1986)	24 (Gomez et al, 1989)

#### *Origine anthropique*

Deux principaux types de pollutions anthropiques sont responsables de l'augmentation des flux de métaux : la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels) et la pollution liée aux activités agricoles.

- La pollution atmosphérique résulte des activités industrielles (rejet d'usine), et urbaine (gaz d'échappement, etc. ...). Il faut distinguer les apports diffus aériens d'origine lointaine, des apports massifs localisés d'origine proche. Dans les apports diffus sont classés les poussières et aérosols provenant des chauffages ainsi que les activités industrielles, les moteurs d'automobiles, etc. Ces apports peuvent parcourir des centaines de kilomètres à partir de leur source et se déposent indifféremment sur des secteurs cultivés, des forêts ou encore des prairies (Godin et al, 1985, Vangronsveld et al, 2002). Les apports massifs localisés résultent d'apports anthropiques accidentels liés aux activités industrielles de longue durée sans protection efficace contre la dispersion dans l'environnement (Baize, 1997).

- Certaines pratiques agricoles sont à l'origine de l'introduction d'éléments traces métalliques dans le sol. Les produits destinés à améliorer les propriétés physico-chimique du sol sont souvent plus riches en ETM que le sol lui-même d'où un enrichissement en ETM de ces sols (Bourrelrier et Berthelin, 1998). Parmi ces apports : les lisiers (Martinez,

1996 ; LeGros et al, 2002), la bouillie bordelaise (Branas, 1984 ; Deluisa et al, 1996), les engrais, les composts et les boues de station d'épuration (BSE) (Robert et Juste, 1999).

Le rôle des pratiques agricoles dans la contamination des sols doit être pris en compte : cela concerne une grande partie du territoire, et constitue la première étape vers la contamination de la chaîne alimentaire (Bourrelrier & Berthelin, 1998) et peut donc engendrer des problèmes de santé publique.

### **Cas particulier des boues de station d'épuration**

Les boues de STEP (BSE) sont les résidus du traitement d'épuration subi par les eaux usées d'origine domestique ou industrielle. La production annuelle de BSE en France a été estimée en 1995 à 865 000 tonnes de matière sèche (Wuart et Thauvin, 1995). Les boues d'épuration peuvent suivre différentes filières : des filières d'éliminations par incinération ou mise en décharge, ou des filières de valorisation. Un projet de loi relatif à l'élimination des déchets et à la récupération des matériaux examiné en 1975, remis à jour en 1992, précise (Art 2.1) que les déchets industriels, en raison de leur propriétés dangereuses, ne pourront plus être déposés dans des installations de stockage (Le Morvan, 1992). A compter du 1<sup>er</sup> juillet 2002, les installations d'élimination des déchets par stockage ne seront autorisées à accueillir que des déchets ultimes. Est considéré comme ultime, au sens de la loi, un déchet qui n'est plus susceptible d'être traité dans les conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux – L n°92-646 du 13 juillet 1992 Art 1<sup>er</sup>-II (Le Morvan, 1992). Les boues n'étant pas considérées comme des déchets ultimes, et la production annuelle étant en constante augmentation, le devenir de ces déchets est devenu une forte question d'actualité. La filière de valorisation agricole concerne 60% de la production actuelle. C'est la filière de valorisation la moins coûteuse à côté de l'incinération et de la mise en décharge. Les teneurs en eau et en éléments fertilisants des boues (azote, phosphore...) sont favorables à leur utilisation en agriculture. Le retour de ces éléments nutritifs vers le sol s'inscrit vers une gestion plus rationnelle des déchets (Ademe, 2001). En plus de leur effet fertilisant, les boues peuvent également avoir un rôle structurant (Korantajer, 1991, Illera et al, 2000) et ainsi améliorer les caractéristiques physico-chimiques du sol. En effet, si une partie de la MO apportée par les boues est utilisée par les micro-organismes, une autre partie est incorporée au sol et contribue à l'entretien d'une structure favorable au développement des racines notamment (Ademe,

2001). L'épandage contribue à court terme à améliorer la structure du sol et l'alimentation des végétaux par l'apport de substances nutritives. A long terme, l'épandage contribuera à équilibrer le bilan humique du sol.

Cependant, les boues peuvent également avoir un effet polluant sur le sol et les eaux, du fait de leur charge en ETM, HAP, PCB et micro-organismes pathogènes. La charge en ETM des boues dépend de l'origine de celle-ci. Les boues d'origine urbaine sont moins chargées en ETM que les boues d'origine industrielle (Wiart, 2000). Depuis quelques années, la qualité des boues de station d'épuration s'est améliorée (Baize, 1997) : les boues sont devenues de plus en plus « propres », moins chargées en ETM entre autre.

L'épandage de boues de station d'épuration obéit à une réglementation (Décret n°97-1133, complétée par l'arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques, applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles (Baize, 2002). La législation française met l'accent sur la limitation des flux cumulés en ETM apportés en combinant une plus grande exigence sur la composition des boues et une restriction des tonnages autorisés. L'épandage ne peut donc être pratiqué qu'après avoir mis en place une planification globale, des outils d'analyses et de prévision, des moyens de contrôles du respect des bonnes pratiques et des résultats agronomiques (Ademe, 2001).

### ***Comportement des métaux dans le sol : Notion de spéciation, mobilité, et disponibilité***

Actuellement, le stock d'éléments en traces métalliques est la résultante de l'héritage du fond géochimique et des différents apports anthropiques (Robert & Juste, 1999). Les métaux issus des apports anthropiques ont un comportement différent des métaux présents naturellement, car apportés sous des formes chimiques réactives (Baize, 1997). Dès leur introduction dans le sol, les métaux vont s'associer avec différents constituants du sol sous des formes chimiques variées. Cette répartition dépend de caractéristiques (1) intrinsèques à l'élément (forme chimique initiale, valence, réactivité, ...) (Chaney et Olivier, 1996, Mc Laughing et al, 2000) et des caractéristiques du milieu (pH, potentiel d'oxydoréduction, CEC, température, travail du sol...) (Lebourg et al, 1996 ; Richards et al, 1998 ; Filipek-Mazur et al, 2001 ; Tsadilas, 2001).

Dans la majorité des cas, les ETM s'associent à la matrice solide, ils s'accumulent dans le sol, tant que les conditions du milieu restent inchangées (Bourrelhier & Berthelin, 1998). De la forme chimique de l'élément, du constituant auquel il est associé va dépendre le mode de

fixation par le sol et donc la mobilité et la biodisponibilité de l'élément. La nature de l'association des éléments traces avec les phases porteuses du sol, est appelé spéciation.

La **spéciation** est définie comme la répartition et la quantification des différentes formes chimiques d'un élément dans le sol, qui réunies, donnent sa concentration totale (Tessier et al, 1979 ; Florence, 1986). La spéciation contribue à définir la mobilité des éléments traces et donc permet d'établir des perspectives de comportement et d'évolution des éléments traces en fonction des conditions du milieu et de leur modification (Bourelhier & Berthelin, 1998).

La **mobilité chimique** est définie généralement comme l'aptitude d'un élément à être transféré vers des compartiments du sol ou il est de moins en moins retenu. Le compartiment ultime est représenté par la solution du sol où dans certains cas, l'atmosphère du sol (Juste, 1988 ; Mc laughin et al, 2001).

La **biodisponibilité** selon Thornton (1999) est la portion d'élément dans le sol qui est disponible pour un organisme donné. La fraction de métal biodisponible dans un sol n'est pas la même selon que l'on s'intéresse à une bactérie, une plante ou un ver de terre. La biodisponibilité est donc relative à l'organisme considéré, mais également à son stade de développement, et à d'autres paramètres externes (Lebourg et al, 1996).

La phytodisponibilité, disponibilité pour les plantes, est la fraction biodisponible la plus souvent étudiée, car la plus facile à quantifier. En effet, les plantes absorbent les métaux par leur racine, tandis que les organismes du sol en plus d'être en contact direct avec les polluants peuvent en ingérer, d'où la difficulté de déterminer la fraction biodisponible pour de tels organismes.

Il est admis que la mobilité et biodisponibilité d'un élément dépendent de sa spéciation (Brümmer et al, 1986).

### ***Techniques d'étude du comportement des métaux dans le sol***

Différentes techniques chimiques et physiques sont utilisées pour déterminer la répartition des éléments traces métalliques dans le sol.

#### ***Les extractions chimiques***

Ces méthodes permettent de spécifier des compartiments, en fonction du réactif utilisé et de la procédure d'extraction. Les éléments d'un sol sont alors fractionnés au moyen de réactifs

chimiques ou de solvants, désignés pour extraire les éléments liés ou associés à une phase ou à un composant particulier (Ure, 1991). Cinq phases sont généralement retenues (Tessier et al, 1979, Sposito et al, 1982, Emmerich et al, 1982, Ure, 1991, Lebourg et al, 1996): (1) la fraction échangeable, (2) la fraction liée aux carbonates, (3) la fraction liée aux oxydes et hydroxydes de Fer, (4) la fraction liée à la MO et (5) la fraction résiduelle.

**1- La fraction échangeable** correspond à la quantité de métal qui peut être extraite du sol par échange cationique, c'est-à-dire les métaux adsorbés sur les sites d'échanges d'argiles, de la MO et des oxydes de Fer et de Mg.

**2- La fraction liée aux carbonates** correspond aux constituants solubles en milieu acide. Il s'agit essentiellement des carbonates d'où le nom de fraction liée aux carbonates donné à cette fraction. Les ETM présents dans le sol précipitent avec les carbonates et sont susceptibles d'être relargués lorsque les conditions physico-chimiques évoluent (acidification).

**3- La fraction réductible** correspond aux **métaux associés aux oxydes et hydroxydes de Fer ou/et de Manganèse**. Certains auteurs (Zachman et Block, 1994) font la différence entre la fraction dite "facilement réduite" (oxydes de manganèse et oxydes amorphes de fer) et la fraction "modérément réduite" (oxydes cristallisés de fer). D'autres auteurs différencient les oxydes de manganèse, des oxydes amorphes de fer, et des oxydes cristallisés de fer (Krishnamurti et al, 1995).

**4- La fraction oxydable** correspond aux ETM liés à la MO et aux sulfures.

**5- La fraction résiduelle** correspond aux métaux incorporés dans les minéraux du sol.

Il existe différents schémas d'extraction. Ainsi, lorsqu'une seule extraction est pratiquée sur un échantillon, elle est qualifiée d'extraction simple. En revanche si plusieurs extractants sont utilisés successivement sur un même aliquote de sol, il s'agit d'une extraction séquentielle (Lebourg et al, 1996). L'extraction est suivie du dosage de la totalité de l'élément passé en solution.

Les extractions séquentielles bien que couramment utilisées font l'objet de nombreuses critiques. La validité des résultats obtenus est mise en cause. En effet, chaque solution d'extraction est susceptible d'agir sur plusieurs fractions du sol, donc pas aussi sélectivement que prévue (Lebourg et al, 1996, Bermond et Malenfant, 1990). De plus, lors de la mobilisation d'une forme chimique d'un métal, il se produirait une redistribution de ce métal dans les diverses fractions du sol, les résultats se trouvant ainsi biaisés (Lebourg et al, 1996).

Pour répondre à ces critiques, un autre schéma d'extraction est utilisé : les extractions dites parallèles. Chaque extraction est réalisée sur un échantillon de sol brut. Les erreurs de mesures sont limitées et le manque de spécificité des réactifs est compensé par l'attaque simultanée de plusieurs phases, avec les réactifs appropriés.

Les formes chimiques les plus mobiles sont la fraction échangeable et la fraction liée à la MO (Davis, 1984). Certains auteurs ne s'intéressant qu'au problème de toxicité des ETM vis-à-vis de organismes du sol se contentent d'extraire les métaux présents dans ces deux fractions (Sposito et al, 1982 ; Brown et al, 1984).

### *Les fractionnements physiques*

Plus récemment, des techniques de fractionnement physique ont été utilisées pour étudier la dynamique des éléments traces métalliques (Ducaroir et Lamy, 1995 ; Balabane et al, 1999, Besnard et al, 2001, Flores-Velez, 1996). Ces techniques ont été employées avec succès pour étudier la dynamique de la MO (Andreux et al, 1980, Balesdent et al, 1988, Elliot et Cambardela, 1991, Christensen, 1992). Les différents compartiments sont alors définis selon des caractéristiques physico-chimiques (Lamy et al, 1999). Des classes de particules peuvent être séparées en fonction de leur granulométrie, leur densimétrie ou leurs propriétés magnétiques. Ces différents compartiments ont des propriétés voisines en terme de nature et de réactivité. Ces méthodes sont rapides et non destructrices, conservant au mieux les liaisons métal-phase " hôte " du milieu sol.

Il existe différents types de fractionnements qui ont chacun une spécificité bien précise.

Le fractionnement granulo-densimétrique s'intéresse plus particulièrement aux relations des métaux avec la MOP (Matière Organique Particulaire<sup>1</sup>). En effet, bien que les fractions fines restent le compartiment le plus réactif, la contribution des fractions grossières est non négligeable. Ces MOP contenant les formes les moins stables de la matière organique des sols, elles constituent un pool à risque (Balesdent et al, 1988).

Le fractionnement granulo-magnétique, lui, s'applique aux particules plus denses telles que les phases minérales. Il contribue à l'identification des phases porteuses des métaux et à l'estimation de leur stabilité, suivant la répartition des métaux en fonction des classes de taille de particules et de leurs propriétés magnétiques.

---

<sup>1</sup> Les MOP sont des particules organiques grossières > 50 µm (Christensen, 1992). Elles sont constituées essentiellement de débris végétaux plus ou moins décomposés, mais également de spores, de graines d'hyphes mycéliens, et parfois de petits organismes et particules de charbon.



### ***Interactions Métaux-Lombriciens***

L'importance des lombriciens dans le brassage du sol est reconnue par Darwin dès 1881. Ces organismes « ingénieurs » (Stork et Eggleton, 1992 ; Lavelle, 1997) modifient les propriétés physico-chimiques du sol, favorisant ainsi les activités microbiologiques.

Bouché (1972) classe les lombriciens selon trois catégories écologiques : les épigés, les anéciques, les endogés. Ces différentes catégories se définissent d'abord par la localisation en profondeur, le régime alimentaire mais aussi en fonction de la qualité des ressources trophiques et des contraintes biotiques (prédation...) et abiotiques (le climat...) et par des caractères anatomiques tels que la pigmentation de l'épiderme.

Les **épigés** (Bouché, 1977 ; Lee, 1985) sont de petite taille (10 à 30 mm en général) et vivent généralement dans la litière ingérant peu de matière minérale. Ils peuvent être classés en plusieurs groupes selon la MO dont ils se nourrissent : les staminicoles (litière), les corticoles (écorce et tronc d'arbre en décomposition, compost et fumier), les détritiphages (déchets organiques divers) et les coprophages (déjections de mammifères) (Bouché, 1977, Lee, 1985). Ces espèces, localisées en surface, sont particulièrement sensibles à la prédation, aux variations climatiques et aux facteurs anthropiques et à la disparition des horizons organiques par le labour et l'usage des traitements phytosanitaires.

Les **anéciques** (Bouche, 1977) sont des vers de taille moyenne à géante (10 à 110 cm), vivant dans des galeries verticales à subverticales plus ou moins ramifiées s'ouvrant en surface. Ces vers assurent un mélange intime de la matière organique avec la fraction minérale par leurs diverses activités d'ingestion, de transfert et d'excrétion de la MO à travers leurs galeries et forage de galeries.

Ces espèces, localisées sur toute la hauteur du profil de sol, sont sensibles aussi aux travaux mécaniques du sol et aux intrants.

Les **endogés** (Bouché, 1977) sont de taille variable (1 à 20 cm) et creusent des galeries d'orientation quelconque. Ils se nourrissent de la MO incorporée dans la matrice sol et doivent parcourir les horizons du sol pour satisfaire leur besoin alimentaire. Lavelle (1981) précise cette classification en fonction de la richesse en MO du milieu où le ver évolue. Se distinguent, les oligohumiques (c'est-à-dire vivant dans des milieux pauvres en MO), les polyhumiques (milieux riches en MO) et les mésohumiques (milieux intermédiaires)

L'impact des lombriciens sur le sol varie selon leur catégorie écologique. Les endogés et les

anéciques sont les plus influents (Shaw et Pawluck, 1986 ; Brown, 1998). Les lombriciens modifient les propriétés physico-chimique du sol créant ainsi une sphère d'influence particulière appelée drilosphère (Shuster et al, 2001 ; Lee, 1985 ; Edwards et Bohlen, 1996 ; Tiunov et Scheu, 1999). Les turricules (déjections des vers laissées en surface) et les galeries constituent des microsites particuliers qui comparés au sol environnant présentent un enrichissement en C, N et autres nutriments (P, K, Mg, NH<sub>4</sub>, ...)(Lunt et Jacobson, 1944 ; Parle, 1963 ; Syers, 1979, Parkin et Berry, 1999), une texture et structure différentes (Shipitalo et Protz, 1989 ; Zhang et Schrader, 1993 ; Gorres et al, 2001) et sont le siège d'une importante activité microbienne (Parle, 1963 ; Syers et al, 1979 ; Shaw et Pawluck, 1986 ; Parkin et Berry, 1999). De plus les galeries creusées par les lombriciens constituent des voies préférentielles d'écoulement des eaux entraînant ainsi divers particules (Ehlers, 1975 ; Zachmann et al, 1987 ; Syers et Springett, 1983 ; Shipitalo et al, 1994).

Les turricules et parois de galeries sont le siège de diverses réactions et processus physiques, chimiques et biologiques influençant ainsi le cycle biogéochimique de certains éléments majeurs tels que l'azote (Binet, 1993 ; Parkin et Berry, 1999), le carbone (Lee, 1985, Jégou, 1998 ; Shuster et al, 2001), et le phosphore (Chapuis-Lardy et al, 1998 ; LeBayon, 1999) et la dynamique des éléments traces métalliques (Tomlin et al, 1993 ; Abdul Rida, 1996 ; Devliegher et Verstraete, 1997).

### ***Impacts des métaux sur les lombriciens***

Les lombriciens peuvent être sensibles aux teneurs en éléments traces métalliques présent dans le sol, cette sensibilité vis-à-vis des métaux fait dès 1973 (Gish *et al*), ils sont utilisés comme bioindicateur de pollution aux éléments traces métalliques.

L'augmentation de la teneur en métaux d'un sol peut influencer sur la densité lombricienne (Pizl & Josen, 1995), la croissance pondérale (Van Rhee, 1975, Abdul Rida, 1996), la production de cocon (Lee, 1985 ; Cortez et al, 1989 ; Abdul Rida, 1996, Bain et al, 1999, Spurgeon et Hopkin, 1999). Prenons l'exemple du zinc, Spurgeon *et al.* (1999) ont observé une réduction significative du taux de survie de 4 espèces lombriciennes pour des concentrations en zinc comprises entre 2000 et 3600 ppm. De plus, ils ont également observé des pertes significatives de poids à partir de 1200 et 2000 ppm de zinc.

De même, la capacité des lombriciens à accumuler les métaux est reconnue dès la fin du 19ème siècle (Hogg 1895 in Hopkin, 1989). Selon Van Hook (1974), il y a accumulation lorsque le rapport de concentration de métal dans les tissus sur la concentration du métal dans

le sol est supérieur à 1. Les rapports d'accumulation chez les lombriciens varient entre 16,0 pour le cadmium, 4,1 pour le zinc, 1,1 pour le cuivre, 0,5 pour le nickel et 0,4 pour le plomb (Van Hook, 1974 ; Van Rhee, 1977 ; Czarnowska et Jopkiewicz, 1978 ; Abdul Rida, 1996 ; Kenette et al, 2002):

De nombreuses études ont permis d'identifier les paramètres dont dépend ce processus de bioconcentration : (1) l'espèce lombricienne et sa catégorie écologique (Ireland, 1979; Ash et Lee, 1980 ; Ireland et Richards, 1981), (2) la saison (Ireland et Wooton, 1976), (3) l'élément trace (Ma, 1982 ; Marinio et al., 1992 ; Abdul Rida, 1996), (4) les propriétés physiques et chimiques du sol (Smith, 1996,) et (5) quand il s'agit d'une pollution diffuse, la distance à la source de contamination (Gish et Christensen, 1973).

Les éléments traces métalliques se trouvent accumulés dans des cellules appelées chloragocytes. Le tube digestif est tapissé d'un tissu formé par un assemblage de cellules : les chloragocytes. Ce tissu accumule les déchets produits lors de la digestion. Ces déchets, pouvant inclure les métaux comme le plomb ou le cadmium, sont alors stockés dans les chloragocytes sous la forme de granules ou chloragosomes (Ireland et Richard, 1981). Un chloragosome isolé possède des propriétés d'échange cationique et anionique qui lui permettent d'absorber et d'immobiliser certains éléments tels que le Pb (Ireland, 1978). Le chloragosome joue un rôle primordial dans la concentration de certains éléments traces (Ireland, 1983). L'élimination du Pb et du Cd peut être faite par les corps bruns ou par autotomie. Les granules formés lors de l'adsorption des métaux dans les chloragosomes sont déchargés dans la cavité coelomique et peuvent alors être excrétés via les néphridies ou stockés dans des nodules. Dans le cas de certaines espèces, les nodules stockés dans la partie postérieure du vers, peuvent être perdus par autotomie (Andersen et Larsen, 1982).

L'accumulation et la toxicité des métaux issus de boues de station d'épuration vis-à-vis des lombriciens est très variable pour une même espèce (Suzuki et al, 1980, Kruse et Barrett, 1985, Barrera et al, 2001). Les boues, de composition hétérogène, contiennent de la matière organique à laquelle se complexent les métaux. Les métaux ainsi complexés sont moins disponibles pour les lombriciens (Hartenstein et al, 1981). Ainsi, l'étude de l'accumulation des métaux dans les tissus des lombriciens pourrait être un bon indicateur de disponibilité des métaux dans le sol (Lanno et Mc Carty, 1997 ; Conder et Lanno, 2000 ; Conder et al, 2001 ; Oste et al, 2001).



### ***Impacts des Lombriciens sur les métaux***

Quelques études traitent également de l'impact des lombriciens et de leurs activités sur la dynamique des ETM dans le sol. Diverses notions vis-à-vis des métaux comme leur solubilité (Hartenstein et al, 1980, l'extractibilité (Helmke et al, 1979), leur biodisponibilité (Abdul Rida 1996 ; Devliegher et Verstraete, 1997), ont été étudiées en présence de lombriciens. Les résultats obtenus sont contradictoires : selon Ireland (1975), la disponibilité des ETM augmente dans les turricules tandis que pour Hartenstein (1980), elle ne varie pas. Devliegher et Verstraete (1995) montrent que la disponibilité du cuivre et du manganèse augmente en présence de lombricien alors que la disponibilité du zinc ne varie pas. L'hétérogénéité des résultats obtenus lors de ces études est liée à divers critères comme la nature des sols, les espèces lombriciennes, la source d'apport des métaux (boues, sel, lisier, ...), l'élément trace, ainsi que la notion abordée (disponibilité, biodisponibilité, extractibilité, ect...) et l'extractant utilisé. Selon Abdul rida (1996), le rôle de ces organismes dans la mise à disposition des éléments traces pour les plantes est très modeste dans les sols contaminés.

### ***Les différents niveaux d'étude***

Les activités lombriciennes peuvent être étudiées à différentes échelles d'expérimentation : au champ, et en mésocosmes ou microcosmes au laboratoire. Chaque niveau d'investigation présentant ses avantages et ses contraintes.

#### ***Au champ***

Les approches expérimentales au champ sont bien sur celles qui se rapprochent le plus de la réalité. Cependant, les approches expérimentales réalisées au champ doivent tenir compte de variations journalières et saisonnières de nombreux paramètres, comme la température et la photopériode susceptibles d'influer sur les résultats. L'hétérogénéité de la matrice sol (hydromorphie, ...) est également un paramètre non négligeable dans les études aux champs. De plus, les facteurs abiotiques (humidité, température) et biotiques (interactions entre diverses espèces) influencent les activités lombriciennes (Kretzschmar, 1989; Binet, 1993). Il faut pouvoir les quantifier et les contrôler.

#### ***Au laboratoire***

Les études en microcosmes permettent de s'affranchir d'un certains nombres de contraintes comme la température, la photopériode et l'humidité ambiante qui peuvent être contrôlées. De plus, au laboratoire les échantillons obtenus peuvent être parfaitement identifiés. Les

turricules observés sur le terrain sont difficilement attribuables à une espèce précise. L'utilisation de dispositifs expérimentaux permet donc via le contrôle des individus introduits de pouvoir identifier parfaitement « l'origine » du turricule.

L'utilisation de microcosmes présente certains inconvénients : effet bordure, artefacts liés au tassement, domaine vital réduit, ect... De plus, les résultats obtenus lors de tests en microcosmes ne sont donc pas directement extrapolables au champ, car les volumes prospectés sont trop restreints et la nature des combinaisons de facteurs très sensiblement modifiée. Il n'en reste pas moins que l'approche analytique expérimentale en microcosmes est très appropriée à une approche mécanistique de la dynamique des polluants, pourvu qu'elle serve à élaborer un modèle qui sera susceptible d'être ultérieurement validé dans des situations plus comparables aux situations réelles.

### ***Problématique***

Un programme de recherche intitulé Valorisation Agricole des Déchets et produits dérivés « VADETOX » a été mis en place par l'ADEME en 1995. Ce programme vise à évaluer les risques écotoxicologiques liés à l'épandage de déchets sur différents organismes du sol. Les plantes, la faune du sol (lombricien), la faune épigée (coléoptères), et les micro-organismes (daphnies, mycorhize, micro algues) sont utilisés comme indicateurs potentiels de pollution. Il est apparu alors important de tenter d'évaluer l'impact rétroactif des ces organismes sur les polluants. Dans ce contexte, nous avons voulu appréhender l'impact potentiel des activités fouisseuses lombriciennes sur la dynamique (biodisponibilité, mobilité) des ETM issus de boues de station d'épuration.

Nous nous intéressons à répondre aux questions suivantes :

- (1) La distribution chimique et physique des ETM est-elle modifiée par les activités lombriciennes en particulier dans les microsites d'origine lombricienne (turricule et parois de galeries) ? Ces microsites réagissent-ils différemment du sol environnant ?
- (2) Les galeries constituent-elles des voies préférentielles de transfert des ETM vers les horizons de profondeur et une interface chimique modifiant la qualité des eaux de percolation ?
- (3) Quelle est la participation des microsites au bilan global de mobilité des ETM dans le sol ?

De manière à apporter des éléments de réponses à ces questions, nous avons mis en place des expérimentations au laboratoire en microcosmes. Les boues, artificiellement dopées en ETM, ont été fournies par le programme VADETOX. Deux expériences ont été réalisées :

La première expérience a été mise en place afin d'observer les modifications de spéciation des éléments traces métalliques au sein des compartiments issus des activités lombriciennes (turricule, parois de galeries).

Ce qui, **dans un premier temps**, nous a permis d'étudier la redistribution des ETM dans différents compartiments du sol, en présence ou non de boue et avec ou sans lombriciens.

La deuxième expérimentation avait pour objectif de déterminer la qualité des eaux de percolations en présence de lombricien. Des bilans de flux de carbone organique dissous (COD) et d'éléments traces métalliques seront dressés pour un système pollué (avec boue) et un système Témoin non pollué (sans boue).

**Dans un deuxième temps**, nous nous sommes intéressés à l'influence des lombriciens sur la qualité des eaux de percolation (charge en ETM et Carbone Organique Dissous COD)

Avant de traiter ces deux points, nous dresserons un bref bilan de l'état des lombriciens en fin d'expérimentation, par l'étude des paramètres biodémographiques tels que la survie et l'évolution pondérale et d'autres paramètres (production de turricules).

En conclusion, nous essayerons de dresser un bilan global des exportations des ETM en présence de lombriciens. Ces bilans permettront de contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes intervenant dans la redistribution des ETM dans les sols et plus particulièrement au niveau des microsites d'origine lombricienne.

## CHAPITRE II

### MATERIELS ET METHODES

### **1. CONDITIONS EXPERIMENTALES**

#### **1.1- Le sol**

Le sol provient d'une parcelle expérimentale située à la Bouzule près de Nancy appartenant à l'ENSAIA<sup>2</sup>. Le site de la Bouzule sert de plate-forme expérimentale au programme national ADEME<sup>3</sup> intitulé « Evaluation des risques écotoxicologiques liés à la valorisation agricole des déchets et produits dérivés » (Shwartz et al, 2000). Il a également été reconnu comme plate-forme expérimentale dans le cadre du programme GESSOL du Ministère de l'Environnement. Le domaine expérimental de la Bouzule est situé à 12 km au nord Est de Nancy sur le plateau Lorrain. Le sol de texture limono-argileuse est prélevé dans les horizons situés entre 20 et 40 cm de profondeur. Ses principales caractéristiques sont décrites dans le tableau II.1 (Shwartz et al, 2000).

Après prélèvement, le sol est tamisé à 2mm puis séché à l'air libre. Un tamisage à 2mm permet le calibrage et l'élimination des débris végétaux.

---

<sup>2</sup> ENSAIA : Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires.

<sup>3</sup> ADEME : Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie.



*Tableau II.1* Caractéristiques physico-chimiques de l'horizon AP du sol de la Bouzule  
(Shwartz et al, 2000)

Granulométrie 5 fractions	%	
Argiles		32
Limens fins		41,4
Limens grossiers		16,8
Sables fins		3
Sables grossiers		7
Carbone (C) organique méthode Anne	g/kg	16.5
Matière organique	g/kg	28.4
Azote (N) organique total méthode Kjeldhal	g/kg	1.78
Rapport C/N		9.27
pH eau		7.4
Calcaire (CaCO <sub>3</sub> ) total		2
Phosphore (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) méthode Joret Hebert	g/kg	0.135
CEC	meq/kg	142
Calcium (Ca) échangeable	meq/kg	146
Sodium (Na) échangeable	meq/kg	0.38
Magnésium (Mg) échangeable	meq/kg	10.6
Potassium (K) échangeable	meq/kg	5.33
Cuivre (Cu) total HF -ICP-MS	mg/kg	21.6
Fer (Fe) total HF-ICP-MS	mg/kg	485
Zinc (Zn) total HF-ICP-MS	mg/kg	130
Nickel (Ni) total HF-ICP-MS	mg/kg	61
Plomb (Pb) total HF-ICP-MS	mg/kg	48.5
Cadmium (Cd) total HF-ICP-MS	mg/kg	0.84

## 1.2- La boue de station d'épuration (BSE)

Dans le cadre du programme ADEME « VADETOX » (valorisation agricole des déchets et produits dérivés), différentes matrices déchettaires ont été étudiées. La boue utilisée est une boue déshydratée, appelée B3.2, issue d'une boue liquide initiale B1 qui provient d'une station d'épuration urbaine. Cette boue B3.2 a été artificiellement dopée en ETM via l'apport de sels selon un procédé IRH<sup>4</sup>. Les polluants minéraux (Zn, Cu, Pb, Ni, Cd) sont apportés à la boue B1 sous forme d'une solution aqueuse avant l'étape de déshydratation par filtre à bande. Les concentrations finales ont été fixées pour tenir compte des teneurs de référence dans les boues épandues en agriculture (Décret du Ministère de l'Environnement du 08/12/97). Les teneurs en zinc, plomb et cadmium de la boue B3.2, sont supérieures aux teneurs limites autorisées en deçà desquelles la boue est impropre à l'épandage (tableau II.2).

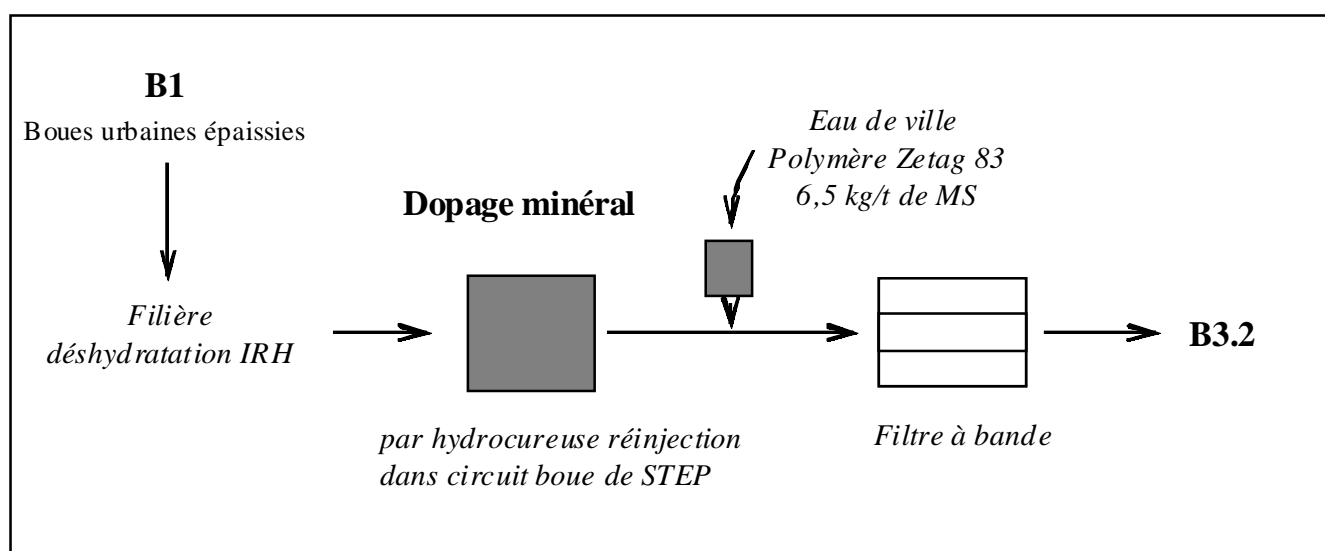


Figure II.1 Filière d'obtention de la boue B3.2

(d'après Bispo et Jourdain, 1998)

<sup>4</sup> IRH : Institut de Recherche Hydrologique.

*Tableau II.2* Teneurs en métaux de la boue B3.2 et teneur limites dans les boues fixées par l'arrêté du 8 janvier 1998 exprimées en mg/kg de matière sèche (MS)

	B3.2	Valeur limite Arrêté du 8/01/98
Cuivre (mg/kg de MS)	939	1000
Plomb (mg/kg de MS)	909	800
Zinc (mg/kg de MS)	3643	3000
Nickel (mg/kg de MS)	246	200
Cadmium (mg/kg de MS)	26,9	10

**Valeurs limites fixées par l'arrêté du 8 janvier 1998 qui fixent les prescriptions techniques applicables aux épandages de boue sur les sols agricoles.**

*Tableau II.3* Composition chimique de la litière de Ray grass utilisée

	% Carbone	% Azote	C/N	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Litière	41,4	1,2	34,75	5,29	< détection	2,8	44,3

### **I.3 - La ressource trophique**

La ressource trophique mise à disposition des vers est constituée de graminées prairiales séchées prélevée sur une parcelle du Rheu située près de Rennes (35). La composition chimique de cette « litière » est donnée dans le tableau II.4. Elle a été réalisée par le laboratoire d'analyse des sols de Arras. La litière séchée est découpée en petits morceaux et déposée en surface des microcosmes chaque semaine. Le dépôt de litière se fait à chaque fois sur des zones différentes de façon à ce que toute la surface du sol se trouve en contact au moins 1 fois avec la litière.

La quantité de litière apportée est inférieure à la consommation journalière estimée à 0.011g/g de ver/jour (Lee, 1985 ; Edwards et Lofty, 1977, Jégou, 1998) afin d'obliger les lombriciens à se nourrir de la MO du sol.

Lors de l'expérimentation 1 « Redistribution des ETM dans les biostructures », un jeun de 2 mois est imposé aux vers afin qu'ils se nourrissent de la MO du sol. Suite à ces deux mois de privation, une quantité correspondant à 0.01g/ g de ver/jour de litière est déposée en surface de chaque microcosme.

Lors de l'expérimentation 2 « Qualité des eaux de percolation », un pool minimum de 0.006mg/g/jour de litière est fournie aux lombriciens dès le début de l'expérimentation.

### **I.4 - Le matériel biologique**

Deux espèces lombriciennes, appartenant à la catégorie écologique des anéciques (Bouché, 1984) sont utilisées : *Lumbricus terrestris* et *Nicodrilus giardi*. Ce choix repose sur différents critères et travaux antérieurs comme :

- leur importance dans les processus de brassage et de redistribution de la MO sur l'ensemble du profil de sol (Edwards et Lofty, 1977 ; Shipitalo et al, 1994 ; Tiunov et Scheu, 1999).
- leur importance en terme de fréquence dans les agrosystèmes (Bouché, 1972 ; Boström, 1988 ; Binet, 1993).
- leur plus ou moins grande sensibilité aux activités humaines (Cluzeau et al, 1987 ; Edwards et Bohlen, 1996), leurs aptitudes biodémographiques (Cluzeau, 1992 ; Bohlen et al, 1997) et leurs impacts pédogénétiques (Jégou et al, 1998 ; Subler et Kirsch, 1998).

#### 1.4.1 Lumbricus terrestris

*Lumbricus terrestris* (Linné, 1758 in Bouché, 1972) présente une pigmentation rouge pourpre. Il mesure entre 130 et 250 mm de long et son poids est situé entre 5 et 15g (Bouché, 1972). Cette espèce est considérée comme épianécique : elle a un comportement épigé quand la litière est présente en grande quantité et un comportement anécique quand celle-ci est en faible quantité.

Cette espèce est particulièrement étudiée car elle est présente dans la majorité des sols en zone tempérée.

#### 1.4.2 Nicodrilus giardi

*Nicodrilus giardi* (Savigny, 1826) est un anécique strict ou typique (Bouché, 1972). Il présente une pigmentation brun-noir foncé, sa longueur est comprise entre 150 et 250 mm pour un poids situé en 1.5 et 3.1 g. Cette espèce a une activité fousseuse très importante (Jégou, 1998).

Les vers sont récoltés sur une parcelle expérimentale du Lycée agricole de Le Rheu (35). Ils sont capturés par la méthode formol (Raw, 1959) puis rincés plusieurs fois à l'eau. Les vers issus d'un sol différent de celui de l'expérimentation sont placés en quarantaine dans du sol de la Bouzule.

Des lots de 3 vers sont constitués avant introduction dans les microcosmes. Les lots sont réalisés de telle façon que la biomasse inter-microcosme ne présente que des écarts inférieurs à 1g.

### **1.5 Dispositif expérimental : les microcosmes**

Les microcosmes sont des cylindres de PVC de 30 cm de haut et de 15 cm de diamètre intérieur (figure II.1). Ils contiennent la colonne de terre devant accueillir les vers. Ils sont recouverts d'un voile pour limiter la fuite des vers. En dessous, une toile grillagée de Nylon retient la colonne de terre, tout en permettant une bonne évacuation de l'eau. Les eaux de percolation sont collectées dans des bacs, placés au dessous de chaque microcosme.

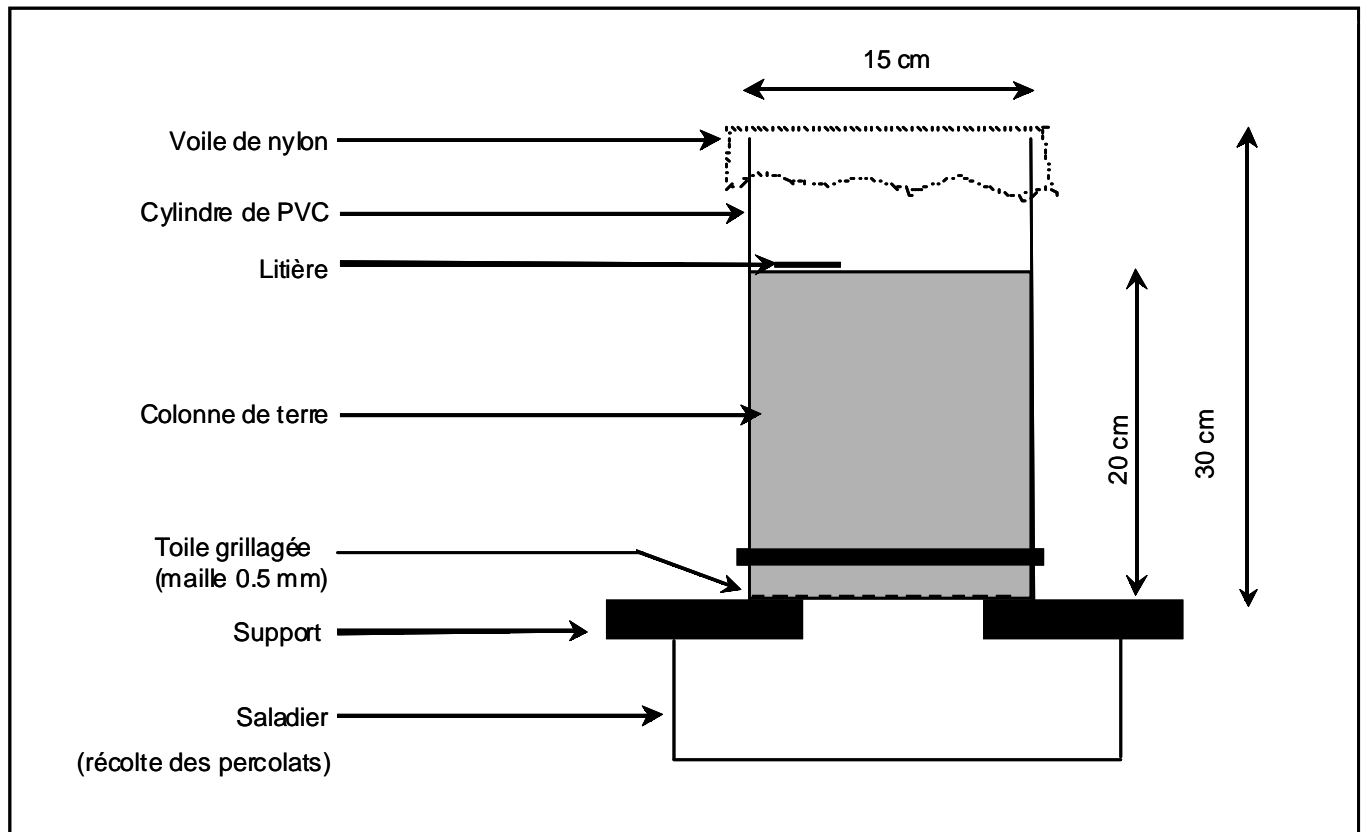


Figure II.2 Schéma d'un microcosme (coupe longitudinale)

Tableau II 4 Conditions expérimentales des 2 expérimentations

	Sol	Boue	Ver	Litière	Durée (jours)
Expérimentation 1	Bouzule	B3.2	<i>L.terrestris</i>	Après 2 mois d'incubation	240
Expérimentation 2	Bouzule	B3.2	<i>L.terrestris</i>	Dès le début	60

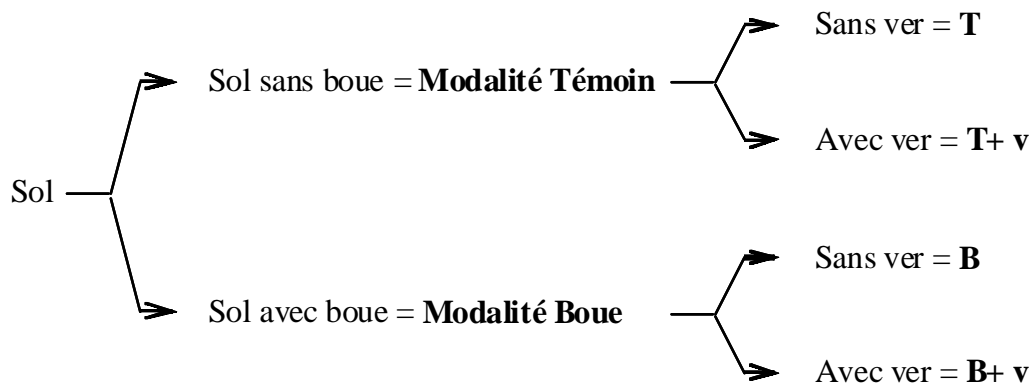


Figure II.3 Diagramme récapitulatif des différentes modalités

### **I.6 Reconstitution de la colonne de sol**

Le sol est réhumidifié avec de l'eau distillée (30 % du poids sec à 105°C), introduit et compacté artificiellement dans les microcosmes. Le sol est compacté par couche de 4 cm d'épaisseur, de façon à obtenir une densité d'environ 1,4. La colonne de sol constituée par 5kg de sol mesure 20 cm de hauteur.

Deux modalités sont construites : une modalité Témoin, sans boue et une modalité Boue.

Afin d'accentuer ses effets toxiques potentiels, la quantité de boue apportée correspond à deux fois la dose terrain qui est de 15 t de MS (matière sèche) / ha / an : soit 40 g de MS pour la surface du microcosme (0.017m<sup>2</sup>). La boue ne représente que 2% du poids total du mélange sol + boue. Ce faible rapport qui correspond cependant à deux fois la dose terrain sera susceptible de limiter certains résultats et observations. L'apport de boues, au champ est raisonné en fonction de la quantité d'azote : il doit être en règle générale compris entre 1 et 2 kg de MS / ha. Dans le cadre de notre expérimentation, nous ne nous sommes pas intéressés à l'azote mais aux ETM. C'est pourquoi l'apport d'azote, dans le cas de notre expérimentation est de 7 à 15 fois supérieur à la pratique usuelle.

L'apport de boue est localisé uniquement dans les 10 premiers centimètres de la colonne où elle est grossièrement mélangée au sol.

Le choix d'incorporer la boue uniquement dans les 10 premiers centimètres respecte la réalité terrain. Pour les mêmes raisons, le mélange de la boue au sol est réalisé de façon grossière : des boulettes de boues vont subsister dans l'horizon d'incorporation.

Pour chaque modalité, un traitement avec ver et un traitement sans ver est réalisé, chaque traitement comprenant 3 répétitions.

#### I.6.1 Expérimentation 1 (Redistribution des ETM dans les biostructures)

L'expérimentation 1 est réalisée avec le sol de la Bouzule, la boue et les deux espèces lombriciennes : *Lumbricus terrestris* et *Nicodrilus giardi*.

#### I.6.2 Expérimentation 2 (Qualité des eaux de percolation)

L'expérimentation 2 est réalisée avec le sol de la Bouzule, la boue et *Lumbricus terrestris*.

Les microcosmes sont placés dans une chambre climatisée et ventilée. La température moyenne est de 12°C, et la photopériode 12 heures jour/12 heures nuit est appliquée au système. Un arrosage régulier de 50ml d'eau distillée est réalisé deux fois par semaine. Ce volume d'eau ajouté 2 fois par semaine a été choisi en fonction de la demande en percolats des analyses (Carbone Organique Dissous, et Eléments traces métalliques).

L'incubation a duré 240 jours dans le cas de l'expérience 1 et 60 jours dans le cas de l'expérience 2.



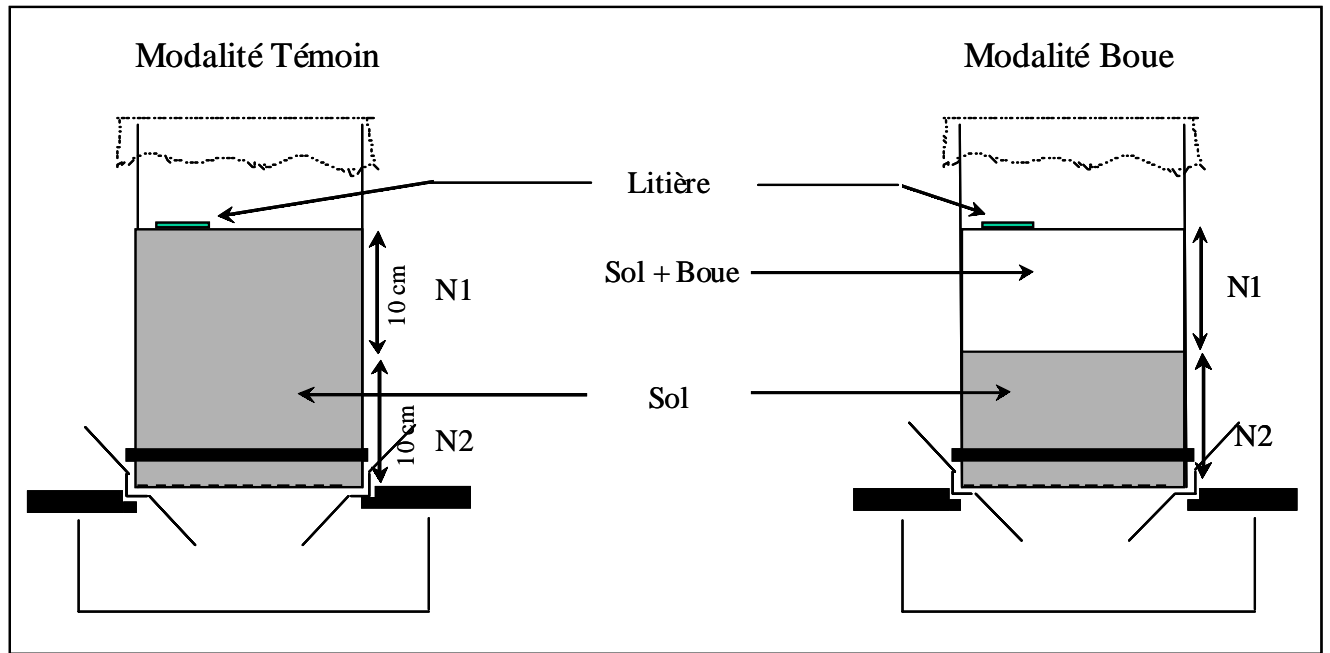


Figure II.4 Les modalités expérimentales

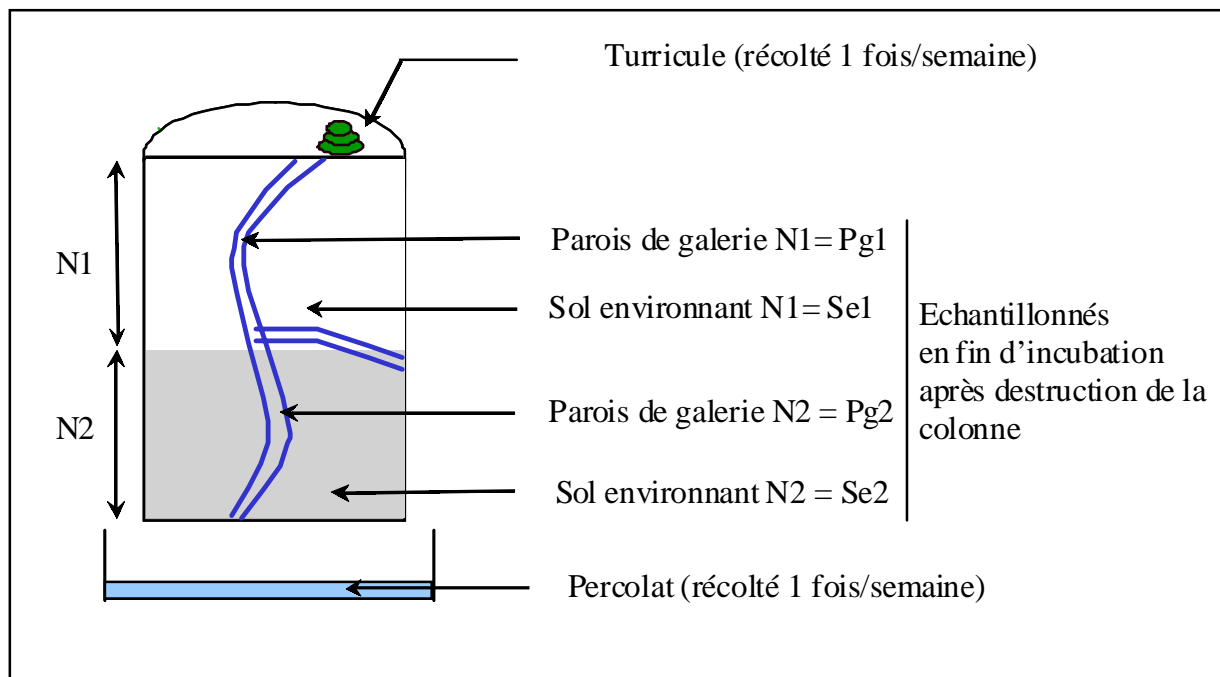


Figure II.5 Les compartiments étudiés

## **2. LES COMPARTIMENTS ETUDIÉS**

### **2.1 Les turricules**

Les turricules, déjections produites par les vers et laissées en surface, sont récoltées toutes les semaines. Ils sont pesés, séchés à l'air libre puis stockés en chambre froide à 5°C.

### **2.2 Les parois de galeries et le sol environnant**

En fin d'expérimentation, les colonnes de sol sont détruites afin d'échantillonner les parois de galeries et le sol environnant. La colonne de sol est démoulée et divisée en deux niveaux :

- Le niveau N1 correspond aux 10 premiers centimètres de la colonne de sol. Pour les modalités boue, ce niveau correspond à la zone d'apport de boue.
- Le niveau N2 correspond aux 10 derniers centimètres de la colonne de sol (10 - 20 cm). L'analyse des teneurs en ETM dans les galeries et dans le sol environnant de ce niveau permettra de mettre en évidence l'existence ou non d'une redistribution des métaux sur le profil de la colonne de sol.

Les parois de galeries des lombriciens sont échantillonnées dans les différents niveaux.

L'échantillon est prélevé sur les 2 premiers mm de la paroi, cette zone étant plus riche en carbone que la périphérie des galeries (2 -4 mm) (Bouché, 1975 ; Jégou, 1998; Tiunov et Scheu, 1999).

Les parois sont échantillonnées au moyen d'une fine spatule, elles sont mises à sécher à l'air libre puis tamisées à 2mm.

Le sol environnant correspond au sol situé à au moins 2 cm de toute trace d'activité lombricienne. Il est mis à sécher à l'air libre, tamisé à 2mm. De même que pour les parois de galeries, il est échantillonné dans les deux niveaux N1 et N2.

### **2.3 Les percolats**

Les eaux de percolations sont récoltées chaque semaine le lendemain de l'apport d'eau distillée. Les percolats sont filtrés à 0.45 µm et stockés en chambre froide (5°C) dans des piluliers en polypropylène. Ces échantillons sont séparés en deux : ceux destinés aux analyses de carbone organique dissous et ceux destinés aux analyses d'éléments traces métalliques. Les échantillons destinés au dosage des éléments traces métalliques sont acidifiés par de l'acide nitrique HNO<sub>3</sub> concentré (1 mg d'acide pour 20 mg d'eau) de façon à obtenir un pH d'environ

1. Les échantillons destinés au dosage de carbone organique dissous ne subissent aucun traitement particulier. Les eaux de percolations sont volumées à l'aide d'une burette graduée.

### **3. LES ANALYSES**

3.1 Dosage du carbone organique dissous et des éléments traces métalliques dans les percolats  
Le carbone organique dissous est dosé par un analyseur de carbone (Shimadzu TOC 5050A).

Les éléments traces métalliques sont dosés par ICP-MS (Inductively coupled plasma - Mass spectrometers) (Agilent 4500 Series System Diagram).

Pour le carbone et les éléments traces métalliques, des blancs sont réalisés avec l'eau distillée servant à arroser les colonnes de sol.

Les éléments traces métalliques dosés sont le cuivre, le plomb, le cadmium et le zinc. Ces éléments sont choisis en fonction de leurs propriétés (oligo-éléments ou non) et de leur comportement dans le sol. Ainsi le cuivre et le zinc sont des oligo-éléments mais leur comportement dans le sol diffère : Le cuivre est peu mobile et fortement retenu par la matière organique, alors que le zinc est relativement mobile.

Le plomb et le cadmium ont été choisis en rapport aux problèmes de toxicité qu'ils peuvent engendrer. De plus, le cadmium dont la phytotoxicité est reconnue, est l'un des éléments traces les plus mobiles et est donc susceptible d'être transféré dans les eaux et poser des problèmes de santé humaine.

#### **3.2 Les extractions chimiques**

Les extractions chimiques vont permettre de déterminer si après passage dans le tube digestif du ver ou si après dépôt de mucus ou de déjection pour les parois de galerie, les métaux sont redistribués sur d'autres constituants du sol et deviennent alors plus disponibles ou/et plus mobiles.

Le protocole d'extraction chimique décrit par Romkens (rapport CEA) et utilisé dans le cadre de notre expérimentation est plus simple que celui décrit par Tessier et al. (1979). Seules trois fractions sont retenues au lieu des 5 citées dans le Chapitre I. Ce choix repose sur une simplification des résultats obtenus et ainsi une meilleure lisibilité de l'impact des activités lombriciennes sur la mobilité des ETM.

Les trois principales fractions retenues sont :

➤ **la fraction échangeable**, cette fraction détermine les métaux actuellement disponibles, elle est comparable à la solution du sol.

- **la fraction potentiellement échangeable**, c'est à dire les métaux qui pourront être transférés vers la fraction disponible sous certaines conditions (action bactérienne, modification du pH, de la CEC, du potentiel d'oxydo-reduction...), donc les métaux fixés sur les oxydes ou liés à la matière organique.
- **la fraction résiduelle**, c'est-à-dire les métaux inclus dans la matrice.
- **la teneur totale**.

### 3.2.1 La fraction échangeable

5 g de sol tamisé et séché sont placés dans un tube en polypropylène avec 10 ml de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  et mis en agitation pendant 48 h. La solution est centrifugée à 3000 tr/min pendant 20 mn, le surnageant est filtré sur filtre plissé puis stocké en chambre froide avant dosage.

### 3.2.2 La fraction potentiellement échangeable

Une attaque douce à l'acide nitrique dilué permet d'extraire les éléments traces métalliques présents dans cette fraction. 4g de sol tamisé et séché est placé dans un tube en polypropylène avec 40 ml d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) à 0.43 N et mis en agitation pendant 4 heures. Les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 tr/mn pendant 20 minutes. Le surnageant est filtré sur filtre plissé puis stocké en chambre froide avant dosage.

### 3.2.3 La fraction résiduelle

Les ETM présents dans cette fraction sont déduits de ceux présents dans les fractions échangeable et potentiellement échangeable des teneurs totales.

### 3.2.4 Les teneurs « totales »

Afin de doser les teneurs totales en éléments traces métalliques, le sol est minéralisé dans de l'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  suprapur en four à micro-onde (Fours MARS). A noter qu'avec une attaque au  $\text{HNO}_3$ , les éléments traces métalliques inclus dans la silice ne sont pas minéralisés. Aussi, la teneur en éléments traces métalliques obtenue n'est pas exactement la teneur totale en éléments traces métalliques du sol, mais s'en approche.

05 g de sol et 10 ml d'acide nitrique suprapur sont placés dans des réacteurs en téflon du Four. Le protocole de minéralisation est adapté pour nos échantillons :

- Montée de la température et de la pression pendant 10 mn jusqu'à 200° C et 20 bar
- Maintien pendant 40 minutes à 200° C à une pression de 20 bar
- Refroidissement pendant 10mn (température 120 °C)

- Maintien pendant 40 minutes à 200 °C à une pression de 20 bar
- Fin de cycle refroidissement

Les éléments traces métalliques présents dans chaque fraction extraite sont dosés par absorption atomique (Perkin elmer).

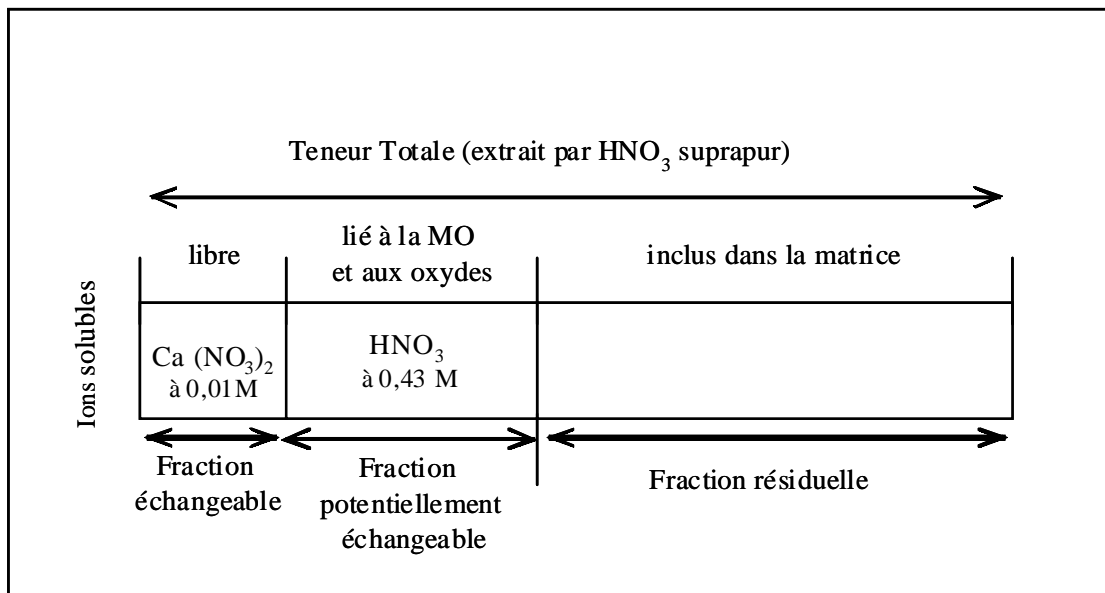


Figure II.5 – Schéma des fractions issues des extractions chimiques d'après Morel (1997)

### **3.3 Le fractionnement granulo-densimétrique**

Le fractionnement granulo-densimétrique est réalisé sur les échantillons de la modalité Bouz/B3.2. Les particules sont séparées selon leur densité et leur taille, sans destruction préalable de la MO. Une séparation classique des particules est choisies : 200 -2000µm (sables grossiers), 100-200 µm (sable moyen), 50 -100 µm sables fins, 20 -50 µm (limons grossiers), 2-20 µm (limons fins), 0 -2 µm (argiles).

#### **3.3.1 Principe du fractionnement granulo-densimétrique.**

Le sol, après tamisage préalable à 2mm, est mis en agitation dans de l'eau (rapport 2/5) pendant 16h. Il est ensuite tamisé sous eau. Les fractions récupérées sont les suivantes : 200-2000µm, 100-200µm, 50-100µm et un jus (2 litres environ) contenant les particules < 50 µm est récupéré.

Les MOP, les matières organiques particulières ou figurées sont séparées de la matière minérale par densimétrie pour les fractions de taille supérieure à 50µm. Les MOP plus légères

que la matière minérale, sont récupérées à partir de ces fractions primaires suivant la méthode de la battée, c'est à dire par tri densimétrique dans l'eau. Les différentes fractions granulométriques et densimétrique ainsi obtenues sont séchées à l'étuve à 40°C

Par la suite, la fraction 0-50µm est soumise à l'action des ultrasons afin de casser les agrégats restant. Le "jus" est alors passé sur un tamis de 20 µm permettant de récupérer la fraction 20-50µm.

La solution contenant les particules < 20µm est ensuite mélangée de façon à remettre les particules en suspension. Puis elle est centrifugée à 800 tours/mn pendant 3mn (le temps de centrifugation est déduit de la température de la solution). Le surnageant, qui contient les particules < 2µm est siphonné, puis centrifugé 10 mn à 10000 tours/mn; il sert à rincer les culots de 2-20µm.

La fraction 2-20 µm est obtenue à partir des culots issus de la centrifugation à 800 tours/mn après rinçage à l'eau et lyophilisation. La fraction < 2µm est récoltée après lyophilisation des culots de centrifugation à 10000 tours/mn.

Les différentes fractions issues du fractionnement granulo-densimétrique sont envoyés à l'INRA de ARRAS ou des dosages de teneurs en carbone (NF ISO 10694), azote (NF ISO 13878) et éléments traces (mise en solution HF, dosage ICP-MS pour Cd et Pb et ICP-AES pour Cu et Zn) sont réalisés sur les échantillons bruts avant fractionnement et sur les différentes fractions granulo-densimétriques.

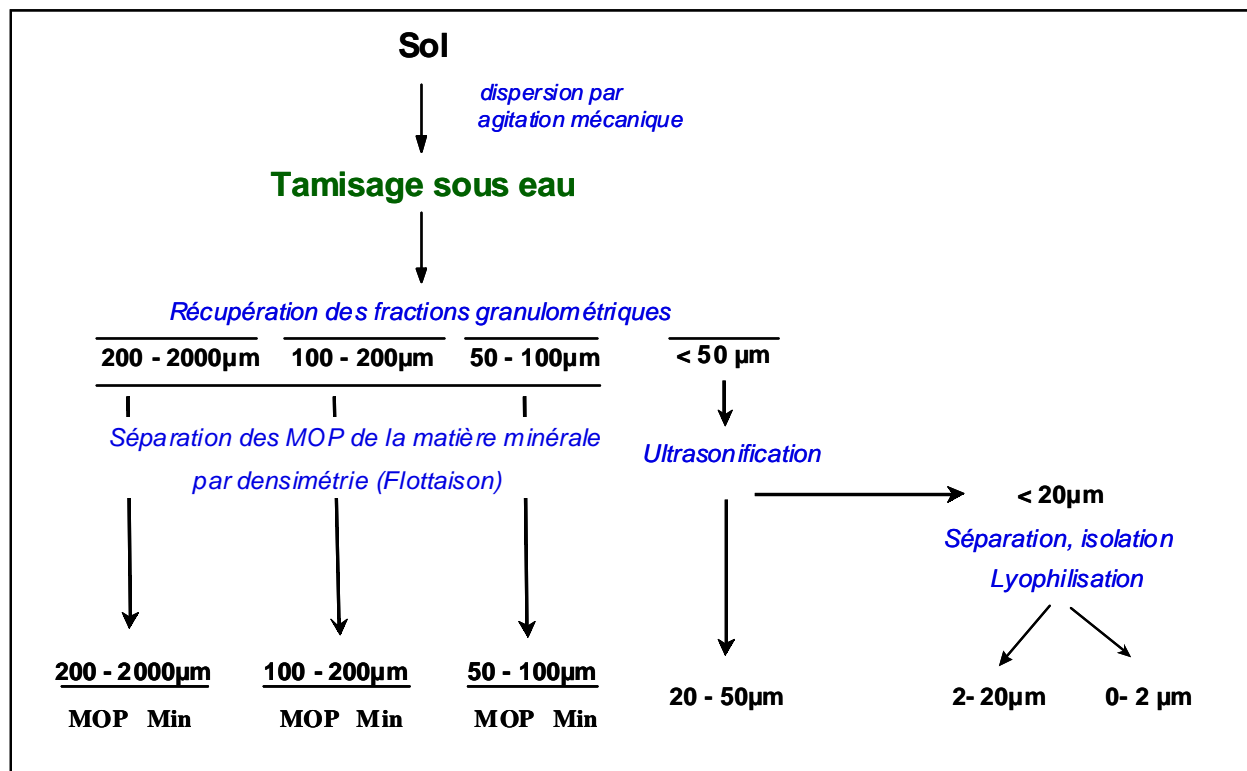


Figure II.6 Le fractionnement granulo-densimétrique

### **3.4 Les analyses statistiques**

L'ensemble des traitements statistiques réalisé dans ce travail relève des comparaisons multiples. Cette procédure consiste à comparer 2 à 2 l'ensemble ou une partie des résultats (Sokal et Rohlf, 1981). Comme nos échantillons ne suivent pas une loi normale, nous avons utilisé des tests non paramétriques (Siegel, 1959).

Selon que les échantillons sont liés ou non, les tests utilisés sont différents :

Dans le cas d'échantillons indépendants, le test de Man et Withney est utilisé pour comparer les échantillons 2 à 2 et celui de Kruskall Wallis pour comparer l'ensemble des échantillons.

Dans le cas d'échantillons dépendants, les tests de Wilcoxon et de Friedman sont utilisés. Wilcoxon étant l'alternative de Man et Withney pour des échantillons dépendant et Friedman celui de Kruskall Wallis (Siegel, 1959).

Nos échantillons étant le plus souvent dépendants, les deux derniers tests sont les plus utilisés.

## CHAPITRE III

### IMPACTS DES ETM SUR LES LOMBRICIENS



Au terme de l'expérimentation, les microcosmes sont démontés afin de collecter les échantillons de parois de galeries et de sol environnant. Les lombriciens sont alors récupérés, comptés et pesés. Le suivi de quelques paramètres biodémographiques tels que la survie, l'évolution pondérale ainsi que d'autre paramètre tel que la production de turricules permet d'appréhender le comportement des lombriciens au cours de l'expérimentation, ceci afin de déterminer si nos observations concernant la redistribution des ETM via les activités lombriciennes sont pertinentes. Seront présentés dans un premiers temps, l'évolution des paramètres biodémographiques de l'expérimentation 1, puis dans un deuxième temps, celles de l'expérimentation 2.

### **1. SUIVI DES PARAMETRES BIODEMOGRAPHIQUES**

Deux types d'effets toxiques sont distingués : les effets létaux ou effets toxiques directs, évalués par le taux de survie des vers et, les effets sublétaux ou effets indirects, touchant des paramètres tels que la croissance et la maturité sexuelle.

- **La survie** : elle permet d'évaluer les effets toxiques directs. En début d'expérimentation, 3 vers sont introduits dans chaque colonne. En fin d'expérimentation, les vers sont récoltés et comptés.
- **L'évolution pondérale et taux de croissance** : indicateurs d'effets sublétaux, les vers sont pesés avant leur introduction dans les colonnes, ils sont également pesés en fin d'expérimentation. Le taux de croissance est calculé comme suit :

$$[(\text{Poids final} - \text{Poids initial})/\text{Poids initial}] * 100$$

#### **1.1 Expérimentation 1**

##### **1.1.1 Le Taux de survie**

Le tableau III.1 présente le taux de survie observée pour les deux espèces lombriciennes.

Tableau III.1. Taux de survie des 2 espèces lombriciennes

Modalités	<i>L. terrestris</i>	<i>N. giardi</i>
Témoin	27%	100%
Boue	27%	93%

Les taux de survie présentés dans le tableau III.1, montrent qu'il n'existe aucune différence significative entre les deux modalités Boue et Témoin pour une même espèce. La boue ne semble donc pas avoir d'effet toxique direct sur les lombriciens.

En revanche, le taux de survie est différent selon l'espèce lombricienne. Ainsi, le taux de survie de *N. giardi* se situe autour 100%, tandis que celui de *L. terrestris* est de 27%. Une importante mortalité est donc observée pour l'espèce *L. terrestris*, et ceci pour les deux modalités. La mortalité observée pour l'espèce *L. terrestris* est due, non pas à la toxicité de la boue, mais aux conditions expérimentales. En effet, les conditions expérimentales (jeun pendant 2 mois, confinement) ne sont peut être pas satisfaisante pour cette espèce.

La différence d'effets létaux observés entre les deux espèces lombriciennes peut être attribuée à un comportement fouisseur différent. En effet, *L. terrestris* se comporte comme un épi-anécique : il se nourrit essentiellement des débris de litière situés à la surface du sol. *N. giardi* est une espèce anécique à tendance géophage : il va se nourrir de litière mais également de sol. Il est donc probable que le jeun imposé au ver durant les deux premiers mois d'expérimentation a été plus préjudiciable pour *L. terrestris* que pour *N. giardi*.

#### 1.1.2 Evolution pondérale

L'évolution pondérale est exprimée en gain ou perte de biomasse observée entre T0 et Tfinal, rapporté au poids initial. Le résultat est exprimé en pourcentage (figure III.1).

La perte de biomasse est fonction de la mort et/ou de la perte pondérale d'individus. Aussi, dans la perte de biomasse, la part liée à la mortalité a été différenciée de celle liée à une évolution pondérale. L'évolution pondérale est négative quelle que soit la modalité. La diminution de biomasse lombricienne est plus importante pour *L. terrestris*, du fait de l'importante mortalité. La diminution de biomasse due aux pertes pondérales se situe entre 30 et 50%. L'hypothèse posée afin d'expliquer cette perte pondérale est une carence nutritive liée aux deux premier mois d'expérimentation. Durant cette période, les vers des modalités témoins ne disposaient d'aucune autre ressource trophique que la MO du sol. Les vers de la modalité Boue disposaient de la MO présente dans la boue. La quantité de boue apportée étant faible, l'apport de MO est lui aussi relativement faible.

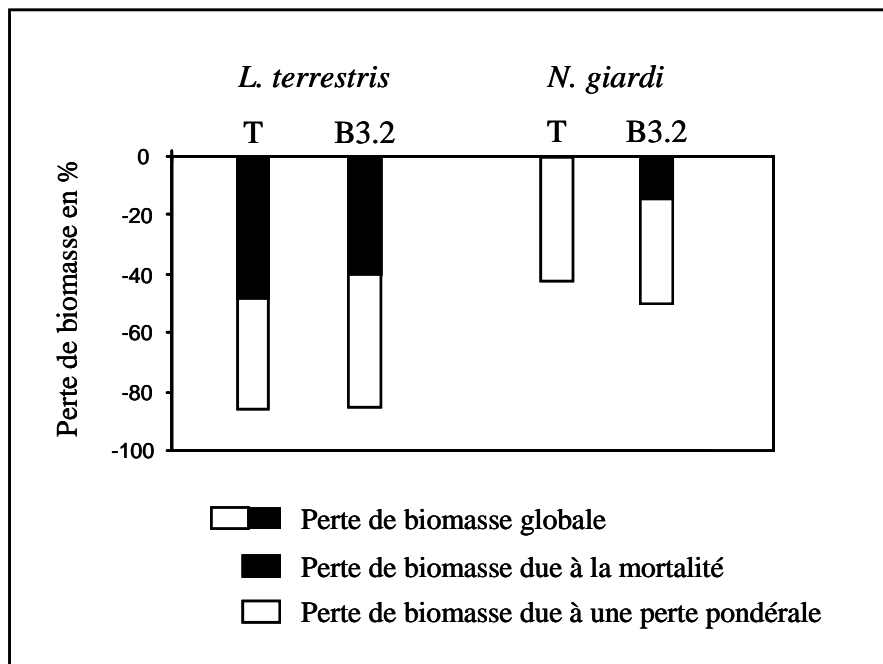


Figure III.1 Evolution pondérale de *L. terrestris* et *N. giardi* durant l'expérience 1

De plus, l'espèce *N. giardi* a une diapause obligatoire aux alentours du mois de Mai. Lors de cette période, les lombriciens peuvent perdre jusqu'à 60% de leur poids (Lee, 1985). Celle-ci peut donc être la cause d'une partie de la perte de poids observée pour toutes les modalités. A noter que *L. terrestris* n'a pas de diapause obligatoire, il entre en quiescence quand les conditions du milieu lui sont défavorables.

Au regard des paramètres biodémographiques, les boues ne semblent pas être toxique pour les lombriciens. La mortalité ainsi que les pertes de poids observées seraient dues à une carence nutritionnelle et non à une toxicité des boues. La période de jeun imposée au lombriciens durant les deux premiers mois de l'expérience a été préjudiciable.

## **1.2 Expérimentation 2**

L'expérience 2 a été réalisée avec *L. terrestris*. Des colonnes sont démontées tous les 15 jours, le taux de survie, ainsi que l'évolution pondérale peuvent être suivis tous les 15 jours. De la litière est apportée aux lombriciens dès le début de l'expérience.

### 1.2.1 Le Taux de survie

Tableau III.2 Taux de survie (expérimentation 2)

	2 semaines		4 semaines		6 semaines		8 semaines	
	Témoin	Boue	Témoin	Boue	Témoin	Boue	Témoin	Boue
Taux de survie	100	50	92	92	100	100	100	75

Aucune mortalité significative n'est observée dans le cas de la modalité Témoin. Pour la modalité Boue, le taux de survie de la semaine 2 est faible, il est de 50%. Cependant lors des semaines suivantes, le taux de survie varie entre 100 et 75%. La mortalité observée lors des premières semaines n'est donc pas due à une toxicité de la boue. L'hypothèse posée est que les substances libérées à la mort d'un lombricien pourraient être toxiques et entraîner la mort des autres individus présents dans le même microcosme.

### 1.2.2 Evolution pondérale

Tableau III.3 Evolution pondérale (expérimentation 2)

	2 semaines		4 semaines		6 semaines		8 semaines	
	Témoin	Boue	Témoin	Boue	Témoin	Boue	Témoin	Boue
Evolution pondérale	-10,43	-62,87	-17,68	-1,68	-11,1	-11,83	-16,31	-31,12

Là encore, l'évolution pondérale est négative, les lombriciens perdent du poids durant l'expérimentation. La ressource trophique mise à leur disposition n'est peut être pas adaptée à leurs besoins. Les lombriciens sont de grands consommateurs d'azote, le mucus épidermique produit étant riche en azote. Ils nécessitent donc de la litière riche en composés azotés.

Les plus grandes pertes pondérales ne sont pas toujours observés dans le cas de la modalité Boue, la boue ne semble donc pas avoir d'effets sublétaux, notamment au niveau de la croissance pondérale.

## **2. PRODUCTION DE TURRICULE**

L'activité des lombriciens durant l'expérimentation peut être estimée par la production de turricules. Les turricules produits par les vers sont récoltés tous les deux jours en surface de la colonne de sol. Ils sont mis à sécher à l'air libre, stockés puis pesés en fin d'expérimentation.

La quantité de turricules produit est exprimée en g de turricules récoltés pendant la durée de l'expérience, mais aussi en mg de turricules par g de ver pour une période de 213 jours durée de l'expérimentation et également en mg de turricules par g de ver par jour.

Tableau III.4 Production de turricule

Traitement	<i>L. terrestris</i>		<i>N. giardi</i>	
	T	B3.2	T	B3.2
Turricules (g)	223,80	288,40	58,32	205,59
g de Turr/g de vdt/77j	4,90	3,60	1,24	3,98
mg de Turr/g de vdt/jour	19,20	16,90	5,82	18,68

La production de turricule oscille entre 19,20 et 16,90 mg de turricule/g de ver/jour, à l'exception de la modalité Ng/Témoin. Pour cette modalité, la production de turricule n'est que de 5,82 mg de turricule/g de ver/jour. Les conditions du milieu étant défavorables, la production de turricule est relativement faible pour l'espèce *N. giardi*, peut être plus sensible aux conditions du milieu. Généralement, *N.giardi* produit plus de turricule que *L.terrestris* (Jégou, 1998) Les graphes représentant la production de turricule en fonction du temps montrent une diminution de production de turricule aux alentours du 17 Avril (cf figure III.2 et III.3). Cette période correspond au début de diapause de *N.giardi*, d'où un ralentissement de la production de turricule et donc au final une production de turricule relativement identique à celle de *L.terrestris*.

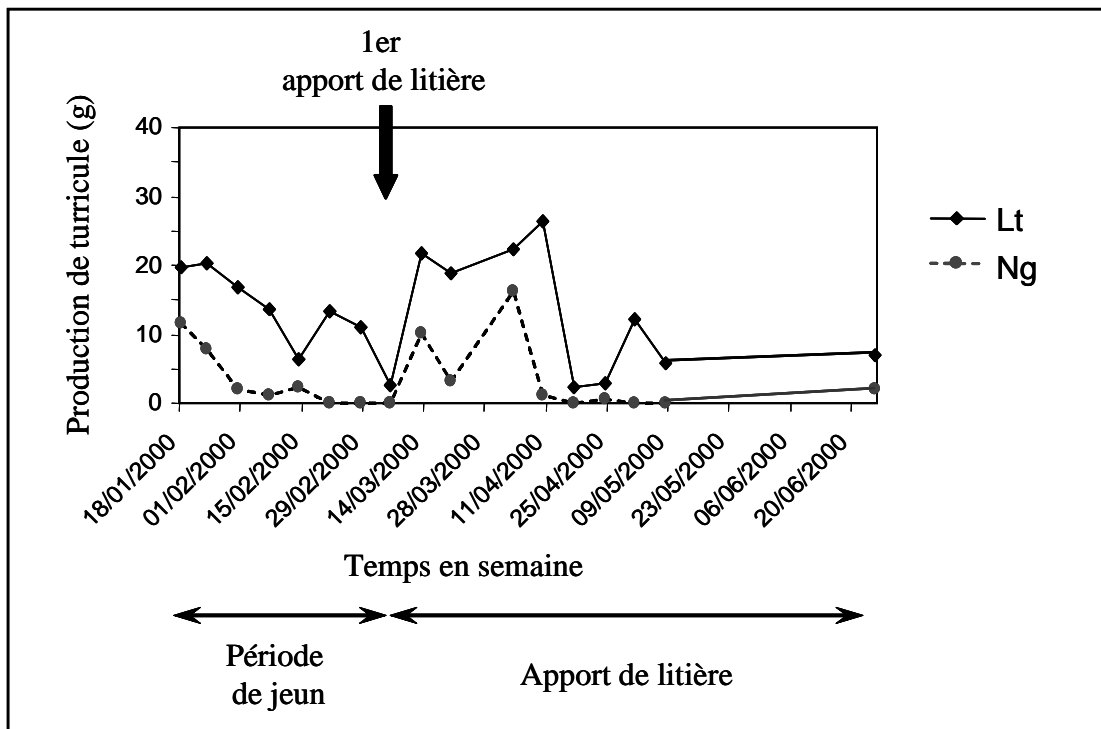


Figure III.2 Production de turricules de *L. terrestris* et *N. giardi* pour la modalité Témoin

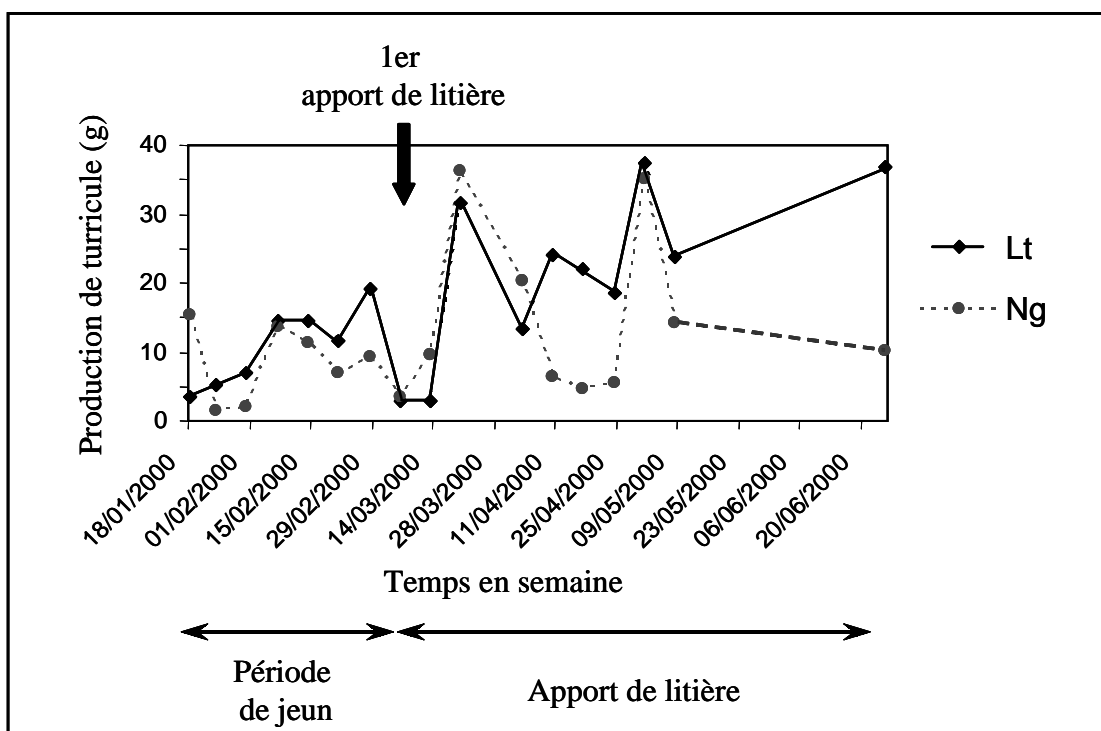


Figure III.3 Production de turricules de *L. terrestris* et *N. giardi* pour la modalité Boue

### 3 DISCUSSION

Au vu des résultats, les boues ne semblent pas avoir d'effet toxique direct ou indirect sur les lombriciens. La mortalité ainsi que la décroissance pondérale observées seraient dues aux conditions expérimentales.

Ainsi, le jeun imposé durant les deux premiers mois pour l'expérimentation 1, serait la cause de l'importante mortalité des lombriciens, *L. terrestris* plus particulièrement.. De plus, une hypothèse posée au cours de cette expérimentation est que la mort d'un ver pourrait entraîner la mort des autres vers présents dans le même microcosme. Il est, en effet, probable que lors de la décomposition du ver mort, des substances toxiques, telle que l'ammoniaque, sont libérées dans le milieu (Lee, 1985). Ces substances associées au confinement du microcosme font que les lombriciens présents dans le même milieu meurent. Il suffit donc qu'un individu, un peu affaibli par des manipulations successives meure pour que cela entraîne la mort d'autres individus.

La décroissance pondérale observée n'est également pas due à la toxicité de la boue, mais à un « artéfact expérimental ».

L'importante décroissance pondérale observée pour l'expérimentation 1 serait également due à une carence nutritionnelle imposée par les deux mois de jeun.

Cependant dans le cas de l'expérimentation 2 et malgré l'apport de litière en début d'expérimentation, une décroissance pondérale est également constatée et cela même dans le cas de la modalité Témoin. Les hypothèses posées sont que la quantité de litière apportée ne suffit pas à assurer un bon développement des vers et/ou que la qualité nutritionnelle de la litière vis-à-vis des lombriciens n'est pas satisfaisante.

La quantité de litière apportée est calculée à partir de travaux bibliographique précédents estimant les besoins nutritionnel du ver à 0,011g de litière/g de ver/ jour (Edwards et Lofty, 1977 ; Lee, 1985). Dans le cas de l'expérimentation 1, une quantité similaire à 0,011 g de litière/g de ver/jour est apportée en surface des microcosmes après les deux mois de jeun. Pour l'expérimentation 2, seulement 0,006 g de litière/g de ver/ jour ont été apportés aux vers dès le début de l'expérimentation, ceci afin d'obliger les lombriciens à ingérer la MO présente dans le sol et dans les boues.

Un autre facteur important pouvant expliquer la perte pondérale est la qualité nutritionnelle de la litière. Les lombriciens étant de grands consommateurs d'azote, il a été démontrée que l'appétance d'une litière est corrélée à sa teneur en azote et négativement avec les composés phénoliques et tannins (Satchell et Lowe, 1967). Si la litière utilisée est riche en azote, elle

contient peut être des composés phénoliques non appétant.

La boue quant à elle ne semble pas induire de toxicité vis-à-vis des lombriciens. Lors de nos expérimentations, les conditions expérimentales choisies n'étaient peut être pas optimales pour assurer un bon développement des vers.



## CHAPITRE IV

# REDISTRIBUTION DES ETM DANS LES MICROSITES D'ORIGINE LOMBRICIENNE

# REDISTRIBUTION DES ETM DANS LES MICROSITES D'ORIGINE LONBRICIENNE

---

**L'objectif de cette étude est de décrire et expliquer la distribution des ETM entre les différents compartiments étudiés (sol, turricules et parois de galeries) et également de déterminer leur distribution au sein même de ces compartiments.**

L'analyse des teneurs totales en ETM permettra entre autre de déterminer à une échelle globale, la distribution des ETM entre les différents compartiments étudiés : sol et microsites. A l'échelle des différents compartiments, sol et microsites, la distribution des ETM sera abordée par deux techniques complémentaires « chimique » et « physique »: les extractions chimiques permettront d'évaluer les changements de spéciation des ETM dans les microsites par rapport au sol environnant ; le fractionnement granulo-densimétrique permettra d'appréhender la localisation des ETM au sein des classes de taille granulométriques afin de mieux comprendre les changements de spéciation des ETM associés à ces structures.

## **1. TENEURS TOTALES EN CARBONE, AZOTE ET ETM DANS LE SOL ET LES BIOSTRUCTURES**

### **1.1 Teneur totale en carbone, azote et ETM dans le sol environnant de la modalité Témoin et de la modalité Boue.**

#### 1.1.1 Carbone et azote total

L'apport de boue augmente les teneurs en carbone et azote dans le sol (figure IV.1). En effet, les boues contiennent de la MO (Korantajer, 1991 ; Sopper, 1993 ; Barrera et al, 2000), ce qui explique leur utilisation en tant qu'amendement organique en agriculture.

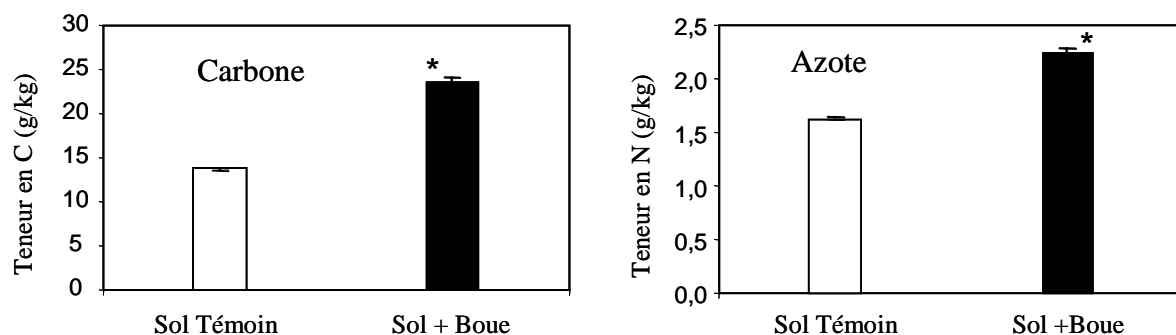


Figure IV.1 Teneurs totales en carbone et azote dans le sol des modalités Témoin et Boue

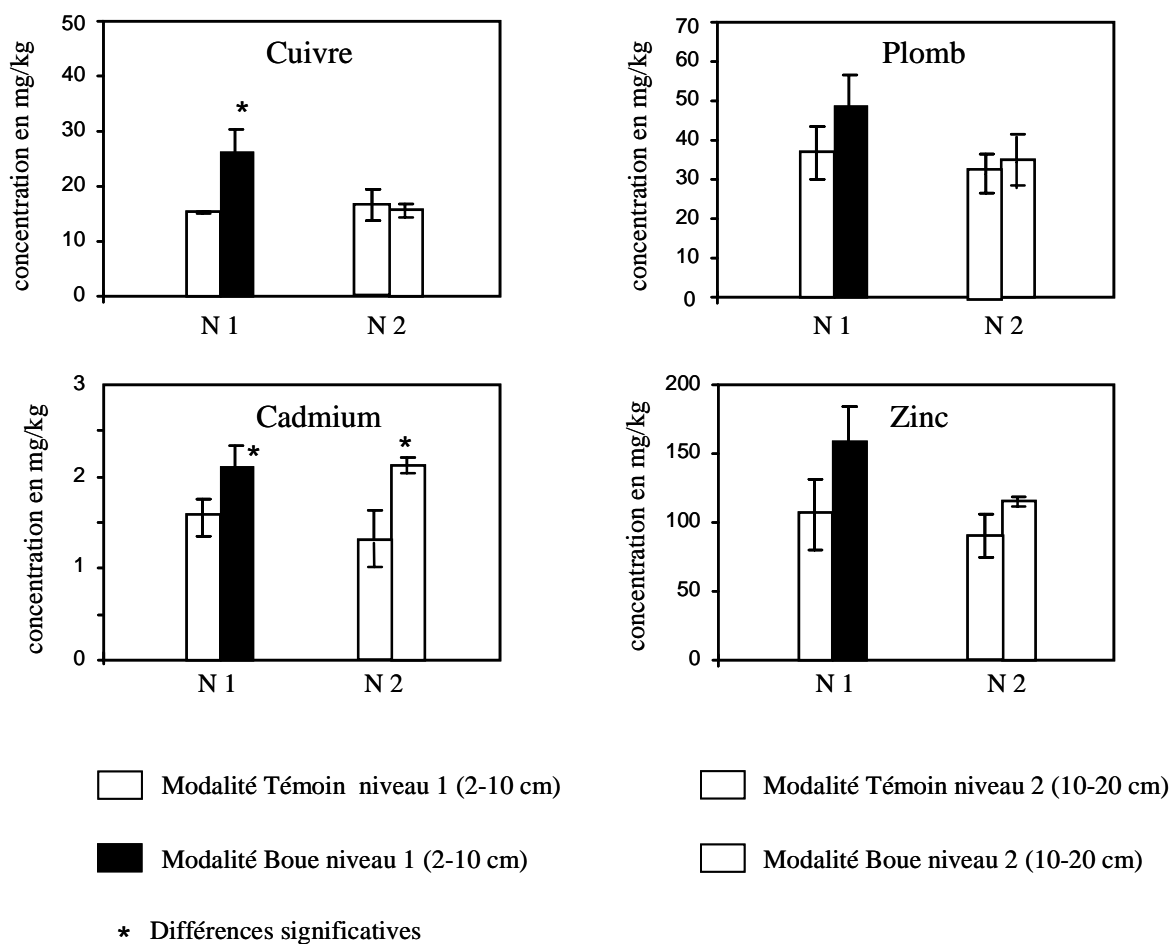


Figure IV.2 Teneurs totales en ETM dans le sol des modalités Témoin et Boue

### 1.1.2 Teneur totale en ETM

Les teneurs totales en éléments traces métalliques dans le sol de la Bouzule avant (sol témoin) et après apport de boues (sol + boue) sont comparées aux teneurs limites dans un sol imposé par l'arrêté du 8/01/98 (Baize, 2002) et aux teneurs moyennes des sols (Juste et Feix, 1995) (tableau IV.1). Les teneurs en cadmium et zinc dans le sol de la modalité Témoin sont supérieures aux teneurs moyennes dans les sols mais restent cependant inférieures aux teneurs maximales admissibles.

Tableau IV.1 Teneurs maximales admissibles (Arrête du 8/01/98), teneurs moyennes dans les sols et teneurs « totales » dans les sols expérimentaux du cuivre, plomb, cadmium et zinc<sup>5</sup>

Teneurs en mg/kg	Cuivre	Plomb	Cadmium	Zinc
Teneurs limites (Arrêté du 8/01/98)	100	100	2	300
Teneurs moyennes dans les sols (Juste et Feix, 1995)	10 à 30 sol agricole	10 à 30 sol non pollué	0.2 à 0.5 sol non pollué	70 à 90 sol non pollué
Sol témoin (valeur +/- écart-type)	15,27 (0,29)	37,23 (7,47)	1,58 (0,05)	107,23 (28,4)
Sol + boue (valeur +/- écart-type)	25,98 (5,2)	48,43 (8,03)	2,10 (0,07)	158,30 (25,2)

Les teneurs totales en cuivre, plomb, cadmium et zinc dans les niveaux 1 et 2 du sol de la modalité Témoin et de la modalité Boues sont représentées dans la figure IV.2. Les teneurs totales en éléments traces métalliques augmentent dans le niveau 1 (2-10 cm) du sol + boue. Cette augmentation n'est pas toujours significative. Ainsi, les teneurs en plomb et zinc du sol + boues ne sont pas significativement différentes du sol sans boue. Cette non significativité peut être due à l'hétérogénéité du mélange sol + boue : L'incorporation des boues dans le sol se faisant de façon grossière, des agrégats de boue peuvent rester formés et augmentent alors la variabilité de la mesure. De plus, la quantité d'ETM apportée par 40g de boue peut être faible et se retrouver diluée dans le stock initial d'éléments traces du sol : le rapport quantité de boue en MS sur la quantité de sol n'étant que de 0,016.

Des analyses de teneurs en ETM ont également été réalisées dans le niveau 2, c'est-à-dire le

<sup>5</sup> Les teneurs totales en ETM citées ici, tableau III.1, sont différentes de celles citées dans le tableau II.1. Ces différences tiennent à la méthode d'extraction et de dosage employée. Les teneurs citées dans le tableau II.1 résultant d'une attaque par HF et dosage ICP-MS, tandis que les teneurs citées ci-dessus résultent d'une attaque à l'acide nitrique et dosage à l'absorption atomique.

niveau situé au dessous de l'apport de boue (10-20 cm) afin d'identifier une migration potentielle des ETM apportés par la boue vers les horizons sous-jacent. Les teneurs sont similaires à celle du sol initial pour le cuivre, le plomb et le zinc. En revanche, les teneurs en cadmium du niveau 2 sont similaires à celle du niveau 1, laissant penser que le cadmium des boues migre vers le niveau 2. Des travaux réalisés dans des conditions relativement similaires (colonnes de sol homogénéisées et compactées) (Emmerich et al, 1982 ; Mc Bride, 1995 ; Smith, 1996 ; Michelin et al, 2002 ; Vulkan et al, 2002) montrent que les ETM apportés par les boues sont généralement peu mobiles et migrent très peu. Cependant, nombre de ces études ne bouclent pas leur bilan de masse. Ainsi, Mc Grath et Lane (1989) n'ont pu retrouver 68% des éléments traces appliqués, suggérant une perte possible d'éléments. Nos résultats, concernant le cadmium, s'associent à d'autres travaux qui ont mis en évidence une migration de la surface vers les horizons de profondeurs du nickel du cadmium et dans certains cas du zinc. Ces éléments sont connus pour être les plus mobiles (Dowdy et al, 1991 ; Streck et Richter, 1997 ; Richards et al, 1998). Les effets combinés de la présence de voies préférentielles d'écoulement des eaux (fractures, galeries) et de composés inorganiques et/ou organiques solubles, permettraient aux ETM de migrer vers le bas d'une colonne de sol (Harter et Naidu, 1995 ; Steenhuis et al, 1995 ; Camobreco et al, 1996 ; Richards et al, 1998). Nos résultats confirment la migration d'un front de cadmium plus labile du haut vers le bas du microcosme.

## **1.2 - Teneurs totales en carbone, azote et ETM dans les turricules et parois de galeries**

### **1.2.1 Teneurs en carbone et azote**

Les dosages de carbone et azote ont été réalisés pour les microsites de la modalité boue. Les teneurs totales en C et de N sont significativement plus élevées dans les turricules et les parois de galeries de *L.terrestris* que dans le sol environnant (figure IV.3). Pour *N.giardii*, seuls les turricules sont significativement enrichis en C et N. De nombreux auteurs (Rafidison, 1982 ; Lee, 1985 ; Binet, 1993 ; Doube et al, 1994 ; Jégou, 1998) ont observés une augmentation des concentrations du C total dans les turricules. Selon Lee (1985) les teneurs de C et de N dans les déjections peuvent être de 1,5 à 2,0 fois supérieures à celles du sol environnant. Les teneurs en C et N des parois de galeries de *L.terrestris* sont également supérieures à celle du sol. Les parois de galeries sont tapissées par des déjections, du mucus et des débris de litière qui contribuent à un enrichissement en C et N. Les teneurs en C et N des parois de galeries sont généralement intermédiaires entre le sol et les turricules.

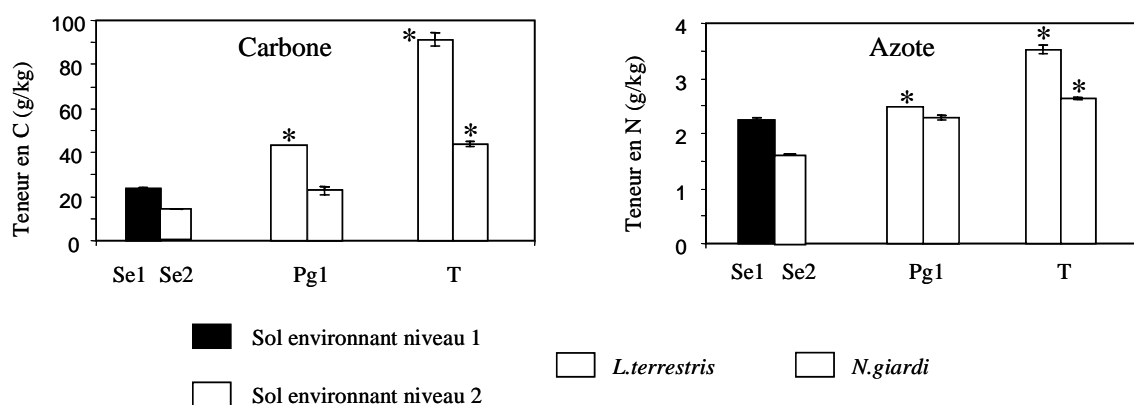


Figure IV.3 Teneurs totales en carbone et azote dans le sol environnant, les parois de galeries et les turricules de *L. terrestris* et *N. giardi* pour la modalité Boue.

### 1.2.2 Teneurs en ETM dans les microsites

Les teneurs totales en ETM dans les biostructures de *L. terrestris* et *N. giardi* pour les 2 modalités Témoin et Boue sont présentées dans la figure IV.4.

Les teneurs en cuivre, plomb et zinc dans les microsites ne sont pas significativement différentes de celles du sol. En revanche, les teneurs en cadmium dans les microsites sont significativement inférieures à celles du sol environnant pour les deux modalités Témoin et Boue. Ce résultat n'est pas en accord avec les conclusions de Ireland (1983) qui, dans une synthèse bibliographique, a montré que les teneurs en cadmium dans les turricules sont généralement supérieures à celles du sol, alors que les concentrations en cuivre, plomb et zinc dans les turricules sont variables et non directement reliées aux teneurs dans le sol. Les travaux cités par Ireland (1983), ont été réalisés sur les turricules d'espèces épigées et pour des teneurs en ETM plus importantes que dans notre expérimentation. Des travaux plus récents réalisés par Morgan et Morgan (1992) ne montrent aucune différence significative entre les teneurs en Cd, Cu, Zn et Pb du sol et des turricules de *L. terrestris*. Ces différences pourraient être dues à une consommation de particules de sol plus ou moins contaminées en ETM (Greville et Morgan, 1989) résultant du comportement alimentaire sélectif des lombriciens (Martin et al, 1991 ; Barois et al, 1993).

Dans les parois de galeries du niveau 2, niveau sans apport de boue, aucun enrichissement en ETM n'est observé. Il n'y a donc pas de phénomène d'enrichissement des parois situées au-dessous de l'apport de boue via l'activité lombricienne. Cependant, des études de terrains ont montré une augmentation des teneurs en ETM dans les parois de galeries situées au-dessous

de la zone d'incorporation de la boue (Tomlin, 1993; Sterckman et al, 2000).

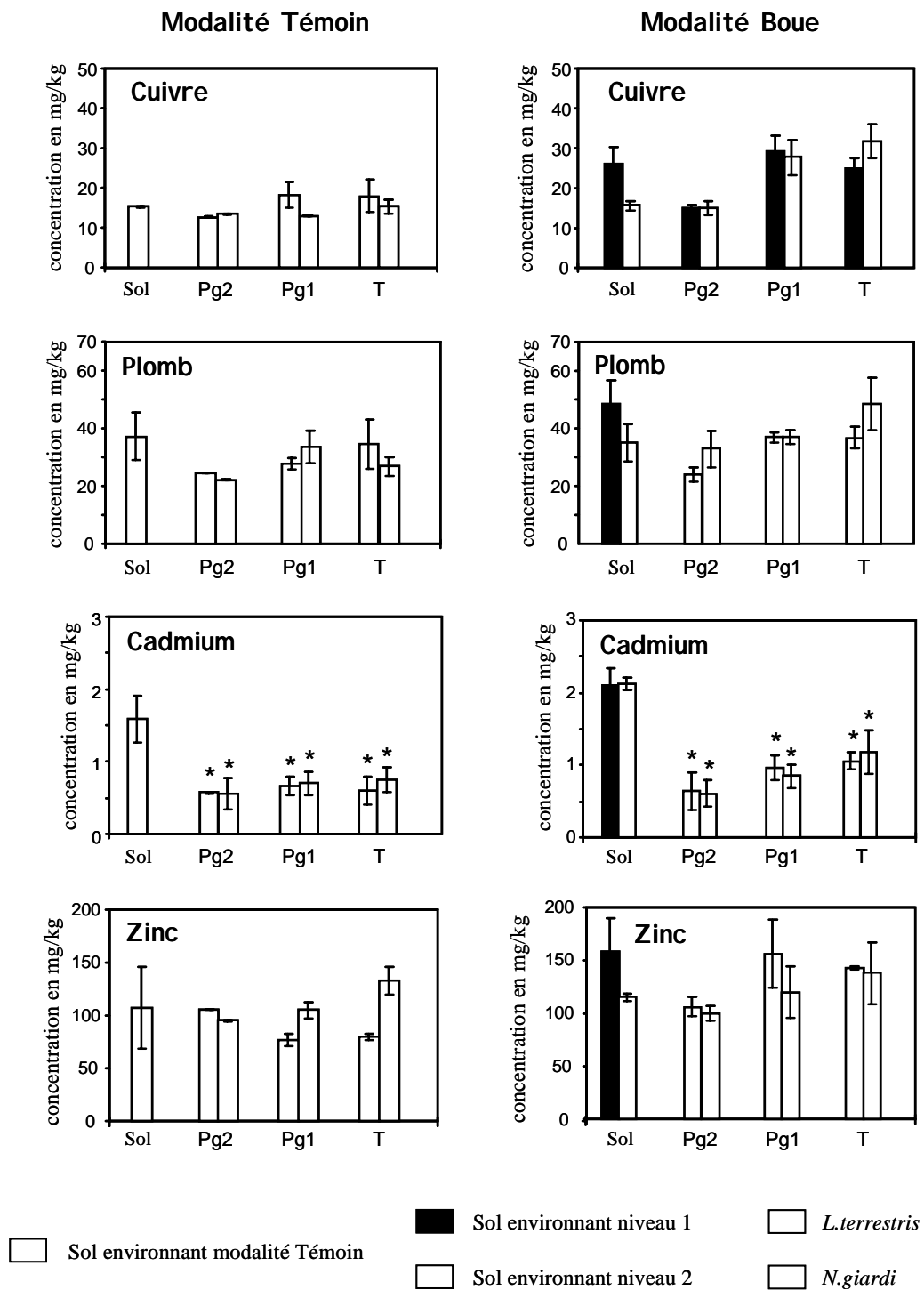


Figure IV.4 Tenures totales en ETM dans le sol environnant, les parois de galeries et les turricules de *L.terrestris* et *N.giardii* pour les modalités Témoin et Boue.

### **1.3 Discussion**

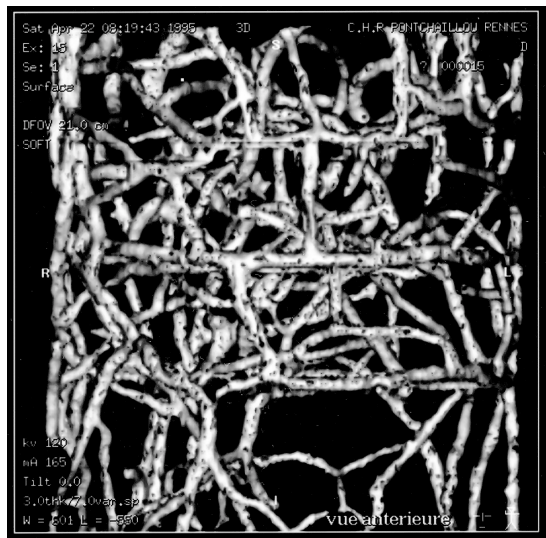
#### *Carbone et Azote*

L'apport de boues contribue effectivement à une augmentation significative des teneurs totales en C, N et ETM dans le sol. L'augmentation de ces paramètres est fonction de la quantité de boue apportée.

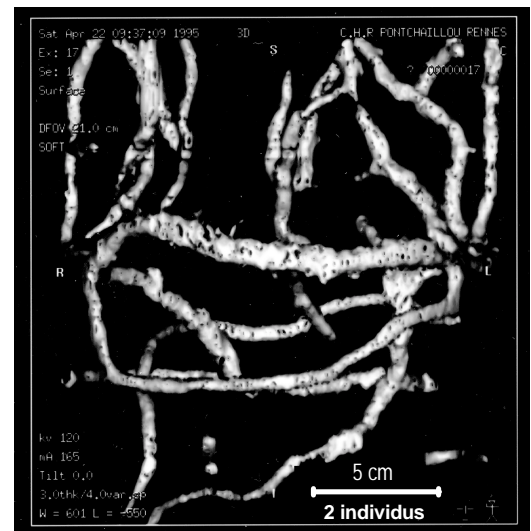
Les teneurs en carbone et azote des biostructures sont 2 à 3 fois supérieures à celles du sol environnant. Cet enrichissement en C et N des microsites, illustré par de nombreux auteurs (Rafidison, 1982 ; Lee, 1985 ; Binet, 1993 ; Doube et al, 1994 ; Jégou, 1998), serait dû à l'ingestion préférentielle des particules organiques par le ver (Lee, 1985 ; Martin et al, 1991 ; Chapuis-Lardy et al, 1998).

Les différences de comportement alimentaire et fouisseur entre *L.terrestris* et *N.giardi* se traduisent par un enrichissement en C et N des turricules et parois de galeries plus important pour *L.terrestris* que pour *N.giardi*. Les consommations de litière observées pendant la durée de l'expérimentation témoignent de cette différence (Annexe1). Ainsi *L.terrestris* (anécique à tendance épigée) a ingéré plus de litière que *N.giardi*, d'où une augmentation plus importante des teneurs en C et N dans les turricules et les parois de galeries de cette espèce. Selon Jégou et al, (2000), la structure du réseau de galeries formée par les deux espèces fait que la distribution du carbone dans les galeries est différente. Le réseau de galerie formé par *N.giardi* étant important et très ramifié, le carbone se trouve dilué au sein de ces structures. Tandis que, pour *L.terrestris* dont le réseau est peu ramifié et permanent, l'enrichissement en carbone se trouve plus localisé et donc plus important dans ces structures (figure IV. 5).





*Nicodrilus giardi*



*Lumbricus terrestris*

Figure IV.5 Reconstructions en 3 dimensions par tomographie du réseau de galeries de *Nicodrilus giardi* et *Lumbricus terrestris* (Vue latérale)  
(D'après Jégou, 1998)

#### *Éléments traces métalliques*

Les teneurs en ETM dans les biostructures dépendent plus de l'élément considéré que de l'espèce lombricienne et de la teneur en ETM du sol. Ainsi, les teneurs en Cu, Pb et Zn dans les biostructures ne sont pas significativement différentes de celles du sol. Le cadmium a un comportement plus original : ses teneurs diminuent dans les turricules et les parois de galeries pour les deux modalités. Deux hypothèses peuvent être émises afin d'expliquer cette « non-concentration » du cadmium dans les biostructures :

1. Le cadmium serait fortement assimilé dans les tissus des lombriciens.

Des études réalisées sur l'accumulation des métaux dans les tissus des lombriciens, montrent que les lombriciens accumulent le Cd plus que tout autre métal (Ash et Lee, 1980 ; Ireland, 1983 ; Beyer et al, 1985 ; Abdul Rida, 1996). Le cadmium ingéré peut se trouver fixé dans les tissus des lombriciens, et n'est donc pas excrété dans les turricules. Dans le cadre de notre étude, le dosage de métaux dans les tissus des lombriciens est en cours à l'INRA d'ARRAS.

2. Le cadmium ne serait pas associé aux particules de sol ingérées par le ver.

En effet, selon Helmke et al, (1979), si l'augmentation des teneurs en éléments

traces métalliques dans les déjections est corrélée à une augmentation des teneurs de ces éléments dans le sol, cela signifierait que ces éléments sont associés à la fraction de sol ingérée par le ver. Dans notre expérimentation, l'augmentation des teneurs en Cu, Pb et Zn dans le sol est corrélée à celles observées dans les biostructures : ce qui suggère que le cuivre, le plomb et le zinc sont associés à des particules de sol ingérées par le ver. Le cadmium, à la différence, n'augmente que légèrement dans les biostructures de la modalité boue : il ne serait donc pas associé aux particules de sol ingérées par le ver.

Au cours de notre expérimentation, le choix alimentaire des lombriciens pouvait s'orienter soit vers la MO du sol ou des boues, soit vers la litière déposée en surface. Les lombriciens aient préférentiellement ingéré la litière déposée en surface, plutôt que la MO du sol ou des boues. Cette litière étant peu chargée en éléments traces métalliques, elle ne peut contribuer à l'augmentation des teneurs totales en ETM dans les biostructures. La séparation des turricules en 2 lots, avant l'apport de litière et après l'apport de litière aurait peut être permis de mettre en évidence une éventuelle accumulation des ETM dans les turricules. En effet, l'ingestion de la MO du sol ou des boues à laquelle des éléments traces métalliques peuvent être associés se serait peut être traduit par une augmentation des teneurs en ETM dans les biostructures.

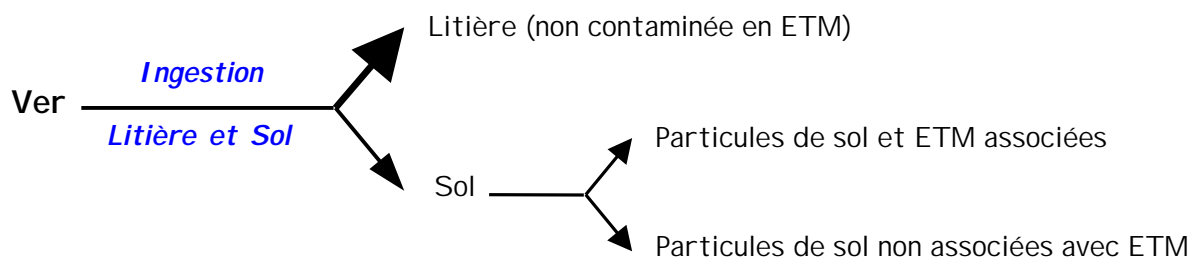


Figure IV.6 Préférence alimentaire des lombriciens aux cours de notre expérimentation

Les teneurs totales en éléments traces métalliques dans les biostructures dépendent de deux principaux facteurs que sont le comportement alimentaire des lombriciens et la spéciation des éléments traces métalliques. Les lombriciens, pour se nourrir, sélectionnent les particules les plus organiques du sol. Selon que les éléments traces métalliques sont associés ou non à ces particules, ils vont se retrouver concentrés dans les biostructures.

## **2. DISTRIBUTION CHIMIQUE DES ETM DANS LE SOL ET LES MICROSITES D'ORIGINE LOMBRICIENNE**

### **2.1 Distribution chimique des ETM dans le sol avec boue et sans boue**

Les échantillons de sol sont soumis à des extractants de force croissante qui vont permettre de déterminer la disponibilité de ces éléments. Une quantité très faible d'ETM se trouve sous forme disponible et n'apparaît donc pas sur la figure IV.7, les teneurs en ETM étant situées en dessous du seuil de détection de l'absorption atomique. Selon Kabata Pendias et Pendias, (1992), en condition naturelle, seule une très faible fraction d'ETM se trouve sous forme disponible dans les sols, la plupart des éléments se trouvant associés à la matrice. Deux types de représentation sont utilisés pour illustrer la distribution des ETM : soit leur concentration dans les différentes fractions (figure IV.7), soit le pourcentage représenté par la fraction disponible par rapport à la teneur totale (figure IV.8).

Avant ou après l'ajout de boue, plus de 50% des ETM se trouve dans la fraction résiduelle, c'est à dire inclus dans la matrice sol. Le cuivre fait exception puisque la fraction disponible, après apport de boue, représente environ 80% du cuivre total.

La fraction potentiellement disponible des ETM augmente dans le sol après apport de boue, comme l'ont montré plusieurs auteurs (Gerritse et al, 1982 ; Alloway et Jackson, 1991 ; McGrath et al, 2000). Ce changement de disponibilité dépend directement de la concentration et de la disponibilité de ces éléments dans la boue (Illera et al, 2000). Dans la boue que nous avons utilisée, les métaux sont essentiellement sous forme liée et non disponible (Tableau III.2). Cependant, l'apport de boues entraîne des réactions qui peuvent modifier la spéciation des métaux dans le sol (Juste et al, 1995 ; Richards et al, 1998 ; Illera et al, 2000) et entraîner une immobilisation ou une mobilité accrue de ces métaux.

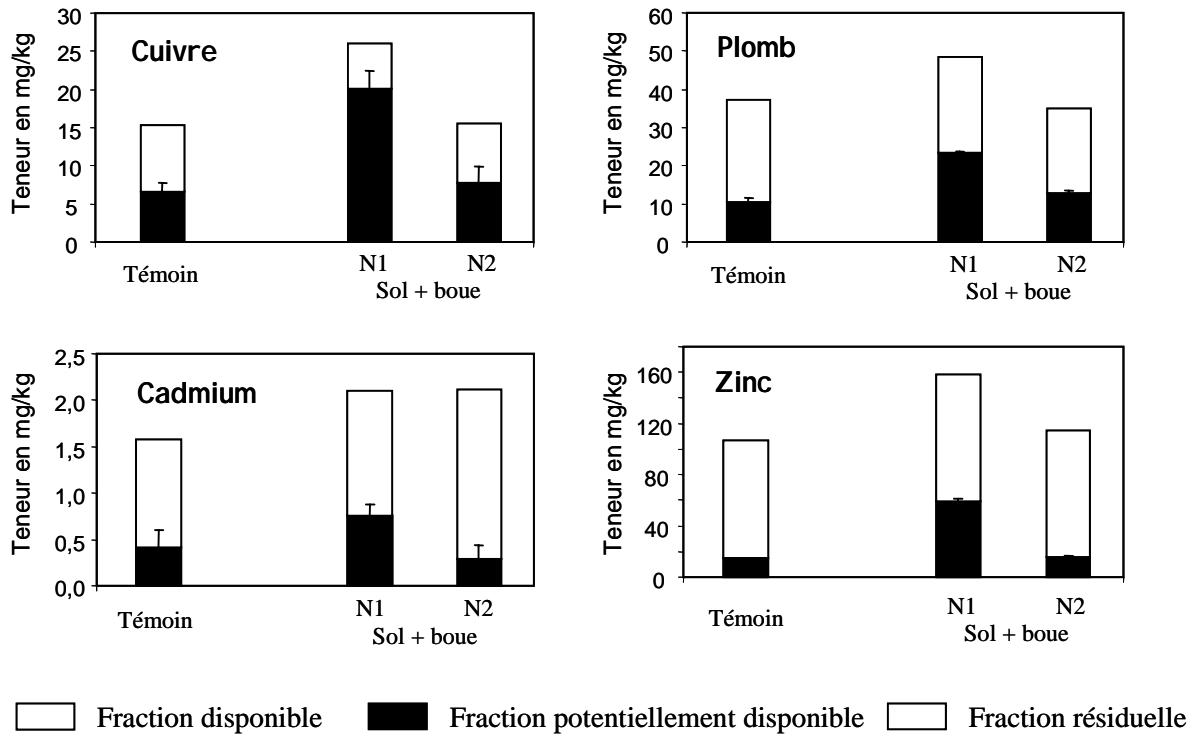


Figure IV.7 Teneurs en ETM dans les fractions résiduelle, potentiellement disponible, disponible du sol des modalités Témoin et Boue.

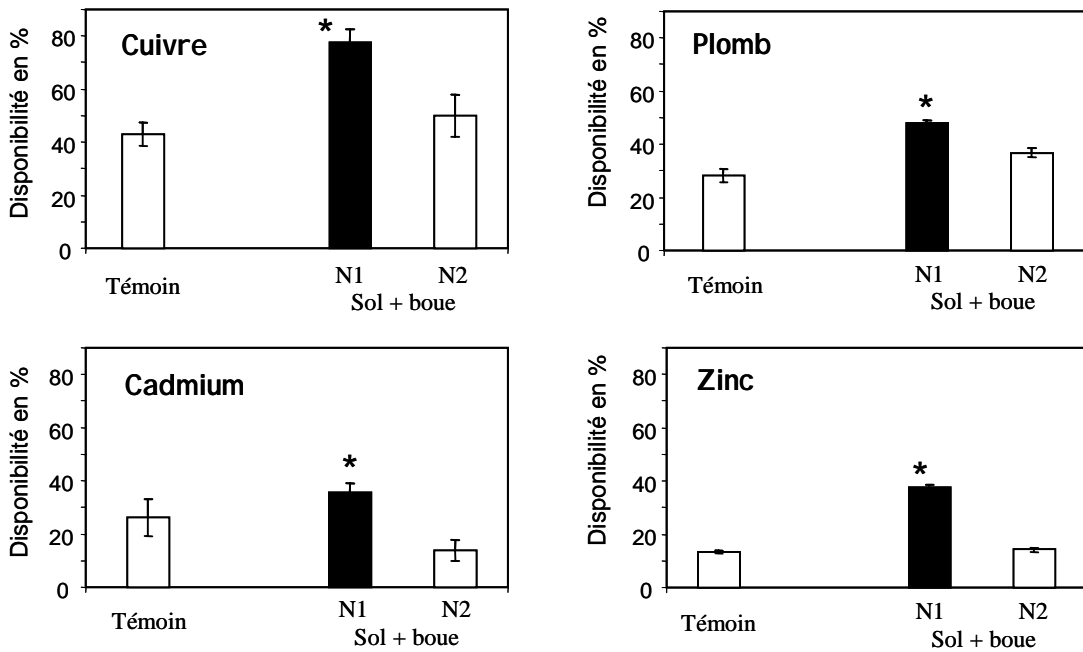


Figure IV.8 Représentation en % de la fraction potentiellement disponible

Tableau IV.2 Distribution en % des ETM dans les fractions résiduelles et potentiellement disponibles de la boue

	Cuivre	Plomb	Cadmium	Zinc
Fraction résiduelle	13,30	29,49	9,30	44,42
Fraction pot disponible	86,70	70,51	90,36	55,58

## **2.2 Distribution chimique des ETM dans les turricules et parois de galeries**

Comme pour les teneurs totales, la disponibilité des ETM dans les biostructures est plus fonction de l'élément que de l'espèce lombricienne et que de l'origine de l'élément (figures IV.9 et IV.10).

Concernant, la disponibilité du **cuivre**, aucune différence significative n'est observée entre les biostructures et le sol, et ceci quelle que soit la modalité (Témoin ou Boue) et l'espèce lombricienne. La disponibilité du cuivre des parois de galeries est toujours similaire à celle du sol environnant. Il n'y aurait pas de modification de spéciation du cuivre dans les turricules et parois de galeries (dans les limites du test d'extraction choisi).

La disponibilité du **plomb** augmente dans les biostructures des 2 espèces lombricienne quelle que soit la modalité. Que le plomb provienne du fond géochimique ou des boues, sa disponibilité augmente de manière similaire dans les turricules et parois de galeries. Cette augmentation semble être plus importante dans les biostructures de la modalité Témoin (augmentation toujours > 2), que pour la modalité Boue (augmentation comprise entre 1,4 et 2). Quelle que soit l'origine du plomb, une certaine fraction relativement constante de cet élément se retrouve sous forme potentiellement disponible dans les galeries. Ce phénomène peut trouver son explication dans la physiologie des vers. *L.terrestris* et *N.giardi* possèdent des glandes calcifères par lesquelles ils excrètent du carbonate de calcium (Lee, 1985). Ce processus d'excrétion aurait pour but de limiter la baisse de pH dans les parois de galeries : baisse de pH dues aux activités microbiennes qui rejettent du H<sup>+</sup> dans le milieu (Parkin et Berry, 1999). Le plomb se retrouvant fixé sur ces carbonates se trouve englobé dans la fraction potentiellement disponible. L'excrétion de carbonate de calcium constant d'une modalité à l'autre pourrait expliquer que la disponibilité du plomb dans les biostructures soit relativement constante : 70 à 80% dans les 2 modalités.

Quelle que soit la modalité (Témoin et Boue), la disponibilité du **cadmium** augmente dans les turricules et parois de galeries des deux espèces lombriciennes. Dans le cas de la modalité Témoin, les changements de disponibilité observés dans ces compartiments ne sont pas toujours significatifs. Cette non significativité s'explique par le fait que les teneurs en cadmium dans ces compartiments se situent en limite du seuil de détection de l'absorption atomique. Ce qui implique une moins grande précision dans les mesures. Les concentrations en cadmium étant plus importantes pour la modalité boue, les mesures sont alors plus précises. 80 % du cadmium est sous forme disponible dans les turricules et parois de galeries de *L.terrestris*, 60 à 70% dans les turricules et parois de galeries de *N.giardi* et 20 à 40% respectivement pour le sol Témoin et le sol+ boue.

La disponibilité du **zinc** dans les biostructures varie selon son origine et/ou sa concentration dans le sol. Dans la modalité Témoin, la disponibilité du zinc dans les biostructures est similaire à celle du sol environnant ; par contre sa disponibilité augmente dans les biostructures lors de l'apport de boue. Cette augmentation se limite aux turricules et parois de galeries du niveau 1. La disponibilité du zinc dans les parois de galeries du niveau 2, niveau sans boue, est similaire à celle du sol. Ce qui suggère effectivement que l'origine et/ou la teneur en zinc dans le sol influe sur le changement de disponibilité de cet élément dans les biostructures. L'utilisation de marqueur isotopique et de sol « naturellement » riche en zinc permettraient de faire la différence entre l'augmentation des teneurs et l'origine de l'élément dans les processus de redistribution chimique intervenant dans les parois de galeries de la modalité Boue.

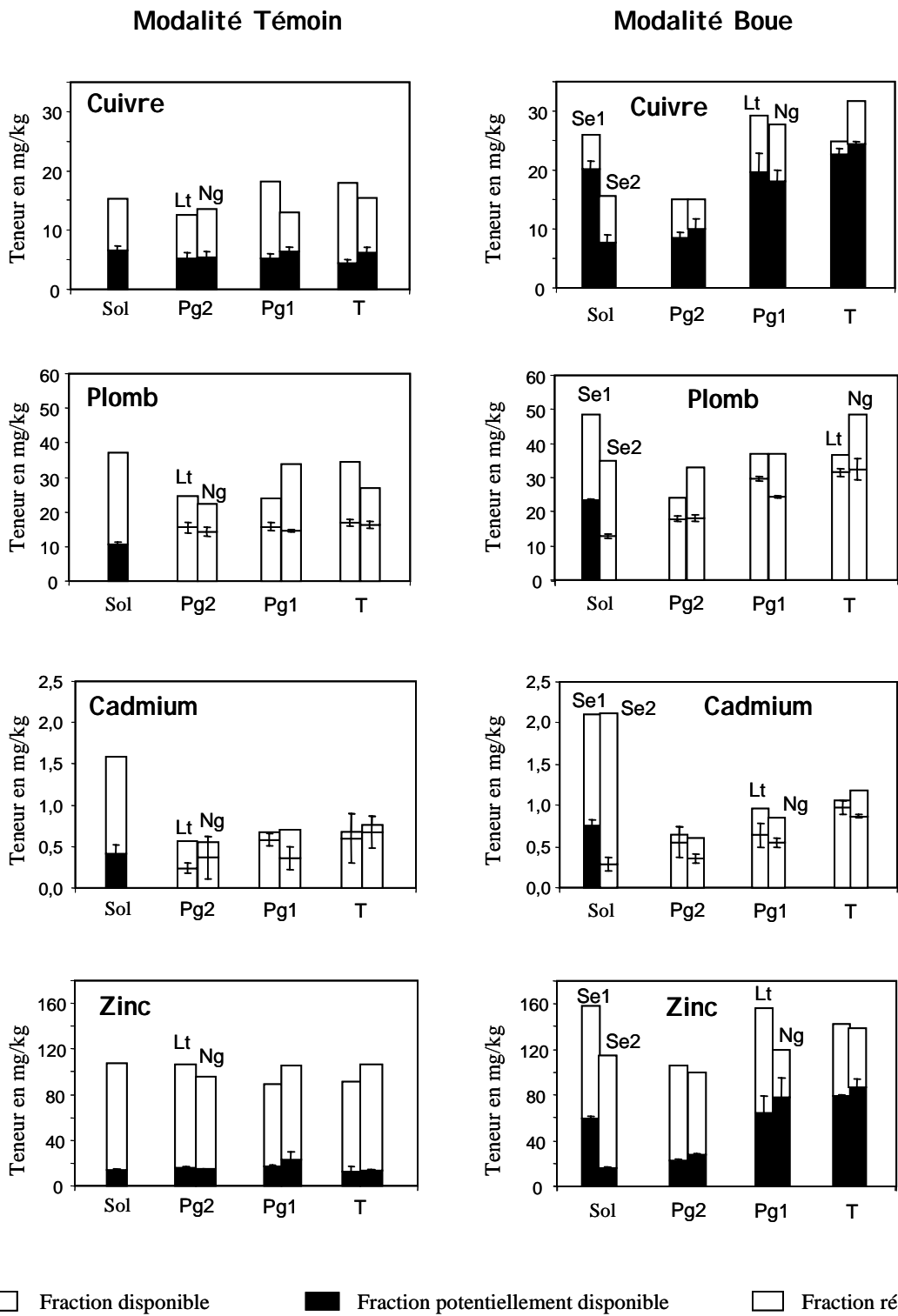


Figure IV.9 Teneurs en ETM dans les fractions résiduelles, potentiellement disponibles et disponibles, pour le sol environnant, les turricules et parois de galeries des modalités Témoin et Boue.





### 2.3 Discussion

De précédentes études (Hartenstein et al, 1980 ; Abdul Rida, 1996) ont montré que le rôle des lombriciens dans la mise à disposition des ETM dans un sol pollué est très modeste. Cependant, pour ces 2 cas cités, la durée de l'expérimentation, et la présence de plante sont autant de paramètres qui peuvent modifier la perception de la remise à disposition des ETM. Plus récemment, Delviegher et Verstraete (1997) ont mis en évidence une augmentation de disponibilité du fer, du manganèse et du cuivre en présence de *L. terrestris*.

Les résultats obtenus dans le cadre de notre expérimentation montrent que des changements de disponibilité des ETM peuvent être observés dans turricules et parois de galeries par rapport au sol d'origine ; dans ce cas, il y a redistribution dans ces microsites. Ce changement de disponibilité suggère un changement de spéciation des éléments traces dans ces structures.

Les microsites, issus des activités lombriciennes, possèdent des propriétés physiques, chimiques et biologiques différentes de celle du sol (Brown, 1998). Ainsi, les turricules sont plus riches en argile (Sharpley et Syers, 1976, Shipitalo et Protz, 1988, Chapuis-Lardy et al, 1998), en matière organique et en nutriments disponibles pour les plantes (Rafidison, 1982 ; Lee, 1985 ; Binet, 1993 ; Jégou, 1998). L'activité des micro-organismes y est plus importante (Brown, 1998). Les parois de galeries ont elles aussi des propriétés différentes du sol. Les vers tapissent leur parois de déjections et mucus lors de leur passage successif (Sims et Gerard, 1985 ; Jégou, 1998). Ces apports, de même qu'une aération plus importante, favorisent le développement de la microflore pouvant entraîner un flush bactérien (Binet, 1993).

Tous ces processus chimiques, physiques et biologiques peuvent influencer la spéciation (McBride, 1989 ; Kabata-Pendias et Pendias, 1992 ; Bourrelhier et Berthelin, 1998) et donc la disponibilité des éléments traces métalliques dans les microsites. La redistribution d'un élément au sein des différents constituants du sol va dépendre de la chimie de l'élément lui-même et de ses affinités pour les différents constituants du sol.

Le **cuivre** et le **plomb** ont une forte affinité pour la MO (Xian, 1989 ; Saha et al, 1991 ; Martin et Bullock, 1994 ; Juste et al, 1995 ; Alva et al, 2000). Cependant, le comportement de ces deux éléments dans les biostructures est différent : la disponibilité du plomb augmente tandis que la disponibilité du cuivre ne varie pas. Il est donc probable que ces deux éléments ne soient pas liés aux mêmes constituants ou au même type de MO. Le plomb a par exemple une plus forte affinité pour les carbonates que le cuivre et pourrait être lié à ces constituants.

Par opposition au cuivre et au plomb, le **cadmium** a une faible affinité pour la MO (Camobreco et al, 1996 ; Richards et al, 1998 ; Vulkan et al, 2002). Ainsi quelle que soit son origine, géogène ou exogène, la disponibilité du cadmium augmente dans les biostructures (80 à 90 % du cadmium total se trouve sous forme potentiellement disponible dans les turricules et parois de galeries). La mobilité du cadmium dépendrait largement des modifications de pH (Halen, 1993 ; Alloway, 1995 ; Baize, 1997). Le pH des biostructures est généralement différent de celui du sol. Il peut être plus élevé (Kang et al, 1994 ; Parkin et Berry, 1999) ou plus bas (Bhandari et al, 1967 ; De Vleeschauwer et Lal, 1981 ; Henrot et Brussard, 1997) que le pH du sol. Cependant, certaines espèces lombriciennes, dont *L.terrestris* et *N.giardi*, excrètent du carbonate de calcium par leur glandes calcifères (Darwin, 1883, Lee, 1985) augmentant ainsi le pH dans les galeries (Stehouwer et al, 1993 ; Parkin et Berry, 1999). Cette augmentation de pH dans ces structures pourrait limiter le changement de disponibilité des éléments traces métalliques dans les galeries. Il conviendrait de mesurer le pH de nos échantillons, pour pouvoir conclure quant à cette hypothèse.

Le changement de disponibilité du **zinc** dans les biostructures dépend essentiellement de son origine. La disponibilité du zinc dans les biostructures des modalités Témoin n'est pas modifiée tandis qu'elle augmente avec l'ajout de boue : la disponibilité du zinc géogène ne serait pas modifiée par l'action des lombriciens. En revanche, la disponibilité du zinc d'origine exogène est modifiée dans les biostructures (Cf figures III.9 et III.10). Selon Baize (1997), les ETM exogènes sont apportés sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques environnementaux supérieurs aux ETM d'origine géogène. Dans les sol amendés par des boues de station d'épuration, le zinc se distribue majoritairement entre les fractions résiduelle et oxydables (c'est-à-dire, le zinc lié, complexé par des composés organiques des sols) (Canet et al, 1997 ; Luo et Christie, 1998 ; Illera et al, 2000). Le fait que le zinc soit fixé sur des composants organiques préférentiellement ingérés par le ver, peut donc aboutir à une redistribution du zinc dans ces structures.

**Les activités lombriciennes modifient directement (réorganisation des liaisons organo-minérales dans les turricules) ou indirectement (activité des micro-organismes) la disponibilité des ETM dans les turricules et parois de galeries. Les lombriciens ne modifient pas uniquement la disponibilité des ETM d'origine exogène mais également les ETM du fond géochimique.**

Afin de mieux comprendre ce changement de spéciation, un fractionnement granulo-

densimétrique a été réalisé sur les échantillons de la modalité Boue.

### **3. DISTRIBUTION PHYSIQUE DES ETM DANS LE SOL ET LES MICROSITES D'ORIGINE LOMBRICIENNE**

#### **3.1 La granulométrie**

##### 3.1.1 La granulométrie des sols

La figure IV.11 présente la granulométrie du sol de la Bouzule avant et après apport de boue. L'apport de boue modifie peu ou pas la granulométrie du sol. La proportion des fractions fines tend à diminuer tandis que les fractions grossières augmentent significativement. La granulométrie de la boue est essentiellement argilo-limoneuse (figure IV.12). Elle contient également une faible proportion d'élément figuré qui ne peut expliquer en totalité l'augmentation des fractions grossières dans le sol amendé. Suite à l'apport de boue des agrégats ont pu se former, non détruits lors de l'agitation rotative, ils peuvent contribuer à l'augmentation des fractions grossières. Cependant, il faut rappeler que le rapport boue/ sol est de 0,016 : la faible quantité de boue apportée ne permet peut être pas d'observer un changement significatif de distribution des particules avant et après épandage.

##### 3.1.2 La granulométrie des biocompartiments

Le pourcentage de fractions fines et grossières diminue significativement dans les turricules des deux espèces lombriciennes par rapport au sol environnant, tandis que le pourcentage de matières organiques particulières (MOP) augmente (figures IV.13 et 14). Dans les parois de galeries, seul le pourcentage de fractions grossières diminue significativement.

Ces résultats sont en contradiction avec la bibliographie. De nombreux auteurs ont montré que le pourcentage d'argile des turricules et parois de galeries est généralement supérieur à celui du sol (Lee, 1985 ; Steehouwer, 1993 ; Kang et al, 1994). La granulométrie des turricules reflète le comportement sélectif du ver vis à vis du sol qu'il ingère. Il en résulte généralement une augmentation des argiles et des limons et une diminution des sable dans les turricules (Lee, 1985 ; Kang et al, 1994 ; Chapuis-Lardy et al, 1998).

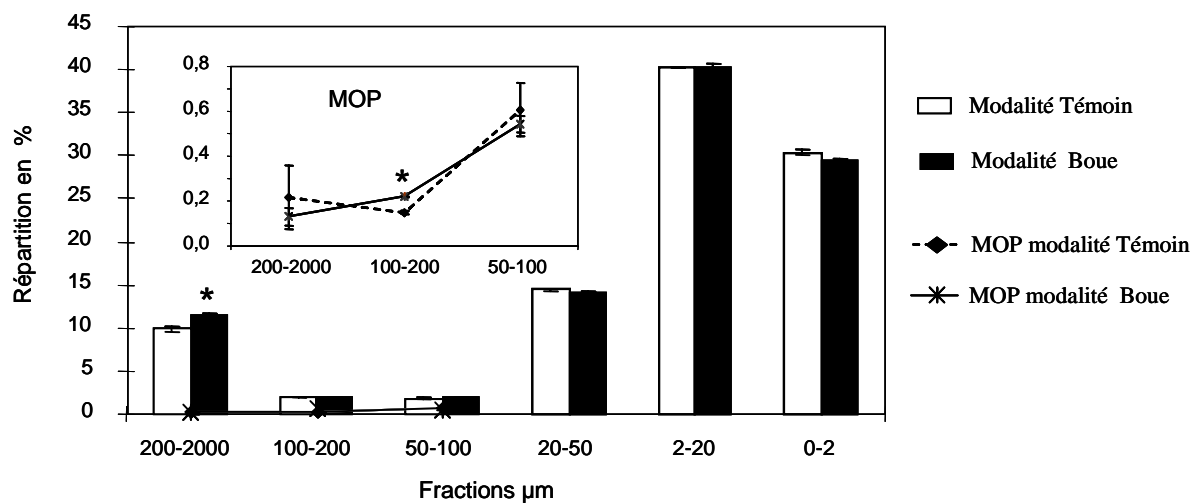


Figure IV.11 Granulométrie du sol de la modalité Témoin et Boue

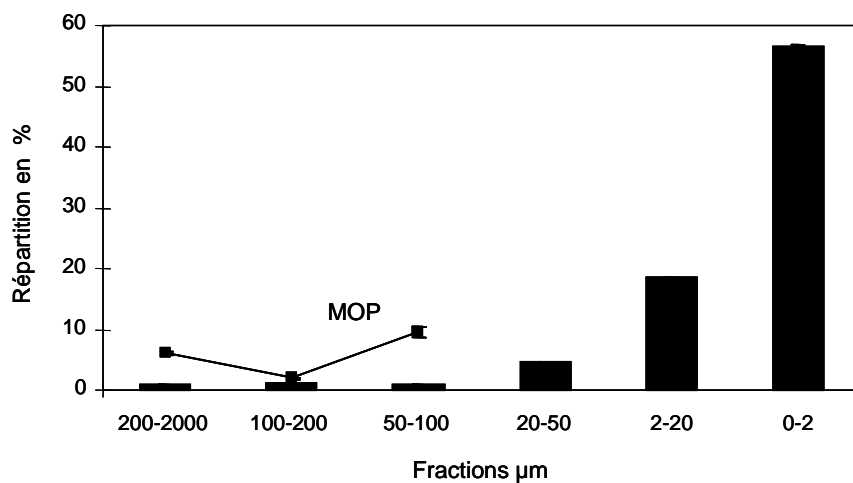


Figure IV.12 Granulométrie de la Boue

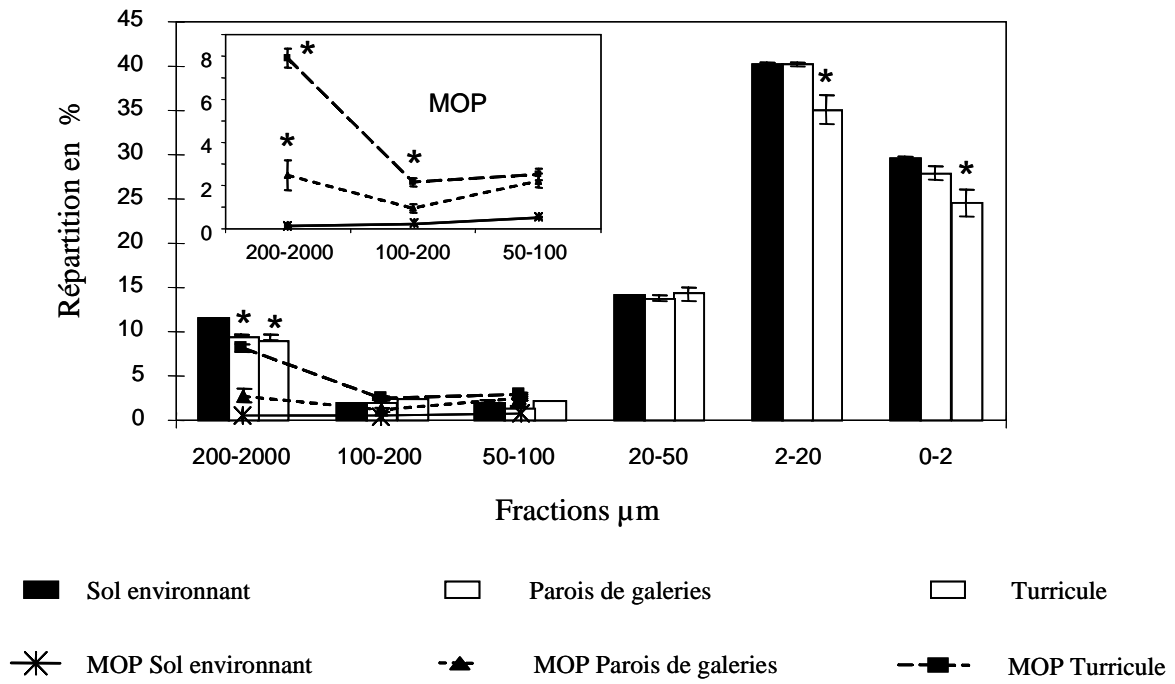


Figure IV.13 Granulométrie des turricules et parois de galeries de *L. terrestris*

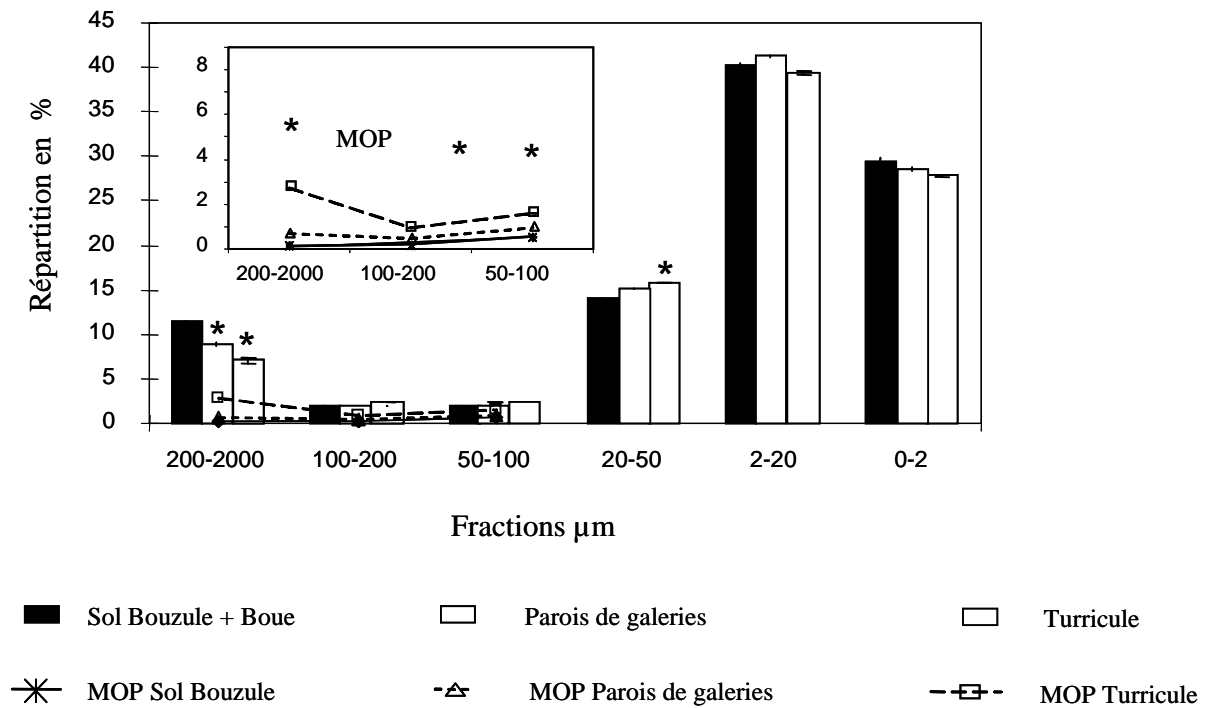


Figure IV.14 Granulométrie des turricules et parois de galeries de *N. giardi*

La présence de litière en surface a probablement orientée le comportement alimentaire du ver. Celle-ci constitue une ressource trophique appétante, car riche en azote (Abbot et Parker, 1981 ; Cortez et Hameed, 1988) et facilement disponible. Elle a probablement été préférée à la matière organique du sol moins facilement assimilable. Lors d'une étude en microcosme avec de la litière marqué au C-13, Jégou (1998) a montré que les vers n'avaient pas sélectionné le C-organique du sol mais la litière, les turricules étant enrichis en C-13. La granulométrie des turricules et des parois des galeries reflète cette préférence alimentaire.

Le pourcentage d'augmentation des MOP dans les turricules et parois de galeries de *L. terrestris* est plus important que pour *N. giardi*. Ces différences entre les deux espèces s'expliquent par leur comportement fouisseur différent. *L. terrestris* est une espèce anécique, à tendance épigée quand la litière est présente en grande quantité (Bouché, 1972): il va donc consommer essentiellement les débris végétaux restés en surface. *N. giardi* est une espèce anécique à tendance géophage qui se nourrit de débris de litière en surface mais aussi de la MOS. La consommation de la litière et l'observation du réseau de galeries traduisent également les différences de comportement fouisseur des deux espèces. Ainsi, *L. terrestris* a creusé peu de galeries et consommé 100% de la litière chaque semaine tandis que *N. giardi* a creusé un important réseau et n'a consommé en moyenne que 60% de la litière apportée.

**La granulométrie des turricules et des parois de galeries est conditionnée par le comportement fouisseur du ver.**

### **3.2 Bilan en % du C, N et ETM dans les fractions granulo-densimétriques**

Avant toutes analyses de résultats concernant les teneurs en C, N et ETM dans les différentes fractions granulo-densimétriques, nous devons nous assurer qu'aucun problème de perte ou de contamination quelconque n'est intervenu durant le fractionnement. La somme des teneurs en éléments dans les différentes fractions granulo-densimétriques d'un échantillon doit correspondre à la teneur de l'élément dans l'échantillon global.

Les bilans sont calculés par la formule suivante:

$$\frac{[\text{Concentration de l'élément X dans la fraction Z}] * [\% \text{ par rapport au sol total de la fraction Z}]}{[\text{Concentration totale de l'élément X}]}$$

Les bilans sont donnés en annexe (Annexe 2). Ces bilans sont globalement bons, et bouclent à 100% avec une marge d'erreur de +/- 10%. Dans certains cas des pertes d'éléments allant jusqu'à 25% sont observées. Ces pertes sont ponctuelles et ne concernent pas le même élément dans tous les cas. En revanche, un problème de contamination en plomb a été détecté. Les résultats concernant le plomb devront donc être considérés avec précaution.

### **3.3 Distribution du carbone et de l'azote dans le sol et les microsites**

#### **3.3.1 Distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques des sols**

Dans les 2 modalités, les concentrations les plus importantes en carbone et azote sont observées dans les MOP et les fractions fines (0-2 et 2-20µm) (figure IV.15). C'est d'ailleurs dans ces fractions que l'enrichissement en C, après apport de boue est le plus significatif. Cependant, pour l'azote, les concentrations diminuent dans les MOP.

Sur cette même figure (figure IV.15) est représentée la distribution en %, par rapport au sol total, du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques des sols après pondération par la granulométrie. La fraction 0-2µm contient jusqu'à 50% du carbone et 60% de l'azote total. Cette fraction constitue la principale fraction de stockage du carbone et de l'azote. Bien que les concentrations en azote et carbone soient importantes dans les MOP, leur importance en terme de stockage reste modeste : 10 à 15% du carbone et de l'azote total du

sol. L'apport de boue modifie très peu la distribution du carbone et de l'azote : cela entraîne une distribution plus faible dans les MOP, sauf dans la fraction 100-200 $\mu$ m. Cependant comme nous l'avons dit précédemment pour la granulométrie, la quantité de boues apportée n'est pas suffisante pour observer un changement dans la distribution du carbone et de l'azote (2% de la masse du sol)

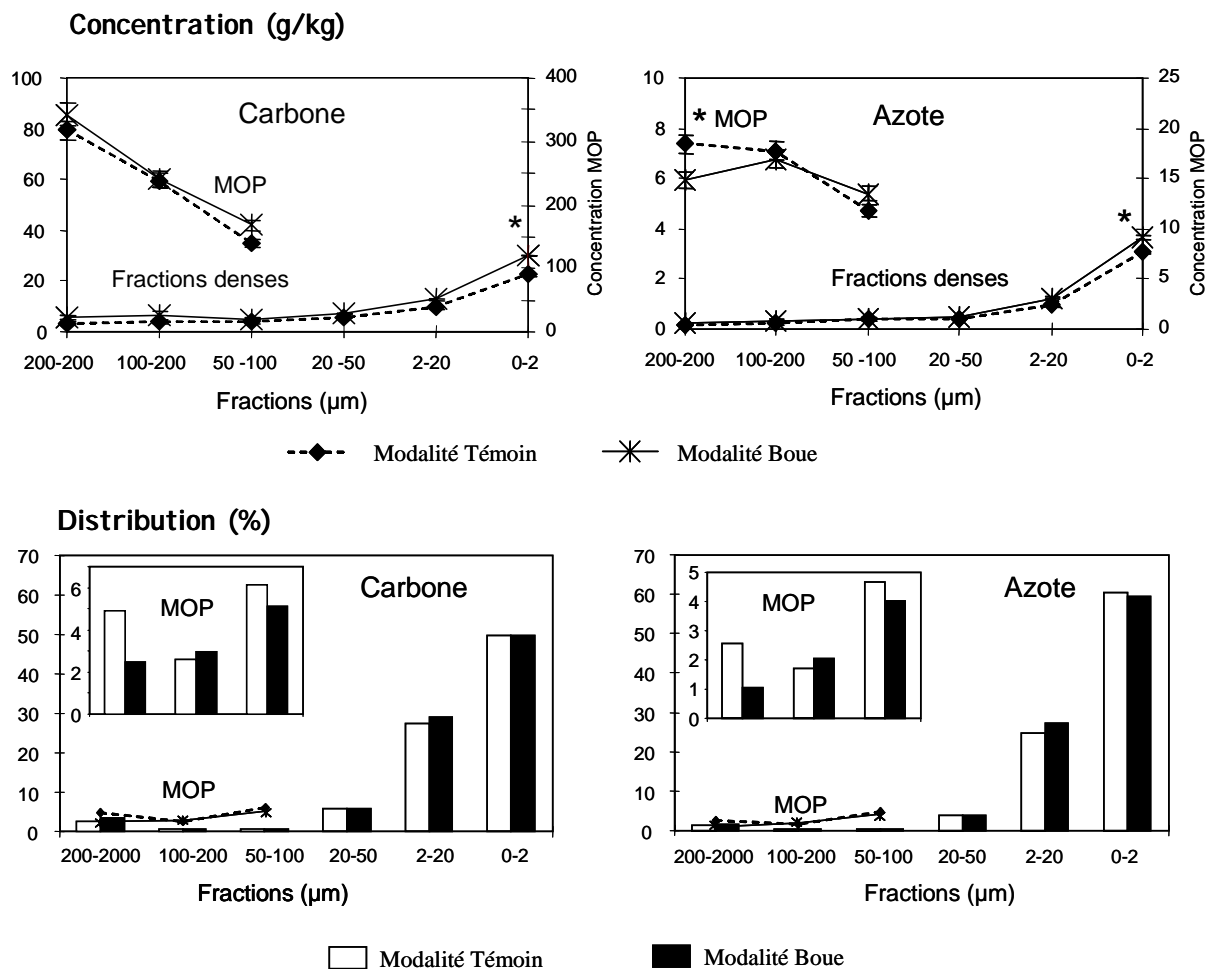


Figure IV.15 Concentration et distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques du sol des modalités Témoin et Boue (N1)

### 3.3.2 Distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques des microsites

Les concentrations en C augmentent dans toutes les fractions granulo-densimétriques des turricules et parois de galeries des deux espèces lombriciennes (figure IV.16). Les plus fortes augmentations en carbone sont observées pour les MOP et les fractions fines (20-50 et 0-2  $\mu$ m). Les concentrations en azote augmentent dans les fractions denses et diminuent dans les



fractions légères (MOP) (figure IV.16). L'augmentation des teneurs en carbone dans les MOP est associée à une diminution des teneurs en azote par rapport au sol environnant. Le C/N augmente donc dans les biostructures. L'augmentation du C/N observée pour la fraction 20-50 est due à l'apport de litière dont la fraction 20-50 est riche en C et N (Annexe 3)

Tableau IV.3 Evolution du C/N dans les fractions pour chaque compartiment étudié

Fractions ( $\mu\text{m}$ )	Sol	<i>Lumbricus terrestris</i>		<i>Nicodrilus giardi</i>	
		Parois de galeries	Turricules	Parois de galeries	Turricules
200-2000	24,71	71,05	60,03	25,98	51,66
100-200	18,82	33,43	20,18	17,04	18,24
50-100	12,74	26,61	16,49	9,23	13,03
20-50	14,59	39,73	48,65	19,16	30,15
2-20	10,41	13,49	17,85	9,37	12,59
0-2	8,23	8,87	9,19	7,28	8,52
200-2000 MOP	23,11	73,66	66,62	41,42	67,59
100-200 MOP	14,20	26,12	32,96	16,97	25,85
50-100 MOP	12,47	21,16	30,25	12,59	18,81

La distribution du carbone et de l'azote est modifiée dans les turricules et parois de galeries par rapport au sol (figure IV16). Ainsi, la contribution des MOP dans le stockage du carbone et de l'azote augmente de 300% à 500% dans les turricules et de 150 à 300 % dans les parois des galeries, ces MOP devenant les principales fractions de stockage du carbone, au détriment des fractions fines. Dans le sol, 10% du carbone est localisé dans les MOP, pour respectivement 60% et 40% dans les turricules de *L.terrestris* et *N.giardi*. Pour le sol, 80% du carbone total est localisé dans les fractions fines (0-2 et 2-20 $\mu\text{m}$ ), pour seulement 30 à 62% dans les microsites. La fraction 20-50  $\mu\text{m}$  voit également sa contribution augmenter dans le stockage du carbone.

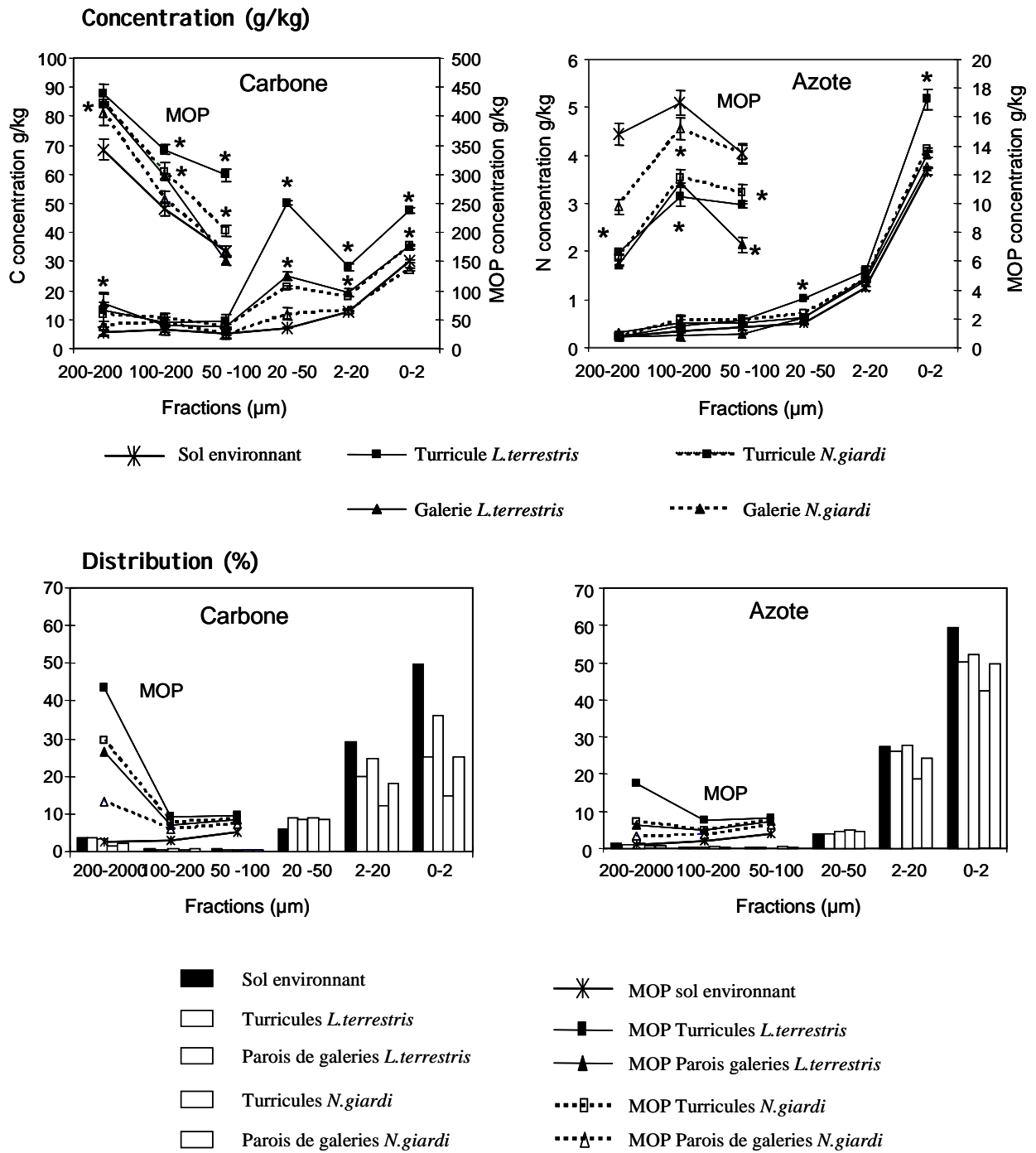


Figure IV.16 Concentration et distribution du carbone et de l'azote dans les fractions granulo-densimétriques du sol environnant, des parois des galeries et des turricules de *L. terrestris* et *N. giardi*

Cette redistribution du carbone dans les MOP est également observée pour l'azote. Cependant, pour l'azote, les fractions fines (0-2 $\mu$ m et 2-20 $\mu$ m) restent les principales fractions de stockage.

### 3.3.3 Discussion

En terme de concentration, les teneurs en carbone et azote augmentent dans les MOP et les fractions fines. L'augmentation des teneurs en carbone des MOP est due à l'ingestion de litière. Cette litière, non totalement décomposée lors du passage dans le tube digestif de ver (Cortez et Hameed, 1988), vient enrichir en carbone les MOP des turricules et des parois de galeries. Les teneurs en azote diminuent dans les MOP des biostructures par rapport au sol. Selon Lee (1985), les lombriciens sont de grands consommateurs d'azote. La production de protéine et de mucus nécessite une grande quantité d'azote d'où une consommation d'azote importante afin de compenser ces « pertes ». Les lombriciens exploitent l'azote apporté par la litière d'où une diminution des teneurs en azote dans les MOP des turricules et parois de galeries par rapport au sol environnant.

L'augmentation des teneurs en carbone des fractions fines est liée aux différents processus (comminution<sup>6</sup>, minéralisation) se déroulant dans les galeries et les turricules. Ces microsites sont le lieu d'une intense activité microbienne (Parle, 1963 ; Svensson et al, 1986 ; Parkin et Berry, 1994, 1999 ; Tiunov et Scheu, 1999) dans lesquels la dégradation de la MO est importante (Scheu, 1987). La MO se distribue selon son degré de transformation (Andreux et al, 1980 ; Balesdent et al, 1988). Le C/N traduit la transformation de la MO : le C/N des fractions fines est plus faible que celui des fractions grossières (tableau III.3) ce qui traduit une évolution de la MO (plus le C/N est bas, plus la MO est transformée). La matière organique peu transformée est principalement localisée dans les fractions grossières, tandis que les fractions fines contiennent un mélange de matière organique fraîche et de matière organique transformée (Balesdent et al, 1988). Ainsi, les débris de litière peu décomposés viennent enrichir les MOP des turricules et parois de galeries tandis que la MO transformée va se distribuer dans les fractions fines. L'augmentation de concentration observée pour la fraction 20-50 reflète la distribution granulométrique de la ressource trophique. Cette

---

<sup>6</sup> Processus due aux multiples contractions musculaires qui vont conduire au broyage fin de différentes substances.

observation traduit la faible capacité d'assimilation de la MO par les vers (Cortez et Hameed, 1988).

L'expression des résultats en terme de distribution permet d'identifier les compartiments de stockage du carbone et de l'azote. La pondération de la concentration par la quantité de fraction permet de définir la quantité d'élément dans cette fraction. Cette valeur rapportée à toutes les fractions permet ainsi de voir quelle fraction renferme la plus grande quantité d'élément, et ainsi d'identifier la ou les fractions de stockage. L'importance des MOP dans le stockage du carbone et de l'azote dans les microsites d'origine lombricienne est mise en évidence : la distribution du carbone et de l'azote dans les turricules et parois de galeries est différente de celle du sol ; la contribution des fractions fines dans le stockage de ces deux éléments diminuant au profit des MOP. Cette redistribution du carbone et de l'azote dans les turricules et parois de galeries par rapport au sol est, comme pour la granulométrie, liée aux préférences alimentaires des lombriciens.

**Cette redistribution confirme également la différence de comportement fouisseur des 2 espèces. L'augmentation de la contribution des MOP est plus importante pour *L.terrestris* que pour *N.giardi*, traduisant ainsi un régime alimentaire presque exclusivement basé sur la litière pour *L.terrestris*.**

### **3.4 Distribution des éléments traces métalliques dans le sol et les biocompartiments**

#### 3.4.1 Distribution des ETM dans les sols

La figure IV.17 présente les concentrations et la distribution des éléments traces métalliques dans les fractions granulo-densimétriques du sol des modalités Témoin et Boue.

Les concentrations les plus importantes en éléments traces métalliques sont observées pour les fractions grossières (dense et MOP) et pour les fractions fines 0-2 $\mu$ m.

Après apport de boues, les teneurs en éléments traces métalliques augmentent dans chaque fraction. Cependant, les fractions les plus enrichies ne sont pas les mêmes selon l'élément trace considéré. Ainsi, après apport de boue :

- les fractions les plus enrichies en Cu sont les MOP,
- les fractions les plus enrichies en Cd sont les fractions grossières (dense et MOP)
- Le Pb et Zn se répartissent de façon homogène dans les différentes fractions.

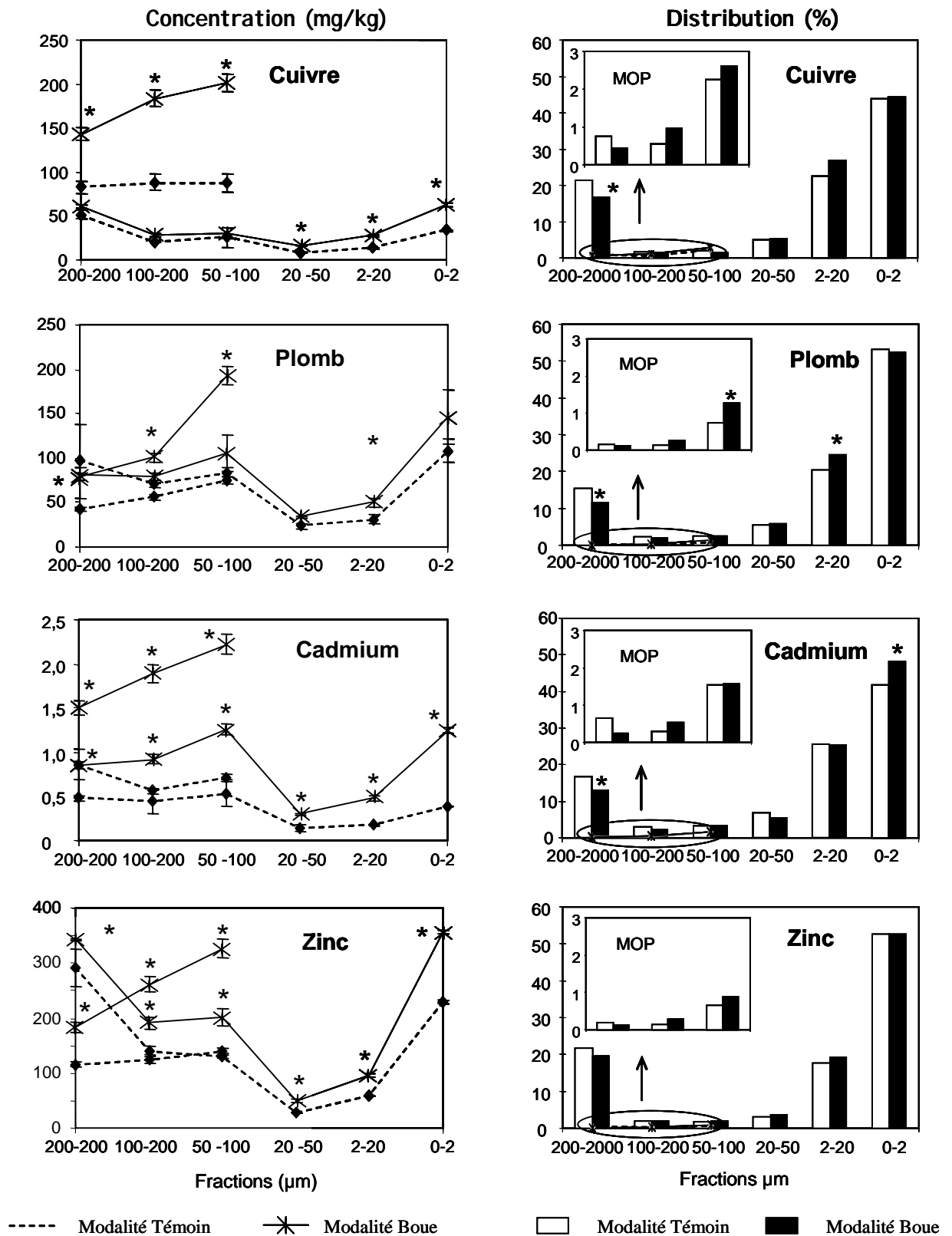


Figure IV.17 Concentration et Distribution des ETM au sein des fractions granulo-densimétriques du sol des modalités Témoin et Boue.

En terme de distribution (figure IV.17), les fractions fines (0-2, 2-20  $\mu\text{m}$ ) constituent, comme

pour le carbone et l'azote, le principal compartiment de stockage des ETM : 50 à 60% des éléments traces métalliques sont localisés dans ces fractions fines. La fraction 200-2000 $\mu$ m dense a une importance non négligeable puisqu'elle contient 10 à 20% des ETM totaux.

L'importance des MOP dans le stockage des ETM dans les sols est modeste et varie selon l'élément considéré et est fonction de son affinité pour la MO. Le cuivre et le cadmium sont les éléments les plus présents dans les MOP. L'affinité du cuivre pour la MO (Saha et al, 1991, Alva et al, 2000) peut expliquer sa présence dans les fractions légères. En revanche, pour le cadmium dont l'affinité pour la MO est faible, nous ne pouvons conclure quant à l'augmentation de sa présence dans les fractions légères.

L'apport de boue modifie la distribution des ETM. Il entraîne une diminution des ETM dans la fraction 200-2000 $\mu$ m et une augmentation dans les fractions fines (2-20 $\mu$ m) et dans les fractions 100-200 et 50-100 $\mu$ m des MOP. Cette distribution correspond à celle des boues. Dans la boue, les éléments traces métalliques se distribuent entre les fractions fines et les MOP (Annexe 4).

#### 3.4.2 Distribution des ETM dans les biostructures

La figure IV.18 représente les concentrations en éléments traces métalliques dans les différentes fractions granulo-densimétriques du sol, des turricules et parois de galeries des 2 espèces lombriciennes. Les concentrations se répartissent de la même façon que pour le sol : les concentrations les plus importantes sont observées pour les fractions grossières (denses et légères) et les fractions fines (0-2  $\mu$ m).

Quel que soit le métal, les teneurs en ETM diminuent dans la fraction 200-2000  $\mu$ m dense des biostructures. Dans les autres fractions granulométriques denses, les teneurs en éléments traces métalliques du sol et des biostructures ne sont pas significativement différentes, à quelques exceptions près.

Les différences les plus pertinentes sont observées au niveau des MOP. Ainsi, les concentrations en ETM diminuent dans la fraction 200-2000  $\mu$ m légère quel que soit le métal et l'espèce lombricienne. Les concentrations en éléments traces métalliques dans les autres fractions des MOP (100-200 et 50-100  $\mu$ m) varient selon l'espèce lombricienne et le métal :

(1) Dans la fraction 50-100 $\mu$ m, les teneurs en cuivre et plomb des turricules et parois de galeries sont inférieures à celle du sol, tandis que les teneurs en cadmium et zinc sont supérieures à celle du sol. (2) Les concentrations en éléments traces métalliques dans les MOP de *L. terrestris* sont toujours inférieures à celle du sol. (3) Pour *N. giardi*, les concentrations en plomb, zinc et cadmium sont supérieures à celle du sol dans la fraction 100-200 $\mu$ m.

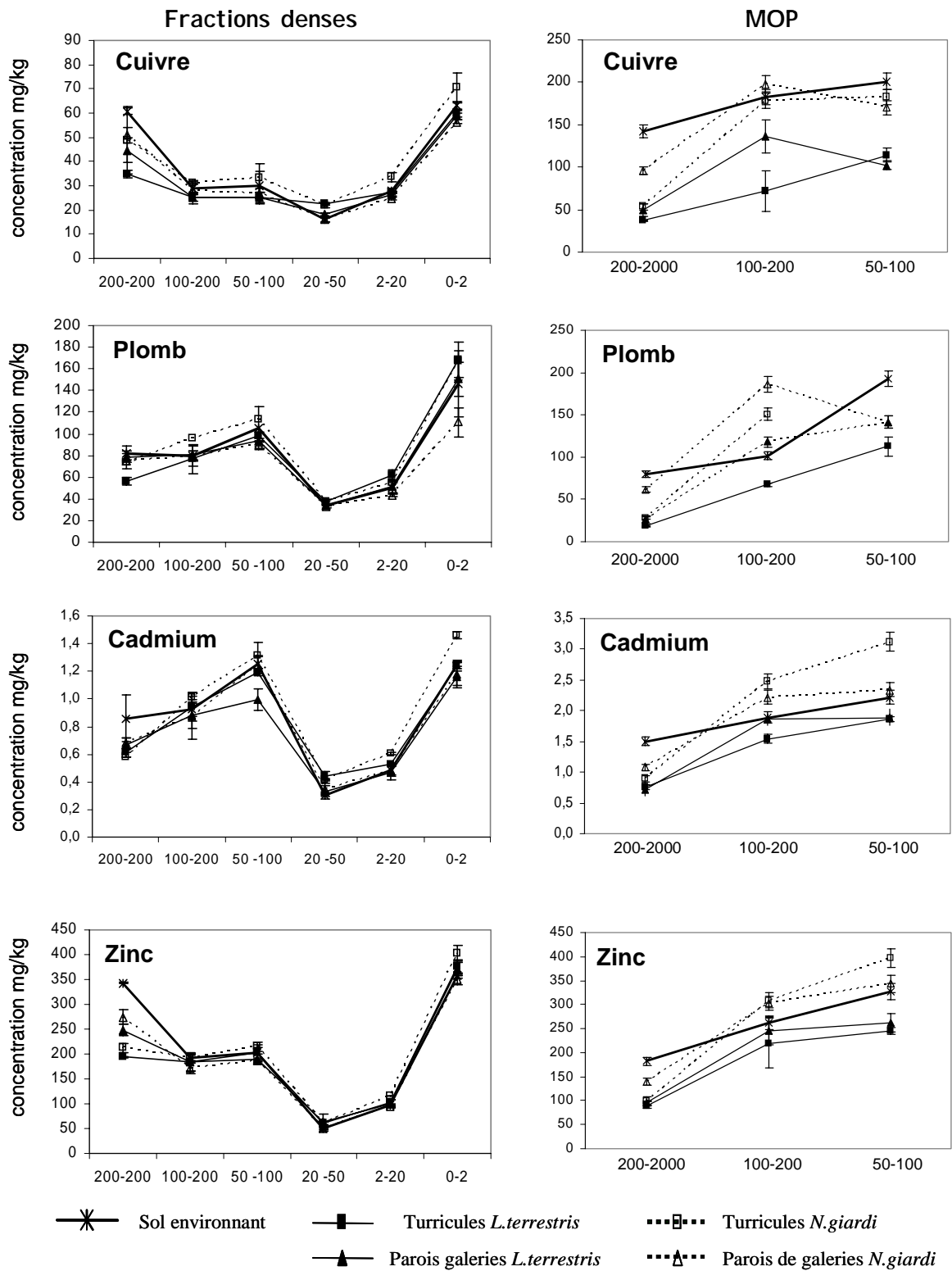


Figure IV.18 Concentration en ETM dans les fractions granulo-densimétriques du sol environnant, des parois de galeries et des turrucules de *L. terrestris* et *N. giardi*.

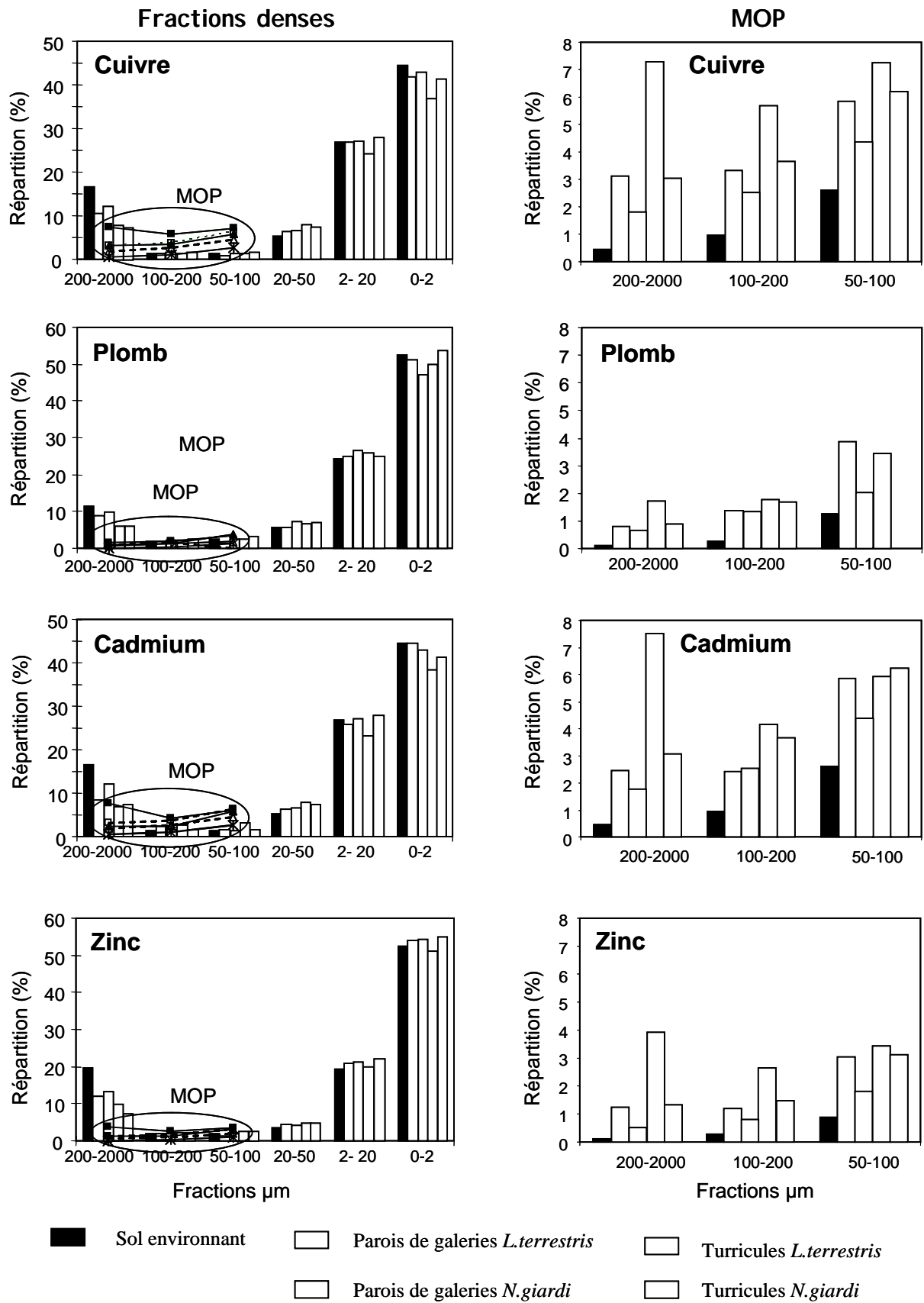


Figure IV.19 Distribution des ETM dans les fractions granulo-densimétriques du sol environnant, des parois et des turricules de galeries de *L. terrestris* et *N. giardi*



Comme pour le sol, les ETM sont principalement stockés dans les fractions fines (60%) et dans les fractions grossières (10%). Cependant par rapport au sol, les ETM ont tendance à diminuer dans ces fractions (figure IV.19).

Inversement, la contribution des MOP dans le stockage des ETM augmente dans les biostructures par rapport au sol. Cette augmentation est due à l'importance des MOP dans la granulométrie des turricules. Ainsi, dans les biostructures de *L.terrestris* et plus particulièrement dans les turricules, la redistribution des ETM vers les MOP est la plus importante en liaison avec la quantité de MOP qui est plus importante dans ces microsites de *L.terrestris*.

### 3.4.3 Discussion

Bien que les teneurs totales en ETM n'augmentent pas dans les turricules et les parois de galeries, les ETM sont redistribués au sein même de ces compartiments.

Les teneurs en éléments traces métalliques diminuent dans la fraction 200-2000  $\mu\text{m}$  globale (dense et légère) des turricules et parois de galeries par rapport au sol environnant, tandis qu'elles tendent à augmenter dans les fractions fines (0-2  $\mu\text{m}$ ).

La diminution des concentrations en ETM dans la fraction 200-2000  $\mu\text{m}$  des MOP peut s'expliquer là aussi par les préférences alimentaires du ver. Les MOP des turricules sont essentiellement constituées de débris végétaux issus de cette litière non contaminée entraînant ainsi une dilution des concentrations en ETM dans ces MOP. Cependant, après pondération des concentrations par la granulométrie, les MOP se révèlent être un des principaux compartiments de stockage des ETM dans les biostructures. En effet, les MOP, bien que peu chargées en ETM, représentent jusqu'à 50% de la granulométrie des turricules, donc par rapport au sol, leur représentativité augmente considérablement. Ainsi, dans les turricules, la quantité d'ETM stockée dans les MOP augmente de 4 à 9% par rapport au sol pour *L.terrestris* et de 2 à 4 % pour *N.giardii*. De plus, les MOP contiennent des groupes réactifs capables de complexer les métaux (Harter et Naidu, 1995 ; Mackey et al, 1996). La réorganisation des liaisons physico-chimiques et organo-minérales (Shipithalo et Protz, 1989) se déroulant dans les microsites peut conduire à une redistribution des ETM dans ces microsites.

### 3.5. Relation entre la distribution du carbone, de l'azote et des ETM dans les sols et les biostructures

Les teneurs totales ainsi que la redistribution des ETM dans les biostructures dépend directement du comportement alimentaire des vers. Le ver sélectionne généralement les particules les plus fines (Barois et al, 1999) ainsi que les fragments organiques (Martin, 1991, Lee, 1985). Dans le cadre de notre expérience, les choix alimentaires des lombriciens se sont orientés vers la litière déposée en surface, plutôt que la MO du sol ou des boues.

Il résulte de ce comportement alimentaire une granulométrie particulière des turricules : diminution de la teneur en argile et augmentation des MOP. Les parois de galeries étant tapissées de déjections, de mucus et de matériel illuvial (Jeanson, 1964, Stehouwer et al, 1993), leur granulométrie est intermédiaire à celle du sol et des turricules.

De ce choix alimentaire va dépendre les teneurs totales en carbone, azote et ETM ainsi que leur distribution physique au sein de ces microsites : les teneurs en carbone et azote augmentent dans les turricules et parois de galeries par rapport au sol. La litière étant peu chargée en ETM, les teneurs totales en ETM sont similaires à celles du sol, voire inférieures pour le cadmium notamment.

L'enrichissement en carbone et azote des turricules et parois de galeries provient très probablement du C et N- litière. Dans une étude réalisée en microcosme, Jégou (1998) a également montré que les lombriciens ne sélectionne pas le C organique du sol mais le carbone apporté par la litière, d'où un enrichissement en débris végétaux ou MOP des turricules. Les MOP deviennent alors la principale fraction de stockage du carbone dans les turricules (50% du carbone des turricules de *L. terrestris* est localisé dans les MOP). La distribution du C et N va donc être modifiée dans les biostructures.

La redistribution des éléments traces métalliques dans les biostructures suit le même schéma que la redistribution du carbone: une diminution dans les fractions fines (0-2 $\mu$ m) et dans la fraction 200-2000 $\mu$ m dense et une augmentation dans les MOP. Cependant, la redistribution des ETM n'a pas la même ampleur que la redistribution du carbone : la fraction < 2 $\mu$ m reste dans les turricules et parois de galeries, la principale fraction de stockage des ETM. L'importance de la fraction argileuse (0-2 $\mu$ m) dans la rétention des éléments traces métalliques a été mise en évidence par de nombreux travaux (Ducaroir et Lamy, 1995 ; Flores-Velez et al, 1996 ; Besnard et al, 2001). La forte réactivité des constituants minéraux et des associations organo-minérales présents dans cette fraction (Essington et Mattigod, 1990) contribuent à son importance dans le stockage des éléments traces. La diminution de

l'importance de cette fraction dans le stockage des ETM dans les turricules et parois de galeries est due principalement à la diminution du taux d'argile dans ces structures. Il ne faut cependant pas exclure la possibilité d'une redistribution liée aux diverses réactions physico-chimiques se déroulant dans ces microsites.

Comme pour le carbone, la distribution des ETM augmente dans les MOP, principalement constituées de débris de litière. En fait, les MOP sont peu chargées en ETM mais leur contribution (masse) dans les biostructures est telle qu'elles deviennent un compartiment important dans le stockage des ETM.

**Dans le cadre de notre expérience, la redistribution du carbone, de l'azote et des ETM est plus liée au comportement alimentaire sélectif des lombriciens qu'à une redistribution mettant en cause les réactions physico-chimiques se déroulant dans les microsites.**

#### **4. COMPLEMENTARITE DES APPROCHES CHIMIQUES ET PHYSIQUES DE LA DISTRIBUTION DES ETM**

Deux approches complémentaires ont été utilisées afin de déterminer la distribution des ETM dans le sol et les biostructures. L'approche chimique avait pour objectif de déterminer la disponibilité des ETM et l'approche physique avait pour objectif de localiser les ETM dans les différentes fractions granulo-densimétriques. La localisation des ETM dans ces différentes fractions peut apporter des éléments de réponses quant aux changements de disponibilité des ETM dans les biostructures. Dans le tableau IV.4 sont regroupés les principaux résultats obtenus par les extractions chimiques et le fractionnement granulo-densimétrique.

Les principaux résultats obtenus pour les extractions chimiques sont :

- Une augmentation de la disponibilité du cadmium et du plomb dans les microsites
- Aucun changement de disponibilité du cuivre dans les microsites
- Une augmentation de la disponibilité du zinc dans les microsites de la modalité avec boue.

Les changements de disponibilité observés dans les microsites suggèrent un changement de spéciation des ETM dans ces microsites. Pour le cadmium et le plomb, ce changement de spéciation va vers des formes plus labile quelle que soit la modalité. Pour le cuivre, aucune modification de disponibilité n'est mise en évidence dans les microsites par rapport au sol environnant. Ce non-changement ne veut pourtant automatiquement dire qu'il n'y a pas eu de

modification de spéciation de cet élément. Le changement de spéciation du cuivre n'est peut être pas « visible » par le test d'extraction choisi. Dans le cas du plomb, du cuivre et du cadmium, le changement de disponibilité observé dans les microsites va dans le même sens (augmentation ou diminution), qu'il s'agisse de la modalité Témoin ou Boue. Ce changement de disponibilité est lié au choix alimentaire du ver, en l'occurrence à l'ingestion de litière. Aux vues de ces résultats, la redistribution des éléments traces métalliques dans les microsites peut être qualifié de redistribution « trophique ». Ceci ne veut pas dire qu'une redistribution liée aux modifications des paramètres physico-chimiques dans les turricules et parois de galeries n'est pas intervenue. Cependant, cette redistribution que nous allons qualifier de « physico-chimique » n'a pu être mise en évidence pour ces trois éléments

Contrairement au Pb, Cd et Cu, les changements de disponibilité du zinc dans les microsites varient selon la modalité, suggérant ainsi une redistribution différente selon la nature du Zn : géogène ou exogène. Sa disponibilité n'augmente pas dans les microsites de la modalité Témoin, alors qu'elle augmente dans les microsites de la modalité Boue. Le paramètre variant entre les deux modalités est la nature des ETM et donc leurs réactivités. Il semble donc que les différentes réactions physico-chimiques se déroulant dans les turricules et parois de galeries ne suffisent pas à augmenter la disponibilité du zinc issu du fond géochimique. En revanche, la disponibilité du zinc apporté par la boue est modifiée dans les microsites. Ainsi, la redistribution du zinc dans les microsites d'origine lombricienne n'est pas du uniquement à un choix alimentaire sélectif mais également à des réactions physico-chimiques se déroulant dans les microsites.

Le principal résultat obtenu pour le fractionnement granulo-densimétrique est :

- Une augmentation de la contribution des MOP dans le stockage des ETM.

Les changements de localisation des ETM dans les microsites (augmentation des MOP) suggèrent un changement de spéciation de ces ETM. Ainsi, le cuivre dont la disponibilité n'augmente pas dans les microsites est redistribué dans les MOP. Le changement de spéciation du cuivre n'apparaît pas dans l'approche chimique, en revanche il apparaît dans le cas du fractionnement granulo-densimétrique

Tableau IV.4 Synthèse des résultats de redistribution des éléments traces métalliques obtenus par les approches chimique et physique.

		Concentration					Disponibilité					Distribution granulo				
		C	Cu	Pb	Cd	Zn	C	Cu	Pb	Cd	Zn	C	Cu	Pb	Cd	Zn
<u>Se Boue</u> Se Témoin		↗	↗	→	↗	→		↗	↗	↗	↗	→	→	→	→	→
<b>Pg</b> <u>Se</u>	Témoin	↗	→	→	↘	→		→	↗	↗	→					
	Boue	↗	→	→	↘	→		→	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗
<b>T</b> <u>Se</u>	Témoin	↗	→	→	↘	→		→	↗	↗	→					
	Boue	↗	→	→	↘	→		→	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗

Nos résultats montrent une augmentation de la contribution des MOP dans le stockage des ETM dans les microsites d'origine lombricienne ainsi qu'une augmentation de leur disponibilité. Ceci tendrait à montrer que les ETM liés aux MOP sont plus faiblement liés que quand ils sont liés au sol. En effet, les MOP constituent les formes les moins stables de la matière organique des sols (Balesdent et al, 1988). Elles sont constituées de débris organiques possédant de nombreux groupements fonctionnels réactifs relargant ainsi les ETM qui y sont fixés. L'augmentation de la contribution des MOP dans le stockage des ETM qui va dans le sens d'une augmentation de la disponibilité de ces éléments dans les microsites, tend à mettre en évidence des changements de spéciation vers des formes plus labiles.

## **5. CONCLUSION**

L'objectif de ce chapitre était de déterminer la redistribution des ETM entre et au sein du sol et des biostructures.

Cette redistribution inter et intra compartiments des ETM a été largement conditionnée par la présence de litière en surface de la colonne de sol. Celle-ci constituant une ressource trophique facilement exploitable et appétante, est préférée à la matière organique du sol ou des boues. Cette litière n'étant pas contaminée, les teneurs totales en ETM dans les turricules sont similaires à celles du sol, voire inférieures pour le cadmium. Des teneurs similaires en Cu, Pb et Zn dans les microsites et le sol suggèrent que les lombriciens ont ingéré de la litière mais aussi des particules de sol contaminées. Selon Helmke et al (1979), l'augmentation des teneurs en ETM dans les turricules corrélée à une augmentation des teneurs dans le sol, signifie que ces ETM sont associés aux particules de sol ingérées par le ver. Ainsi, à la différence du Cd, le Cu, le Pb et le Zn sont associés aux particules de sol ingérées par le ver.

La redistribution intra-compartiment est conditionnée par le comportement alimentaire sélectif des lombriciens : les particules sélectionnées pouvant déterminer la disponibilité des ETM dans les microsites. Ainsi, le choix alimentaire des lombriciens s'est focalisé sur la litière, ce qui aboutit à une augmentation des MOP dans les microsites. Les MOP possèdent des groupes fonctionnels sur lesquels peuvent se fixer les ETM. Ces MOP constituant une des fractions les moins stables de la matière organique du sol, elles contribueraient à l'augmentation de la disponibilité de ETM dans les microsites. La redistribution des ETM dans les microsites peut

également être due aux modifications des propriétés physico-chimiques (pH, CEC, % d'argile, ...) dans ces structures.

**Les hypothèses de travail suivantes peuvent être proposées :**

- **1 Si dans les turricules et les parois de galeries, les teneurs en ETM augmentent ou restent similaires au sol, les ETM sont liés aux particules de sol ingérées par le ver**
- **2 Si les teneurs en ETM diminuent dans les turricules et parois de galeries, cela signifie que les ETM ne sont pas liés aux particules de sol ingérées par le ver.**
- **3 Si les changements de disponibilité dans les microsites suivent le même schéma pour les deux modalités, la redistribution des ETM est due majoritairement à une redistribution « alimentaire ».**
- **4 Si les changements de disponibilité dans les microsites varient d'une modalité à l'autre, la redistribution est aussi due à un changement de spéciation due aux modifications des propriétés physico-chimiques liées aux localisations dans ces microsites.**

Voyons alors élément par élément.

- Les teneurs en **cadmium** dans les turricules et parois de galeries sont inférieures au sol. Le cadmium n'est pas associé aux particules de sol ingérées par le ver. Un effet dilution induit par la litière peut également intervenir et faire en sorte que les teneurs en cadmium dans les turricules sont inférieures à celles du sol.
- La disponibilité du **plomb** augmente dans les turricules et parois de galeries. Les teneurs totales en plomb dans les turricules étant similaire à celle du sol, le plomb est associé aux particules de sol ingérées par le ver. L'augmentation de la disponibilité du plomb peut être due à l'augmentation de la contribution des MOP issus de la litière.
- Les teneurs totales en **cuivre** augmentent dans les turricules et parois, le cuivre est également associé aux particules de sol ingérées par le ver. Cependant, la disponibilité du cuivre est similaire à celle du sol. Le changement de spéciation du cuivre n'a pas pu être mis en évidence par la technique d'extraction chimique employée. En revanche, le changement de localisation du cuivre observé grâce au fractionnement granulo-densimétrique suggère un changement de spéciation de cet élément dans les microsites.

- La dynamique du **zinc** est différente des trois autres éléments, car sa disponibilité varie selon la modalité. La disponibilité du zinc n'augmente pas dans les turricules de la modalité Témoin tandis qu'elle augmente dans la modalité Boue. Ces deux modalités recevant le même apport de litière, les différences observées résultent du sol. Le zinc géogène n'est pas remis en circulation par les activités lombriciennes alors que, le zinc issu de la boue serait remis en circulation par ces activités lombriciennes.

**Les lombriciens jouent un rôle dans la redistribution des éléments traces métalliques dans le sol, cette redistribution pouvant être de deux types : alimentaire et physico-chimique. La présence de litière ayant constitué un artéfact dans la redistribution alimentaire, la redistribution « physico-chimique » est alors masquée.**



## CHAPITRE V

### COMPOSITION CHIMIQUE DES PERCOLATS

## COMPOSITION CHIMIQUE DES PERCOLATS

---

Lors du chapitre précédent, une redistribution chimique et physique des éléments traces métalliques via les activités lombriciennes a été mise en évidence. Cette redistribution peut avoir un impact non négligeable sur la qualité des eaux de percolation. Les galeries lombriciennes constituants des voies préférentielles d'écoulement des eaux, les flux d'eau et d'éléments traces métalliques peuvent être différents en présence de lombriciens.

### 1. VOLUME DES EAUX DE PERCOLATION

Les volumes moyens de percolats récupérés chaque semaine sont représentés sur la figure V.1. La première semaine aucun percolat n'est récolté. La percolation se déroule suivant trois étapes. La **première étape** qui peut être appelée **phase initiale**, couvre les deux premières semaines. Elle montre une grande différence de percolation entre les deux modalités, Témoin et Boue. Au cours de cette phase, les différences intra-modalité (ver ou sans ver) sont faibles. 80% de l'eau apportée est récoltée dans les percolats de la modalité Boue, pour seulement 20% pour la modalité Témoin. Cette phase peut correspondre à une phase de ré-humectation du sol de la modalité Témoin. Les boues étant riches en eau (siccité 37.8%), la modalité Boue nécessite moins d'eau pour sa ré-humectation. Le taux d'humidité à 105°C, calculé en début d'expérimentation puis par la suite tous les 15 jours (prélèvement d'un aliquote de sol), pour les différentes modalités confirme cette hypothèse : le taux d'humidité en début d'expérimentation se situe pour les modalités Témoin entre 6 et 12%, et entre 15 et 20% pour les modalités Boue. La **deuxième étape**, semaines 2 à 4, est une **étape transitoire**, où le volume d'eau percolée augmente pour les modalités témoins, et diminue pour les modalités Boue. Après la 4<sup>ème</sup> semaine, une **troisième étape de stabilisation** se met en place. Le volume d'eau percolé est plus important pour les microcosmes avec ver, la présence de ver ayant une influence sur le drainage du sol. Des travaux réalisés au laboratoire (Joschko et al, 1989 ; Binet, 1993) et aux champs (Zachmann et al, 1987 ; Edwards et al, 1992 ; Shipitalo et Butt, 1999) montrent une augmentation du drainage en

présence de ver.

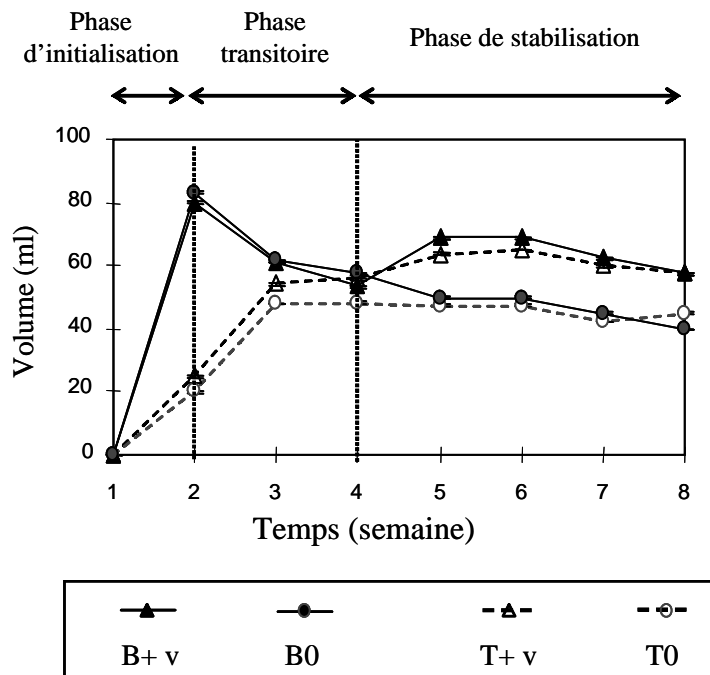


Figure V.1 Volume des percolats recueillis chaque semaine pour les microcosmes Témoin sans vers (T 0), Témoin avec ver (T + v), Boue sans ver (B0) , Boues avec ver (B +0)

## 2. CARBONE ORAGNIQUE DISSOUS DANS LES EAUX DE PERCOLATION

### 2.1 Concentration en COD dans les eaux de percolation

La figure V.2 présente les concentrations en carbone organique (CO) mesurées dans les eaux de percolation pour les différentes modalités avec ou sans ver.

Les concentrations en COD des eaux de percolation sont plus importantes pour la modalité Boue que pour la modalité Témoin. La présence de ver n'a pas d'effet apparent sur les concentrations en COD des eaux de percolation. Comme dans le cas des volumes d'eau de percolation, des variations importantes se produisent pendant les trois premières semaines d'expérimentation (phase de mise à l'équilibre des dispositifs), les concentrations étant plus stables ensuite. Entre 3 et 8 semaines, on note une diminution significative de la concentration en COD des eaux du sol de la modalité Témoin (15 à 10 mg.l<sup>-1</sup>). Pour la modalité Boue, les concentrations sont constantes sur la même période.

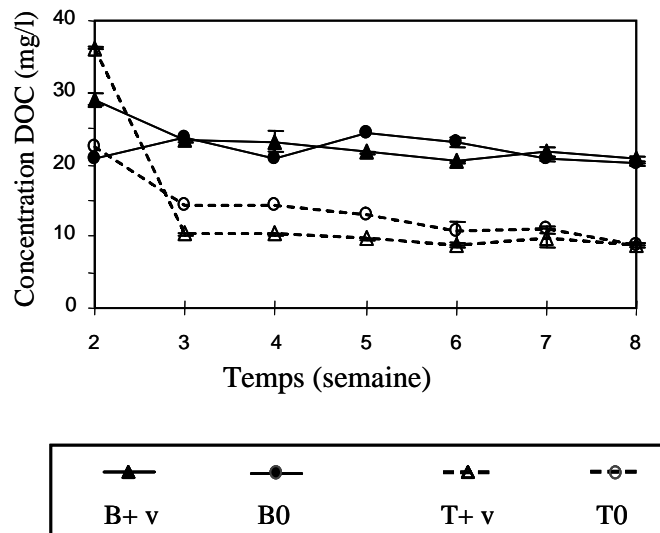


Figure V.2 Teneur en Carbone Organique Dissout (COD) dans les percolats recueillis chaque semaine pour les microcosmes Témoin sans vers (T0 ), Témoin avec ver (T+v), Boue sans ver (B) , Boues avec ver (B +v)

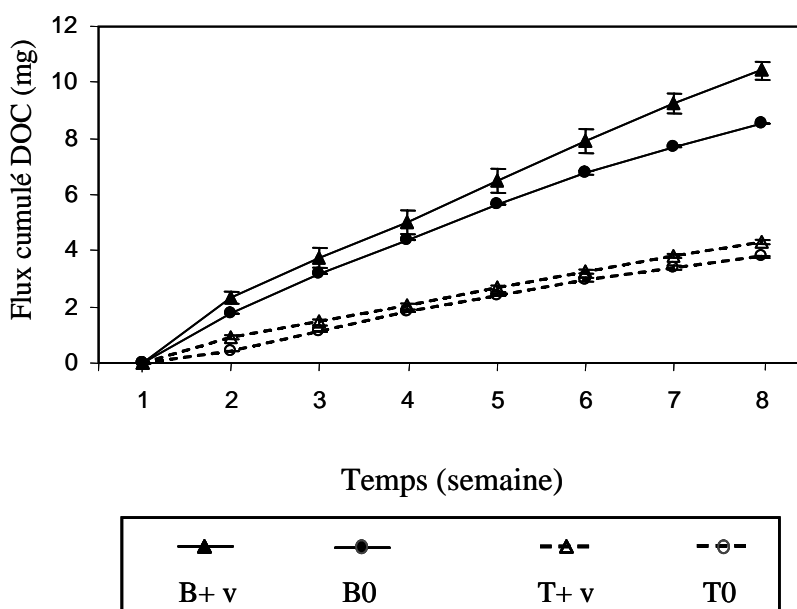
L'excès de COD constaté dans les eaux de percolation de la modalité Boue est la conséquence directe du passage en solution des fractions les plus hydrosolubles du carbone organique apporté par la boue. Les boues utilisées dans nos expériences contiennent environ 250 g de CO par kg de Matière Sèche (MS). Rapporté au 40g de MS apporté à nos microcosmes, cela constitue un surplus de 10 g de CO lié à l'apport de boue. De ce fait, le microcosme avec boue contient au départ 5 fois plus de CO que le microcosme Témoin. Alternativement, les molécules organiques contenues dans l'eau des percolats de la modalité boue peuvent être le résultat des effets de la boue sur le sol : les boues, riches en MO, ont un effet favorable sur les propriétés physico-chimiques du sol : structuration du sol, augmentation de la CEC et du pH pour les boues chaulées, apport de nutriment, ect... (Wei et al, 1985 ; Korantajer, 1991 ; Sort et Alcaniz, 1996). L'activité des micro-organismes se trouve également stimulée par l'apport de boues (White et al, 1997, Andres, 1999). L'accroissement de cette activité microbienne est susceptible de conduire à l'émission de molécules organiques hydrosolubles, lesquelles pourraient être entraînées par l'eau de percolation.

Cependant, à côté de ces effets stimulants à court terme, peuvent apparaître des effets toxiques entraînant une diminution de la biomasse microbienne et des activités enzymatiques (Bardgett et

Saggar, 1994, Giller et al, 1998, Khan et Scullion, 2002)

## **2.2 Flux cumulé de COD dans les eaux de percolation**

La figure IV.3 présente les flux cumulés de COD au cours du temps pour les différentes modalités. Comme pour les concentrations, les flux de COD sont plus importants pour la modalité boue que pour la modalité témoin sans boues. Un effet ver est observé pour la modalité boue : le flux cumulé de COD exporté est plus important pour la modalité Boue + ver que pour la modalité avec Boue sans ver. Pour la modalité Témoin, aucun effet ver significatif n'est mis en évidence.



*Figure V.3* Flux cumulés de COD exportés via les eaux de percolation en fonction du temps et pour les différentes modalités.

## **2.3 Discussion**

Dans le cadre de notre expérimentation, la présence de ver n'a pas occasionné une augmentation significative de la solubilité des matières organiques, qu'il s'agisse des matières organiques du sol ou de celles apportées par les boues. L'effet prépondérant observé sur le COD est un effet « Boue ». Les eaux de percolation des modalités boue sont plus chargées en COD que les eaux de percolation des modalités Témoin.

Au niveau des concentrations, au premier abord aucun effet ne semble se dégager. Cependant,

selon Stehouwer et al (1993), les teneurs en carbone labile dans les parois de galeries peuvent être 2 à 8 fois supérieures à celles du sol et ainsi contribuer à une augmentation des teneurs en C des eaux de percolation. Dans le cadre de notre expérience, les quantités de carbone rendues plus mobiles par l'activité du ver sont peut-être très faibles par rapport à la quantité de carbone du fond géochimique mobilisé lors de la percolation. Ce bruit de fond pourrait masquer la remise en solution du carbone par les activités lombriciennes. De plus, la durée d'expérimentation, 8 semaines, n'est peut-être pas assez longue pour mettre en évidence un effet ver. En effet, au cours de l'expérimentation, les concentrations en COD des modalités sans ver ont tendance à diminuer progressivement tout au long de l'expérimentation : l'apport d'eau solubilise des matières organiques qui sont alors progressivement éluées. Tandis que dans les modalités avec ver, un équilibre est atteint dès la 3<sup>ème</sup> semaine. Ces résultats semblent suggérer que dans notre sol, existe un pool de matières organiques hydrosolubles éluées via les eaux de percolation. L'éluition progressive et continue constatée dans les modalités sans ver serait due à la quantité de pores recrutés lors de la percolation. Dans ces modalités, il n'existe aucun chemin préférentiel d'écoulement des eaux. Lorsque l'eau est apportée en surface du microcosme, le nombre de chemin qu'elle peut emprunter est multiple. La probabilité qu'elle emprunte toujours les mêmes pores est faible. Le nombre de combinaison de pores recrutés lors de chaque percolation est différent, la surface explorée par l'eau est donc importante aussi et conduit à une éluition progressive des MO hydrosolubles. En revanche, la présence de galeries lombriciennes entraîne une combinaison stable des pores recrutés donc une éluition constante de ces MO hydrosolubles. Lors de chaque arrosage, l'eau aura tendance à emprunter le même chemin : la galerie. L'éluition de la MO hydrosoluble se limite à la surface explorée par l'eau, elle est donc moins importante pour les modalités avec ver, du fait de la présence de galeries. L'eau empruntant toujours le même chemin, les concentrations en COD des modalités avec ver devraient logiquement diminuer au cours du temps. Or, les concentrations en COD des modalités vers sont constantes, suggérant ainsi la présence d'un effet ver. L'enrichissement en C des galeries pourrait contribuer à ce que les concentrations de COD éluées soient constantes dans le temps.

Un effet "ver" est observé au niveau des flux. Celui-ci est particulièrement notable pour les modalités "boue" ou le flux total de COD exporté au bout de 8 semaines est de 20% plus élevé pour la modalité témoin avec vers que pour la modalité témoin sans ver (figure IV.3). Cette différence est la résultante des différences de volume d'eau percolé entre des deux mêmes

modalités. La présence de galeries est connue pour augmenter la conductivité hydraulique du sol. Dans le cas des modalités Boue, l'accroissement de la conductivité hydraulique de la modalité Boue avec vers par rapport à la modalité Témoin a entraîné une augmentation de 20% de la quantité d'eau percolée (figure V.1). Les concentrations en COD des deux modalités étant identiques (pas d'effet chimique), l'augmentation de la quantité d'eau totale percolée se traduit *in fine* par une augmentation de 20% du flux de COD exporté. Concernant les modalités Témoins, l'écart des flux de COD calculés entre la modalité avec vers et la modalité sans vers n'est que de 5%, alors que l'écart des flux d'eau est comme dans le cas précédent de 20%. En fait, cet écart entre flux de COD et flux d'eau dans le cas des modalités Témoins est due à l'inversion des concentrations en COD observée entre modalités : en effet

- [COD]<sub>sans vers</sub> > [COD]<sub>vers</sub> pour la modalité Témoin
- [COD]<sub>vers</sub> > [COD]<sub>sans vers</sub> pour la modalité Boue (figure V.2).

En l'état actuel de nos résultats, nous sommes dans l'incapacité d'expliquer cette inversion.

Dans le cadre de notre expérimentation, les modifications induites par la présence de vers sur le transfert du COD à l'échelle du profil de sol sont essentiellement d'ordre physique, liées à l'augmentation de la conductivité hydraulique (augmentation des flux transférés). Concernant une modification de la solubilité des matières organiques du sol ou des boues du fait de leur remaniement ou de leur métabolisation partielle par les vers implantés dans les microcosmes, un effet chimique pourrait intervenir, mais il n'a pu clairement être mis en évidence.

### **3. LES ETM DANS LES EAUX DE PERCOLATION**

Les concentrations en plomb, cuivre, zinc et cadmium des eaux de percolation pour les différentes modalités sont présentés dans la figure V.4. Les flux cumulés de ces éléments en fonction du temps sont présentés dans la figure V.5.

#### **3.1 Le Cuivre**

Les concentrations pour cet élément sont constantes dans le temps et plus élevées dans les modalités Boue (12 ppb en moyenne) que dans les modalités Témoin (8-10 ppb en moyenne). Aucun effet "vers" significatif n'est observé sur les concentrations en Cu. Il existe des similitudes entre les séries temporelles de cet élément et celles des concentrations en COD.

Concernant les flux, les quantités de Cu exportées sont plus élevées en présence de ver, du fait de l'augmentation de la conductivité hydraulique liée à la présence des galeries. Par ailleurs, les valeurs de flux sont plus élevées pour les modalités Boue que pour les modalités Témoin conformément aux différences de concentrations en cuivre observées entre ces deux modalités

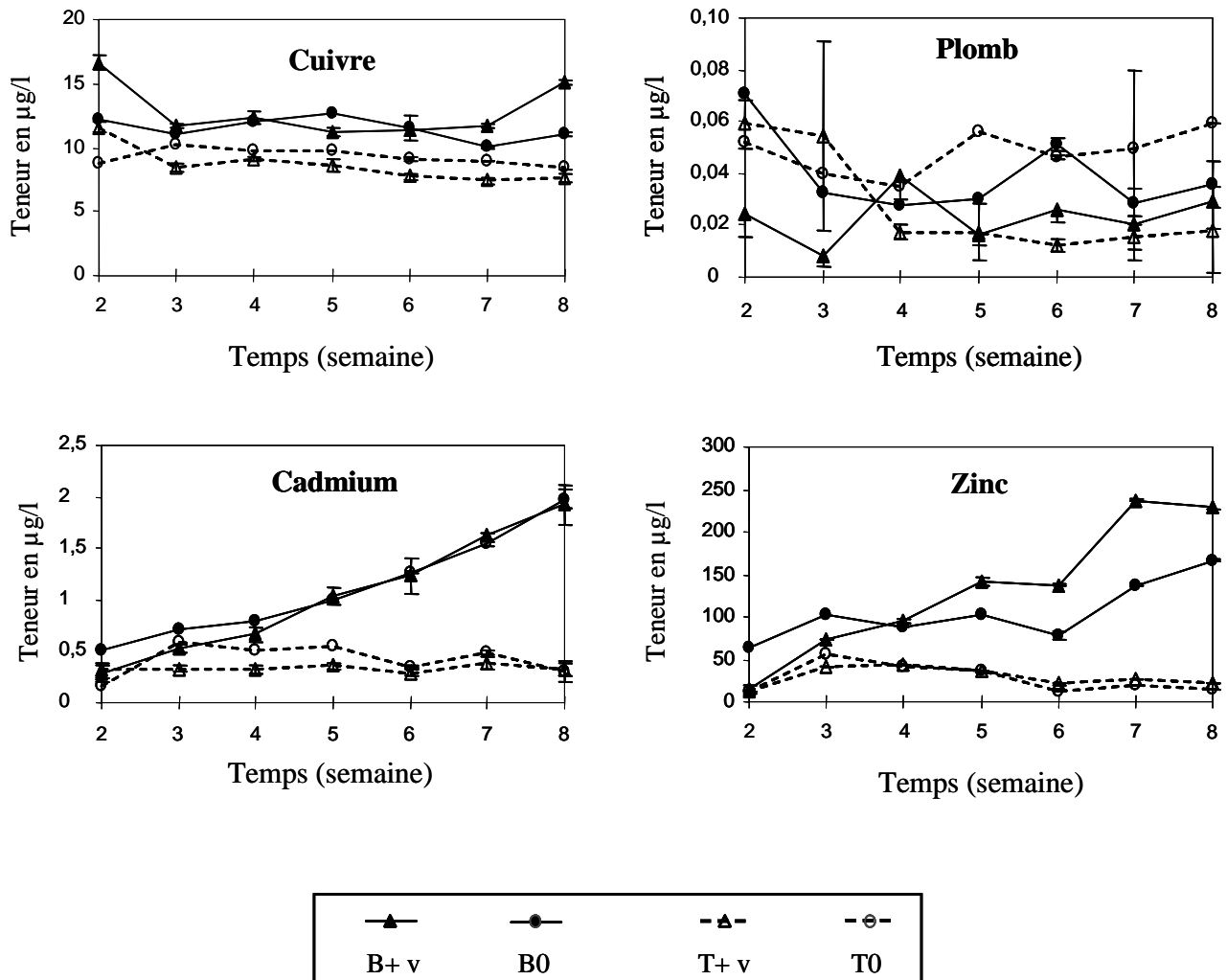


Figure V.4 Concentration en Cd, Zn, Pb et Cu dans les percolats recueillis chaque semaine pour les microcosmes Témoin sans vers (T0), Témoin avec ver (T+v), Boue sans ver (B0), Boues avec ver (B+v)



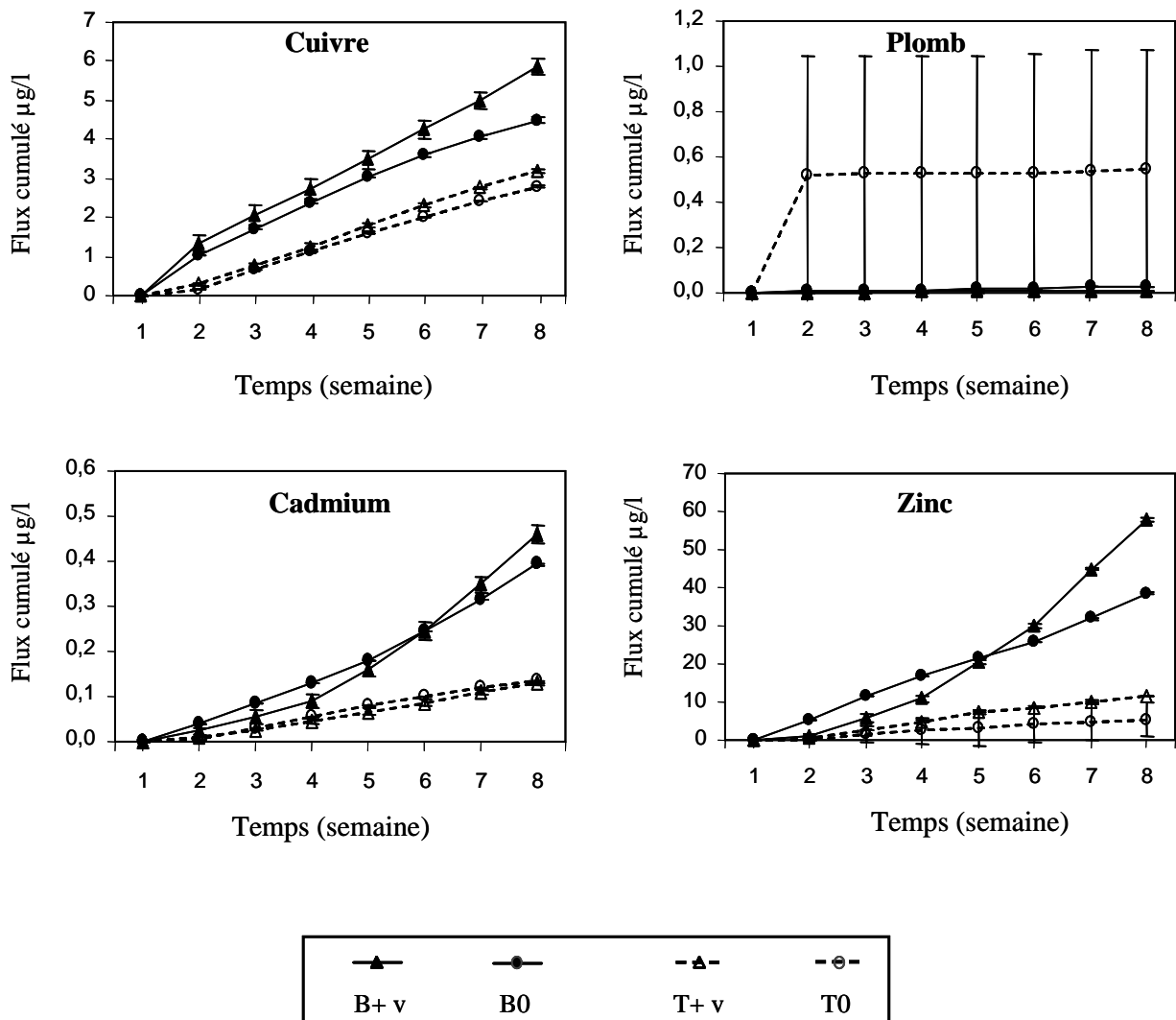


Figure V.5 Flux cumulés de Cu, Pb, Cd et Zn exportés via les eaux de percolation en fonction du temps et pour les modalités Témoin et Boue.

### 3.2 Le Plomb

Les concentrations en Pb sont très faibles pour tous les percolats (<0.1 ppb) (figure IV.4). Par ailleurs, aucune évolution temporelle significative n'est décelée. Cette constance des concentrations se retrouve au niveau des flux d'exportation cumulés, lesquels sont aussi très

proches les uns des autres (figure IV.4). En terme de flux, les modalités Boue n'exportent pas plus de Pb que les modalités Témoin. Par ailleurs, la présence de vers n'est pas un facteur d'augmentation du flux de Pb dissous. Les concentrations en plomb des percolats étant très faibles, des contaminations en plomb pouvant également intervenir, des erreurs analytiques peuvent se produire et expliquent l'important intervalle de confiance.

### **3.3 Le Cadmium**

Les teneurs en Cd des percolats varient de 0.2 à 2 ppb pour les modalités Boue et de 0.2 à 0.5 ppb pour les modalités Témoin. Les concentrations en cadmium des modalités Boue augmentent progressivement au cours du temps, tandis qu'elles restent constantes pour les modalités Témoin. En terme de concentration, la présence de vers ne semble avoir aucun effet, puisque les teneurs en Cd des percolats des modalités avec et sans vers s'avèrent être quasiment identiques. L'effet boue prédomine et se retrouve au niveau des flux. Pour les modalités Témoin, les flux sont constants : les quantités de cadmium exportées augmentant linéairement avec le temps. Pour les modalités Boue, l'augmentation des concentrations conduit à une augmentation exponentielle du flux exporté avec le temps. Comme pour le cuivre, l'augmentation de la conductivité hydraulique liée à la présence de galeries lombriciennes conduit à une augmentation des flux de cadmium pour la modalité Boue. En revanche, pour la modalité Témoin, l'augmentation de la conductivité hydraulique liée à la présence de ver ne conduit pas à une augmentation du flux de cadmium. Les concentrations en cadmium des modalités avec ver étant légèrement inférieure à celle de modalités sans vers, cette différence se répercute au niveau des flux.

### **3.4 Le Zinc**

Le comportement du Zn est similaire à celui du Cd en ce sens où les concentrations augmentent avec le temps pour les percolats provenant des modalités Boue, alors que ceux issus des modalités Témoin montrent des concentrations constantes à légèrement décroissantes dans le temps. Par ailleurs, et comme pour le Cd, les concentrations en Zn des percolats des modalités Boue sont 5 à 10 fois plus élevés (de 50 à 250 ppb) que celles des concentrations des percolats des modalités Témoin (1à à 50 ppb). Cependant et à l'inverse du Cd, pour les modalités boue, la présence de ver conduit à une forte augmentation des concentrations en Zn aboutissant à une différence significative de plus de 80ppb au niveau des concentrations après 8 semaines

d'expérimentations. Les courbes de flux du Zn dissous sont comparables à celles du Cd : les flux de Zn exporté par la modalité Boue augmentent exponentiellement, alors que les flux sont linéaires voire décroissants pour la modalité Témoin. L'effet ver observé pour les concentrations se répercute au niveau des flux par une augmentation de plus de 50% des flux de Zn en présence de ver.

### **3.5 Discussion**

Dans notre discussion, le cuivre et le plomb seront associés de même que le cadmium sera associé au zinc. Ces associations dépendent du comportement de ces éléments dans le sols : le cuivre et le plomb ayant une forte affinité pour la MO (Petruzzeli et al, 1978 ; Chang et al, 1984 ; Keller et Vedy, 1990 ; Flores-velez, 1996), le cadmium et le zinc ayant une affinité plus modérée pour la MO.

Les concentrations ainsi que les flux de plomb sont très faibles quelle que soit la modalité. Tandis que les concentrations et flux de cuivre sont plus importants : les flux de cuivre sont 10 fois supérieurs aux flux de plomb. Ces deux éléments étant fortement liés à la MO, ces résultats sont à mettre en parallèle avec ceux obtenus pour le COD. Les percolats des modalités Boue sont plus chargés en COD que les percolats des modalités Témoin. Ce résultat a été attribué à une plus grande labilité de la MO de la boue. Le plomb et le cuivre, associés à la MO devraient donc se retrouver dans les eaux de percolation. Or pour le plomb ce n'est pas le cas. Ces résultats suggèrent que le plomb et le cuivre ne sont pas associés aux mêmes composés organiques. Selon Cambier et al, (1999), le plomb migre peu et reste en surface car lié aux composés de poids moléculaires moyens (8000 Da) assimilé à des produits humiques. De plus selon Prudent et al (1993) les phénomènes de solubilisation du plomb apporté par du compost urbain sont ponctuels et interviennent 45 jours après épandage. Les concentrations en plomb dans les lixiviats de sol amendé par du compost sont généralement très faibles (Cambier et al, 1999). Tandis que le cuivre associé aux comportements des fines particules et de composés organiques de faible poids moléculaire (Cambier et al, 1999) présente un potentiel de migration rapide dans le sol (Prudent et al, 1997).

Ainsi dans notre expérience, le plomb serait associé à des complexes organiques stables qui sont faiblement entraînés par les eaux de percolation. Alors que le cuivre serait lié au pool de MO hydrosoluble entraîné par les eaux de percolation. Des analyses fines de spéciation du cuivre et

du plomb, dans le sol et dans les eaux de percolation seraient nécessaires à la vérification de cette hypothèse.

Le cadmium et le zinc sont deux éléments dont le comportement dans le sol est relativement similaire mais dans notre expérience, leur « comportement » diffère sur plusieurs points.

Les concentrations en cadmium et zinc des percolats sont plus importantes pour les modalités Boue que pour les modalités Témoin. Ces concentrations augmentent au cours du temps pour les modalités boues, tandis qu'elles restent stables pour les modalités témoin. Au niveau des concentrations, aucun effet ver n'est mis en évidence pour le cadmium. En revanche, un effet ver est mis en évidence pour le zinc dans les modalités Boues. En terme de flux, les tendances observées sont les mêmes que pour les concentrations. Toutefois, un effet ver est mis en évidence concernant les flux de cadmium pour les modalités boues, relié à l'augmentation de la conductivité hydraulique. Cependant, le cadmium migre dans le sol sans que la présence de galeries lombriciennes ne constitue des voies préférentielles de circulation. En effet, le cadmium migrerait dans les percolats via l'eau circulant dans la microporosité du sol. L'augmentation dans le temps des concentrations en cadmium des percolats pourrait alors correspondre au déplacement d'un front de cadmium labile apporté par la boue, du haut vers le bas du microcosme.

Le comportement du zinc est relativement similaire à celui du cadmium. Les concentrations et flux de zinc sont plus importants pour les modalités boues et augmentent au cours du temps. Ainsi, cet élément pourrait comme le cadmium circuler dans le sol via un front de migration de zinc labile apporté par les boues expliquant l'augmentation des concentrations en zinc dans les percolats au cours du temps. De plus, la présence de ver de terre pour la modalité Boue augmente les concentrations en zinc des percolats.

L'influence des lombriciens sur la migration d'un élément peut être de type physique ou chimique. Dans le cadre de notre expérimentation, l'influence physique liée à la présence de galeries lombriciennes a été mise en évidence dans le cas des flux de COD, Cu et Cd. Cependant, du fait de la « nature » des galeries, une influence chimique de ces structures sur le lessivage des éléments traces métalliques pourrait également intervenir. En effet, les parois de galeries constituent une sphère d'influence reconnue depuis quelques années : la drilosphère (Brown,

1998). Elles ont des propriétés physiques et chimiques différentes de celles du sol : le pH, les teneurs en argiles et les teneurs en carbone total et soluble différentes de celle du sol (Syers et Springett, 1983 ; Stehouwer et al, 1993 ; Gorres et al, 1997). L'augmentation de la conductivité hydraulique ne suffisant pas à expliquer les différences de flux de zinc observées en présence et en absence de ver. Pour cet élément, un effet chimique s'ajoute à l'effet physique, augmentant ainsi les flux de zinc dans les eaux de percolation.

#### **4. BILAN DES FLUX DE CARBONE ET ELEMENTS TRACES METALLIQUES**

Des bilans d'exportation des différents éléments dans le système sont réalisés pour les deux modalités en présence et/ou non de ver. Ces bilans permettent de quantifier les flux sortant par rapport à la matrice sol.

##### **4.1 Bilan des flux de carbone et ETM**

Les bilans des flux du carbone, cadmium, zinc, plomb et cuivre sont représentés dans les figures V.6 pour le carbone, V.7 et V.7 bis pour les ETM. Les flux de sortie du carbone et des éléments traces métalliques calculés sur la période d'étude, c'est-à-dire 8 semaines, sont très faibles. Les flux de sortie rapportés à la matrice sol varie au minimum de  $2.7 \cdot 10^{-5}$  % pour le plomb et au maximum de 0.18 % pour le cadmium, le plomb étant l'élément le moins mobilisé et le cadmium, l'élément le plus lessivé.

## Bilan du carbone

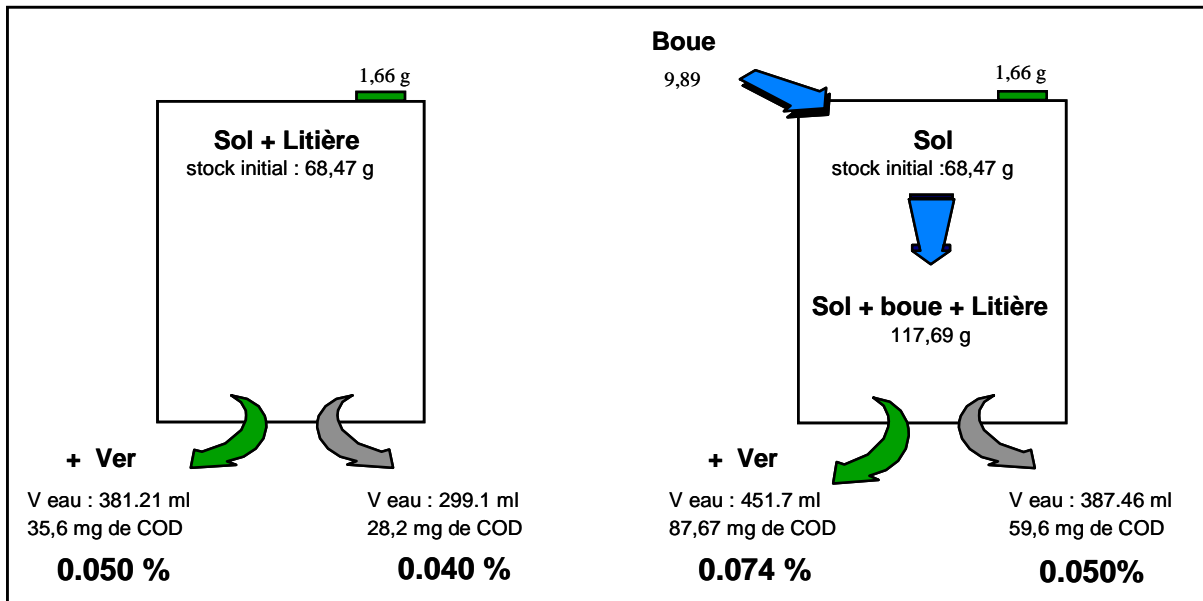


Figure V.6 Bilan de sortie du carbone par lessivage pour les microcosmes Témoin avec ver (T+v), Témoin sans vers (T0), Boues avec ver (B +v), Boue sans ver (B0)

Pour le **carbone** seulement 0,040% à 0,074% du carbone total passe en solution. La présence de vers de terre augmente les bilans de sortie du carbone. L'augmentation des flux de sortie du carbone en présence de vers serait la résultante de l'augmentation de la conductivité hydraulique et non de processus chimiques pouvant se dérouler dans la drilosphère

Le **cuivre** bien que moins mobilisé présente des bilans d'exportation similaires à ceux du COD. En présence de boue, les bilans d'exportations du cuivre sont plus importants. Selon Juste et al, (1995), l'apport de boues provoque une redistribution du cuivre dans le sol : des molécules organiques complexantes, produites lors des processus de biodégradation des boues participent à l'approvisionnement en métal de la solution du sol, d'où un lessivage plus important du cuivre pour ces modalités. Comme pour le COD, l'augmentation des bilans d'exportation de cuivre en présence de lombriciens pourrait être liée à l'augmentation de la conductivité hydraulique. Il ne faut cependant pas exclure l'hypothèse d'un effet chimique lié à la présence de vers, effet qui n'a pu être mis en évidence ici.

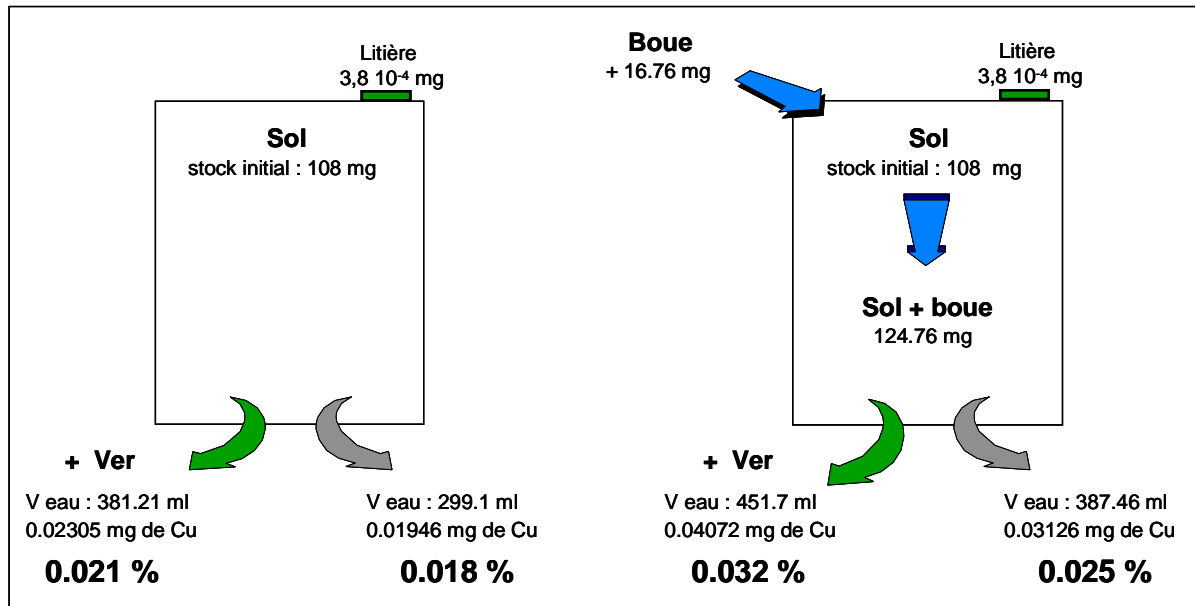
Le **plomb** est l'élément le moins mobilisé, seulement  $4,31 \cdot 10^{-5}$  % du plomb de la matrice passe en solution. Les bilans d'exportation du plomb sont plus importants pour la modalité Témoin que

pour la modalité Boue. Les boues joueraient un rôle de rétention du plomb. Le métal pourrait être immobilisé au sein de complexes organo-métalliques stables. De plus, la présence de lombriciens limite encore l'exportation du plomb. Le plomb pourrait également être séquestré dans ces structures. Les lombriciens et notamment *L. terrestris* rejettent du carbonate de calcium par leurs glandes calcifères (Lee, 1985). Le plomb pourrait donc se fixer à ce carbonates de calcium et se trouver alors immobiliser dans les galeries.

Le **cadmium** est l'élément dont l'exportation est la plus importante, 0.06 % et 0.18 % du cadmium total passe en solution respectivement pour les modalités témoin et boue, sans que les lombriciens y jouent un rôle. Le cadmium est reconnu comme étant un élément assez mobile (Legret et al, 1988 ; Baize, 1997). Après apport de boue, plus de cadmium passe en solution. Selon Illera et al, (2000), après apport de boue, les fractions du sol les plus enrichies en cadmium sont les fractions échangeable, acido-soluble (carbonates). Ces fractions étant les plus facilement mobilisables (Berti et Jacobs, 1996 ; Ma et Rao, 1997 ; Sloan et al, 1997), le cadmium peut migrer en profondeur via les eaux de percolation.

Comme pour le cadmium, les bilans du **zinc** sont plus importants pour la modalité Boue. Dans le cas du zinc, la présence de ver augmente les bilans d'exportations du zinc. Il semble donc que le ver ait une propension à mobiliser sélectivement le zinc des boues mais pas le cadmium. Il a été montré que le cadmium et le zinc entraînent en compétition lors des processus d'adsorption (Juste et al, 1995). Dans nos expériences, il est possible que le Zn apporté par les boues ait été préférentiellement adsorbé par rapport au Cd sur les constituants du sol ingérés par le ver. Des travaux ont montré que dans un sol amendé par des boues ou du compost (Canet et al, 1997 ; Luo et Christie, 1998 ; Illera et al, 2000), le zinc se distribue entre les fractions résiduelles et oxydables (lié à la MO). Une telle sélectivité dans l'adsorption pourrait expliquer les différences de comportement de ces deux métaux.

### Bilan du Cuivre



### Bilan du Plomb

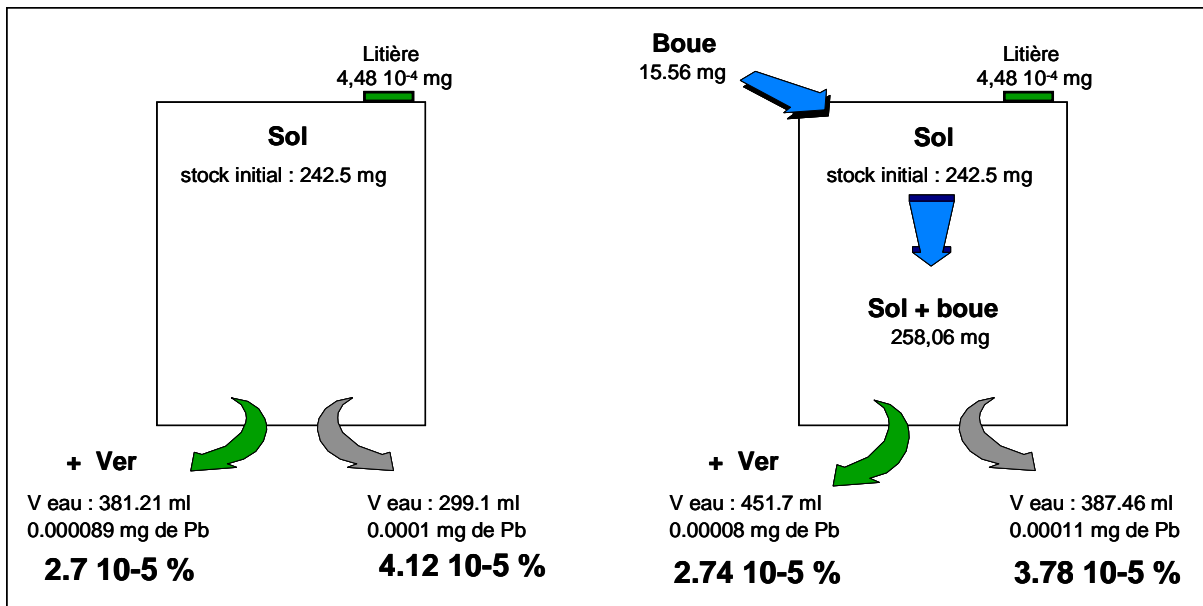
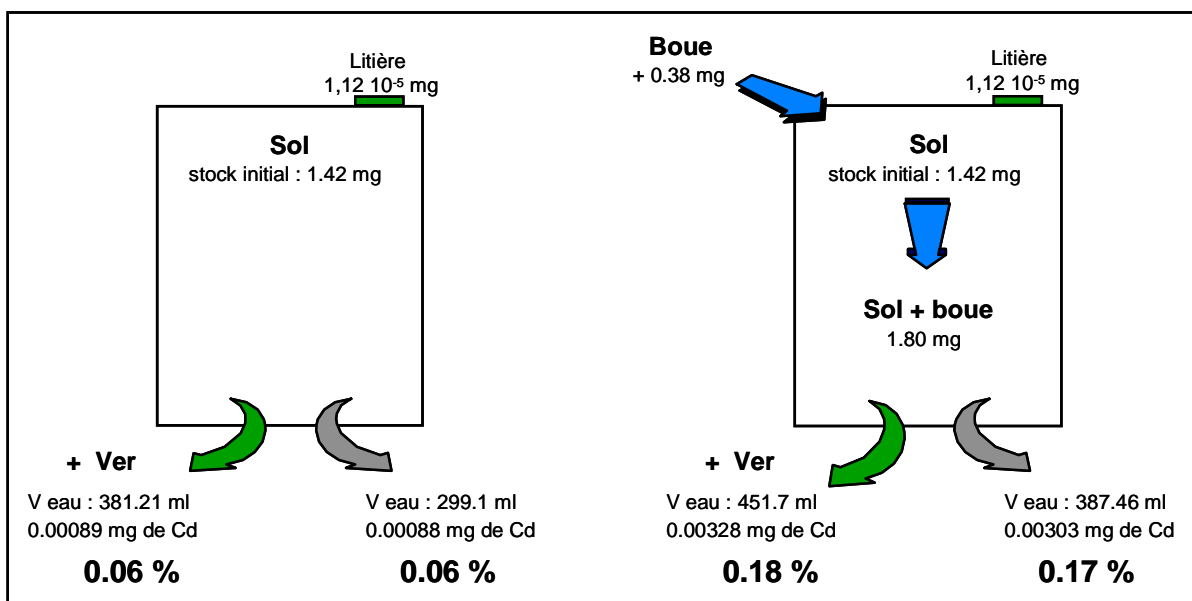


Figure V.7 Bilan de sortie par lessivage du Pb et du Cu, pour les microcosmes Témoin avec ver (T+ v), Témoin sans vers (T0), Boues + ver (B + v), Boue sans ver (B0)



### Bilan du cadmium



### Bilan du Zinc

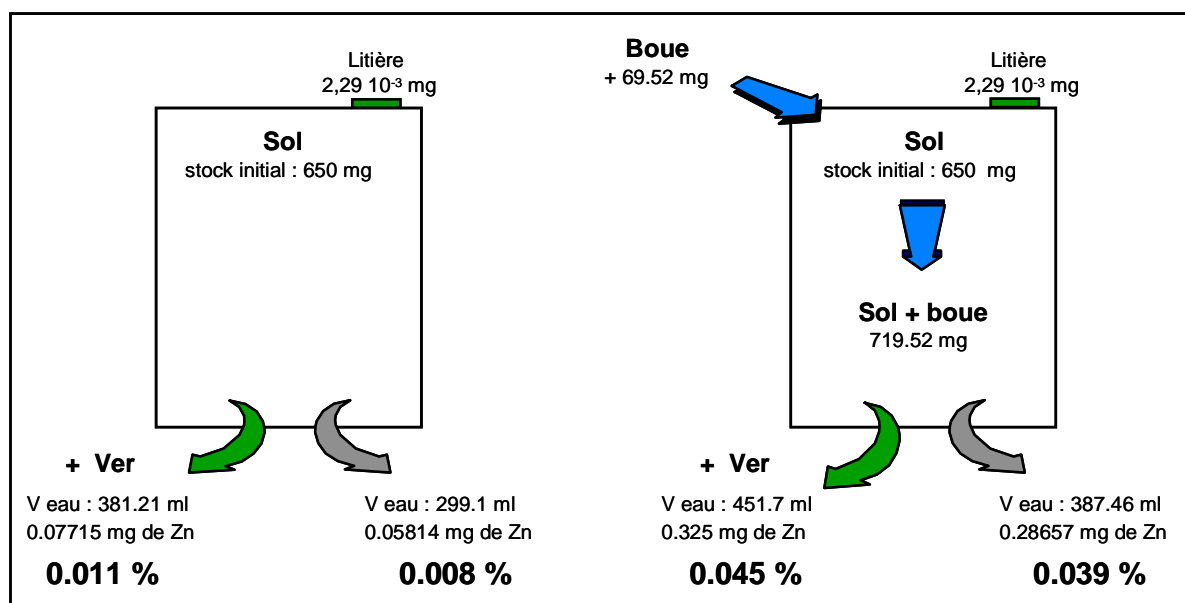


Figure V.8 Bilan de sortie par lessivage du Cd et du Zn, pour les microcosmes Témoin avec ver (T+ v), Témoin sans vers (T0), Boues avec ver (B + v), Boue sans ver (B0)

Ces bilans nous permettent d'aller plus loin dans l'interprétation par la quantification de l'effet boue et de l'effet ver. Ces effets sont calculés comme suit :

**Effet ver sur l'élément X [témoin]**

$$= \frac{[\text{Flux de sortie de X témoin} + V] - [\text{Flux de sortie de X témoin 0}]}{[\text{Flux de sortie de X témoin 0}]} * 100$$

**Effet boue sur l'élément X**

$$= \frac{[\text{Flux de sortie de X témoin} + V] - [\text{Flux de sortie de X boue} + V]}{[\text{Flux de sortie de X témoin 0}]} * 100$$

*Tableau V.1 – Quantification des effets boue et ver sur les flux d'éléments*

	COD	Cu	Pb	Cd	Zn
Effet ver [témoin]	+ 25 %	+ 16,67 %	- 34,47 %	0	+ 3,75 %
Effet ver [boue]	+ 48 %	+ 28 %	-27,51 %	+5,88%	+15,38 %
Effet boue [0 ver]	+ 25 %	+ 38,89 %	-8,25 %	+ 183,3 %	+ 387,5 %
Effet boue [+ ver]	+48 %	+ 52,3 %	+1,48	+ 200 %	+ 309,09 %

A l'exception du COD et du plomb, l'effet boue prédomine sur l'effet ver dans la remise en circulation du cuivre, cadmium et zinc. Cet effet est très important pour le cadmium et le zinc dont l'exportation augmente respectivement de 200 et 350% après apport de boue.

Pour le plomb, l'effet ver jouerait un rôle plus important que l'effet boue dans l'immobilisation du plomb. L'effet boue en présence de ver aboutissant à une augmentation de l'exportation du plomb. Ces résultats suggèrent que outre un effet ver sur la percolation, un effet ver de type physico-chimique semble également contrôler l'exportation du plomb. Concernant, le COD l'effet ver et boue sont de même ordre.

Par la formulation d'hypothèse, on peut aller encore plus loin dans l'identification de l'effet boue et de l'effet ver. L'effet boue peut se décomposer en deux : un premier effet lié à l'augmentation des teneurs en éléments dans le sol après apport de boue et un deuxième effet lié aux diverses réactions physico-chimiques induites par cet apport. Ces deux effets peuvent être différenciés par

un calcul théorique simple qui supposerait qu'il n'existe aucune interaction physico-chimique (changement de spéciation des éléments, modification de la conductivité hydraulique, ...) entre la boue et le sol. La quantité d'élément exporté par les eaux de percolation ne serait alors fonction que de la quantité d'élément apportée par la boue. Ceci signifierait que le rapport entre la quantité d'élément lessivé via les eaux de percolation et le stock d'élément dans la matrice de la modalité témoin en l'absence de ver serait égal à celui de la modalité Boue en absence de ver.

Soit :

$$\frac{[\text{Quantité de X lessivé pour la modalité témoin}]}{[\text{Stock de X dans le sol de la modalité témoin}]} = \frac{[\text{Quantité de X lessivé pour la modalité boue}]}{[\text{Stock de X dans le sol de la modalité boue}]}$$

La différence obtenue entre la valeur théorique et la valeur réelle d'élément lessivé serait alors la part pris par l'effet physico-chimique des boues.

Le même calcul théorique est appliqué aux modalités avec ver. La valeur théorique à la même signification que précédemment, associé à la présence de ver. La différence entre la valeur théorique et la valeur réelle correspondrait à la part d'élément exporté sous l'effet des modifications physico-chimique induites par l'action conjointe de la boue et du ver.

Lors des calculs, nous avons constaté que les valeurs théoriques calculées pour les modalités avec et sans vers étaient du même ordre. L'hypothèse posée est alors que l'effet boue due à l'augmentation des teneurs en élément est le même pour les modalités vers et sans vers. Ainsi, la différence entre les effets physico-chimiques observés pour les modalités sans vers et pour les modalités avec vers quantifierait l'effet physico-chimique lié à la présence de ver.

Les différents effets sont synthétisés dans les figures V.9 à V.13.

Ainsi pour le carbone selon les calculs réalisés, un effet séquestrant des boues est mis en évidence : la valeur théorique d'élution calculée d'après l'augmentation des teneurs en COD dans la modalité boue étant supérieur (70%) à la valeur réelle (25%). En revanche, la présence de ver de terre favoriserait le lessivage du COD. L'effet séquestrant de la boue est supérieur et s'oppose à l'effet « éluant » des vers : celui-ci est donc masqué. L'effet ver de 23% serait dû aux modifications physico-chimiques intervenant dans les parois de galeries.

L'apport de boue augmente le lessivage de cuivre de 38,89 % en l'absence de ver et de 52,3% en

présence de ver. L'augmentation des teneurs en cuivre dans la modalité boue serait responsable de 14 à 15% du cuivre élué. Ainsi 23,3% du cuivre élué serait lié aux processus physico-chimiques induit par l'apport de boue. L'effet ver serait alors de 14%.

Les résultats pour le plomb sont variables. Ainsi en l'absence de ver, l'apport de boue limite l'élution du plomb tandis qu'en présence de ver l'apport de boue augmente le lessivage du plomb. Les boues ont un effet séquestrant sur le lessivage du plomb. Cet effet boue étant dans le cas des modalités avec ver contrebalancé par effet ver qui lui va plutôt favoriser l'élution du plomb. Ainsi selon l'origine du plomb, le ver va avoir un action différente : il limite l'élution du plomb géogène, il favorise l'élution du plomb exogène. Les résultats concernant cet élément sont cependant à prendre avec précautions, rapport aux incertitudes de mesures liées aux faibles concentrations mesurées et aux problèmes de pollution.

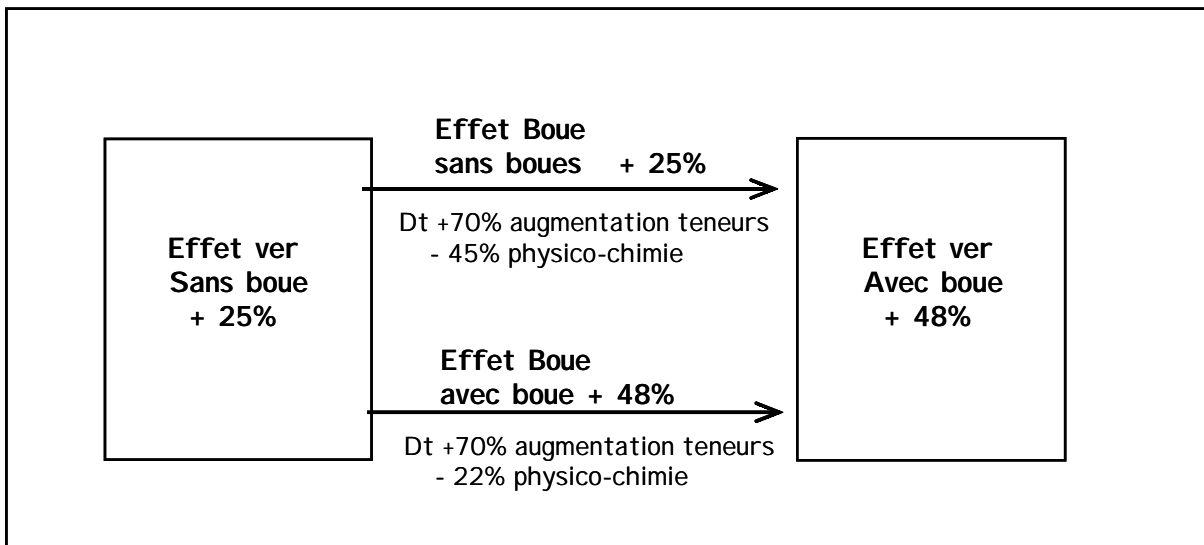
L'apport de boue augmente fortement le lessivage du cadmium et du zinc de 200% et de 350% environ respectivement pour le cadmium et le zinc. Cette augmentation étant lié pour plus de 150% dans le cas du cadmium et plus de 366% dans le cas du zinc aux modifications physico-chimiques s'opérant dans le sol suite à l'apport de boue. Si dans le cas du cadmium, l'effet ver s'ajoute à l'effet boue, dans le cas du zinc, l'effet ver s'oppose à l'effet boue.

Ainsi, la présence de ver favorise l'élution du cadmium et limite l'élution du zinc.

Ces résultats semblent s'opposer à ceux obtenus dans le cadre des flux. Cela veut seulement signifier qu'en l'absence d'interactions entre les lombriciens et le zinc provenant des boues, les flux de zinc seraient encore plus importants. Les interactions physico-chimiques ver/Zn s'opposent alors à l'effet des vers sur le drainage.

Ces calculs montrent l'existence de la présence d'un effet physico-chimique lié à la présence de ver. Cet effet peut accélérer l'exportation d'élément, c'est le cas pour le carbone, le cuivre et le cadmium, ou ralentir l'élution c'est le cas du zinc.

## Carbone



*Figure V.9* Bilan des effets des vers et de la boue sur le lessivage du COD

## Cuivre

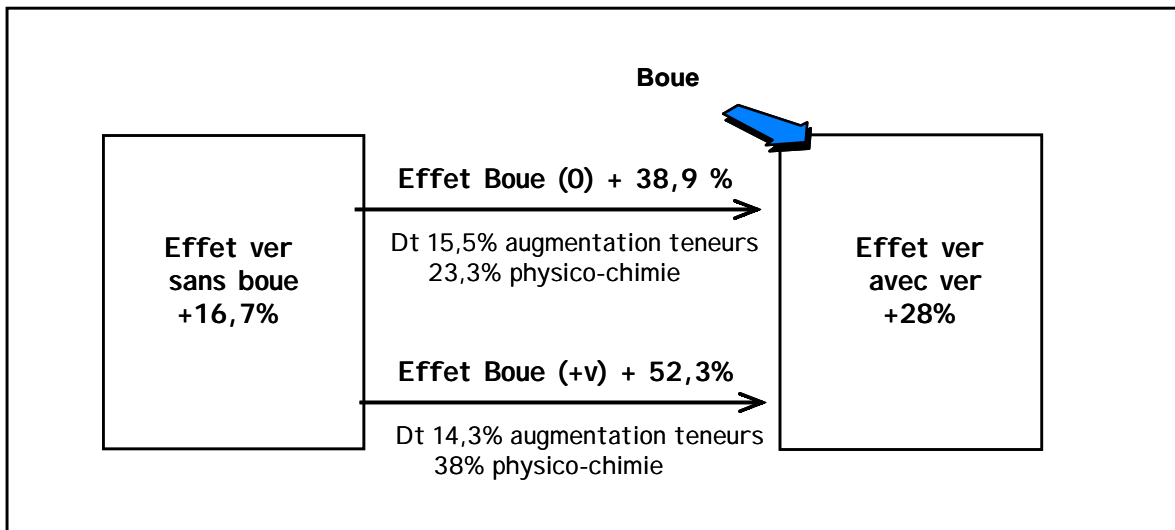


Figure V.10 Bilan des effets des vers et des boue sur le lessivage du cuivre

## Plomb

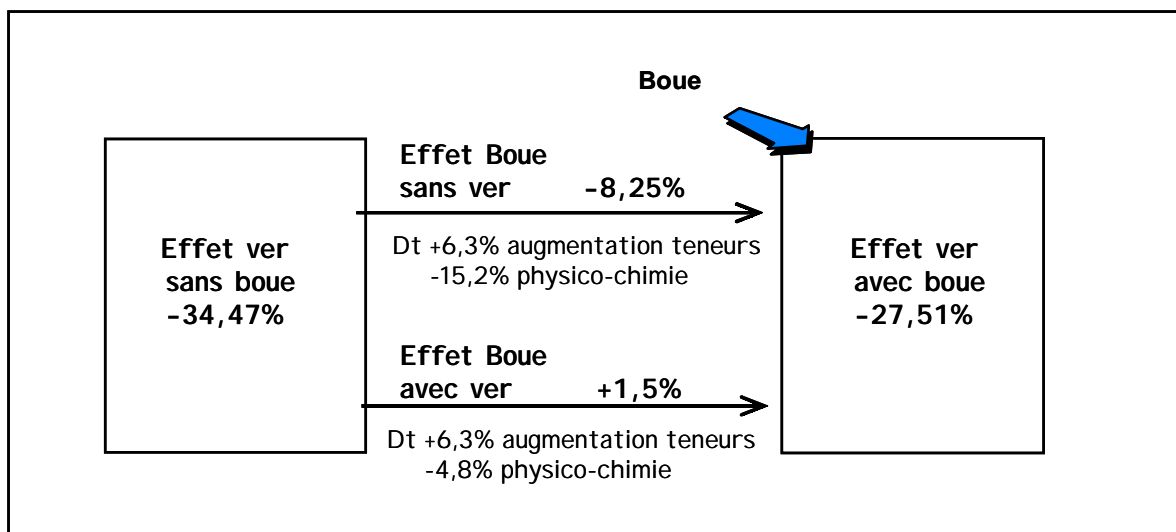


Figure V.11 Bilan des effets des vers et de la boue sur le lessivage du plomb

## Cadmium

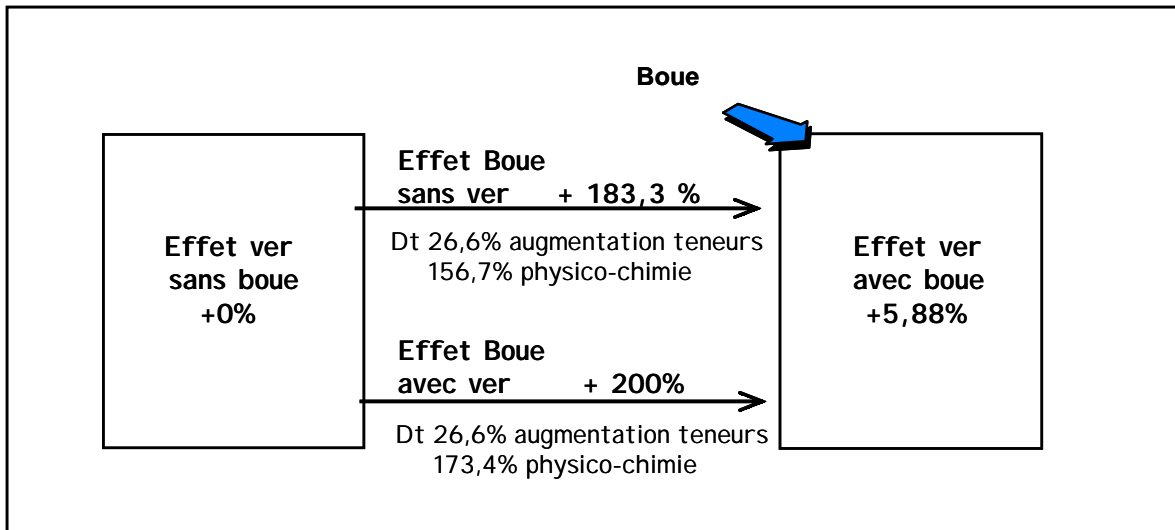


Figure V.12 Bilan des effets des vers et de la boue sur le lessivage du cadmium

## Zinc

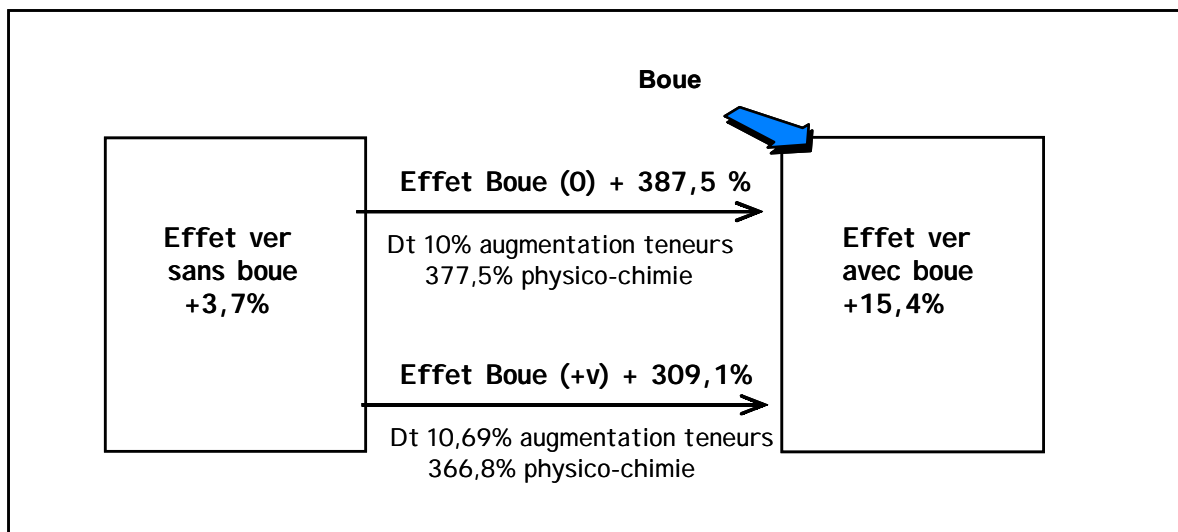


Figure V.13 Bilan des effets des vers et de la boue sur le lessivage du Zinc

### 4.2 Le risque Boue

Nous avons voulu quantifier un éventuel risque Boue. C'est à dire déterminer la probabilité que les ETM présents dans les boues se retrouvent dissous dans les eaux de percolation. Ce risque a

été quantifié en calculant les deux indices suivants :

$I_1$

$$\frac{[(\% \text{ de } x \text{ lessivé pour la modalité boue}) - (\% \text{ de } x \text{ lessivé pour la modalité témoin})] * 100}{(\% \text{ de } x \text{ lessive pour la modalité boue})}$$

$I_2$

$$\frac{(\text{Quantité total de } x \text{ lessivé provenant de la boue}) * 100}{(\text{Quantité total de } x \text{ apporté par la boue})}$$

*Tableau V.2 Indice  $I_1$*

	Carbone	Cuivre	Plomb	Cadmium	Zinc
I1 (sans ver)	20	28	-	64,70	79,4
I1 (+ ver)	32,43	34,37	-	66,6	75,5

*Tableau V.3 Indice  $I_2$*

	Carbone	Cuivre	Plomb	Cadmium	Zinc
I2 (sans ver)	0,04	0,01	-	0,06	0,04
I2 (+ ver)	0,06	0,015	-	0,08	0,06

L'indice  $I_1$  quantifie la fraction d' ETM présent dans les percolats ayant la boue comme origine. L'indice  $I_2$ , quant à lui, exprime la fraction du stock total d'ETM contenu dans la boue qui a été mobilisée par la solution de percolation. Les deux indices sont calculés en absence de ver et en présence de ver. Les calculs mettent en évidence des indices  $I_1$  élevés pour le cadmium et le zinc, éléments pour lesquels 67 % à 79% du flux total exporté pendant les 8 semaines qu'ont duré les expériences proviendrait des boues. Pour le cuivre, l'indice  $I_1$  descend à 50. Pour le plomb, cet indice est nul étant donné que le lessivage de plomb en présence de boue est inférieur aux témoins.



Concernant l'indice  $I_2$ , les valeurs les plus élevées sont obtenues pour le Cd (0.6%) et le Zn (0.3%); pour le Cu la valeur de l'indice est de 0.1%; pour le plomb une valeur négative est obtenue, les modalités Boue exportant moins de Pb que les modalités Témoin.

Le risque boue existe notamment pour le cadmium et le zinc dont plus de 50% de ces éléments retrouvé dans les percolats provient de la boue. Cependant, ce risque reste très faible, l'indice  $I_2$  étant compris entre 0,06 pour le cadmium et 0,01 pour le cuivre. La présence de ver de terre accélère ce processus d'élution. Cette augmentation étant faible, le risque boue reste minime.

## **5. DISCUSSION GENERALE**

Pour de nombreux chercheurs (Emmerich et al, 1982 ; Smith, 1996 ; Lozano Cerezo et al, 1999), la mobilité potentielle des éléments traces issus de boues de station d'épuration via les eaux de percolation est réduite. La plupart de ces travaux sont réalisés au laboratoire sur des colonnes compactées et ne prennent pas en compte la macroporosité (Richards et al, 1998). Ces voies préférentielles peuvent accélérer le mouvement de l'eau et des solutés dans le profil de sol (Stagnitti et al, 1991 ; Steenhuis et al, 1995). Les galeries de ver de terre sont reconnues pour être des voies préférentielles d'écoulement des eaux (Ehlers, 1975 ; Zachmann et al, 1987 ; Shipitalo et Butt, 1999). Elles peuvent augmenter de 8 à 9 fois la conductivité hydraulique (Joschko et al, 1992) augmentant par la-même les flux de solutés (Steenhuis et al, 1990 ; Shipitalo et al, 1994). Elles sont également reconnues pour être des interfaces réactifs, capables de favoriser le transfert des solutés du sol vers la solution du sol. Ainsi, il a été démontré que certaines parois de galeries étaient enrichie en  $\text{NO}_3^-$  soluble et en carbone organique labile (Syers et Springett, 1983 ; Stehouwer, 1993). Par ailleurs, d'après les travaux de Binet (1993), la quantité de  $\text{NH}_4^+$  exportable par lixiviation serait accrue d'un facteur 5 en présence de ver.

Dans le cadre de notre expérience, aucun effet ver significatif n'est mis en évidence pour aucune des deux modalités (sans boue ou avec boue) au niveau des concentrations. Ce qui ne veut pas dire pour autant que cet effet n'existe pas. L'effet ver est peut être masqué par l'effet boue largement prédominant. En effet, à l'exception du plomb, les concentrations en COD et éléments traces métalliques dans les eaux de percolation sont supérieures pour les modalités Boues, avec et sans ver. Les éléments traces métalliques provenant des boues sont présents sous des formes chimiques assez réactives potentiellement plus labiles que les éléments traces géogènes. Ceux-ci

sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Baize, 1997). Les ETM provenant des boues peuvent donc être lessivés à court terme via les eaux de percolation. Seul le plomb dont les teneurs diminuent dans les percolats des modalités Boue semble être immobilisé suite à l'apport de boue. Une partie de la MO apportée par les boues s'apparente à la MO humifiée du sol, et résiste à la décomposition dans le sol (Terry et al, 1979 ; Gerritse et al, 1982). Le plomb pourrait donc être immobilisé au sein de tels complexes organiques stables peu labiles. Les concentrations en cuivre évoluent de façon similaire à celles du COD. Ces résultats suggèrent la présence de deux types de MO : l'une hydrosoluble à laquelle le cuivre sans être fixé, et l'autre peu labile à laquelle le plomb serait lié. Les concentrations en zinc et cadmium des percolats des modalités Boue augmentent au cours du temps indifféremment à la présence de ver. Ces observations suggèrent la migration d'un front labile de ces deux éléments du haut vers le bas du microcosme. Les travaux de Scokart et al (1983) montrent également une migration du cadmium et du zinc vers les horizons situés en dessous de l'apport de boue. La spéciation de ces deux éléments traces dans les boues (Illera et al, 2000) pourrait expliquer que ces deux éléments migrent vers les horizons sous-jacents.

En terme de flux, un effet ver est observé pour les modalités Boue notamment. Cet effet ver est avant tout lié à l'augmentation de la conductivité hydraulique. Cet effet physique direct est mis en évidence pour le cadmium, le cuivre et le zinc. Un effet indirect, lié aux propriétés physico-chimiques particulières des parois de galeries, peut également favoriser le lessivage des ETM via les eaux de percolation. Cet effet indirect n'a été mis en évidence que pour le zinc.

La contribution des lombriciens dans les transferts de COD et d'éléments traces métalliques vers les eaux souterraines est modeste. Cette contribution peut être de type physique : en présence de ver, la conductivité hydraulique augmente et par conséquent le transfert de soluté et de type physico-chimique : les interactions ver/ETM dans les parois de galeries pouvant accélérer ou limiter le transfert de soluté.

## CHAPITRE VI

### DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

## DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

---

Le rôle des lombriciens dans la redistribution des ETM dans le sol a pu être mis en évidence au cours de ce travail par le biais de deux approches. La première nous a permis d'étudier au moyen de deux techniques complémentaires (chimique et physique) la redistribution des ETM entre les différents compartiments étudiés (sol, turricule et parois de galeries) et au sein de ces différents compartiments (disponibilité, répartition granulo-densimétrique). La deuxième a permis d'évaluer le rôle des lombriciens sur la qualité des eaux de percolation et notamment leur charge en ETM.

La redistribution des ETM via les activités lombriciennes est étudiée à deux niveaux :

- **inter-compartiment**, c'est-à-dire les différences de concentrations totales en ETM entre le sol et les microsites ;
- **intra-compartiment**, c'est-à-dire la disponibilité et la répartition granulo-densimétrique des ETM au sein même de ces microsites.

Les éléments traces métalliques ne sont pas concentrés dans les turricules et encore moins dans les galeries. Le cadmium est le seul élément dont les teneurs dans les turricules et les parois de galeries sont inférieures à celles obtenues dans le sol. La concentration d'un élément dans les turricules et parois de galeries dépend de l'espèce lombricienne considérée et de ses préférences alimentaires (Morgan et Morgan, 1992). Ainsi, l'ingestion sélective de particules plus ou moins contaminées selon les préférences alimentaires d'un vers de terre entraîne une concentration plus ou moins accentuée de ces éléments dans ses faeces et dans ses galeries. La présence de litière a orienté le comportement alimentaire du ver, qui a préférentiellement ingéré cette litière non contaminée plutôt que la MOS. Ceci entraîne une dilution des teneurs en Cd, Zn Pb et Cd au sein des turricules et parois de galeries, ce qui explique que l'apport de boue, et par conséquent

l'augmentation des teneurs en ETM dans le sol, n'a pas conduit à une concentration des ETM dans les turricules et parois de galeries. Cependant, la durée de l'expérimentation (9 mois) ne permettait pas le maintien de la période de jeun des lombriciens au delà de 2 mois. La séparation des turricules en deux lots, avant apport de litière et après apport de litière, aurait peut-être permis de voir une différence dans l'accumulation de nos 4 ETM dans les turricules.

Toutefois si le Cu, Pb, Zn et Cd ne sont pas concentrés dans les turricules et les parois de galeries, leur disponibilité et leur répartition granulo-densimétrique est modifiée dans les biostructures.

La composition des déjections et notamment leur granulométrie (Chapuis-Lardy et al, 1998) dépend du comportement alimentaire du ver. Ainsi, là encore, l'ingestion de litière joue un rôle important dans la granulométrie et la répartition des ETM au sein de ces fractions dans les turricules et parois de galeries. Ainsi, la présence de débris organiques ou MOP augmente considérablement dans les microsites par rapport au sol environnant, allant jusqu'à représenter 20% de la granulométrie totale des turricules : ces MOP étant issus en majeure partie de la litière déposée en surface des microcosmes. Du fait de leur importance en terme de granulométrie, la contribution des MOP (matières organiques particulières) dans le stockage du Cu, Pb, Cd et Zn augmente dans les turricules et les parois de galeries. De plus, ces MOP possèdent des groupements organiques (COO<sup>-</sup>) capables de complexer les ETM et par conséquent, elles peuvent constituer une fraction de stockage des ETM.

La redistribution chimique ou disponibilité des ETM dans les microsites varie selon le métal et la modalité. Ainsi, en terme de redistribution chimique, par rapport au sol environnant :

- ✓ La disponibilité du Cu n'est pas modifiée,
- ✓ Le Cd et le Pb sont plus disponibles dans les turricules et les parois de galeries,
- ✓ Le Zn est plus disponible dans les microsites de la modalité Boue uniquement.

Le changement de disponibilité observé pourrait être lié à l'augmentation de la quantité de MOP dans les biostructures. En effet, ces MOP constituent les formes les moins stables de la matière organique, car peu transformées et donc facilement biodégradables par les microorganismes;

cette faible stabilité peut alors aboutir à un relargage des ETM (Balesdent et al, 1988).

Dans les turricules et parois de galeries, la redistribution des ETM vers les MOP pourrait donc conduire à une augmentation de la disponibilité des ETM.

Pour le **cuivre**, la redistribution physique ne s'accompagne pas d'une redistribution chimique : le test d'extraction chimique employé ne suffit pas à mettre en évidence un changement de disponibilité de cet élément au niveau des microsites.

Pour le **cadmium** et le **plomb**, la redistribution des ETM dans les MOP s'accompagne d'une augmentation de disponibilité dans les microsites quelle que soit la modalité.

Pour ces trois éléments, l'effet ver prédomine sur l'effet Boue, l'apport de boue ne modifiant pas la redistribution de ces éléments dans les microsites par rapport à la modalité Témoin. Les hypothèses posées sont, soit que la redistribution de ces éléments est liée en majorité à l'ingestion de litière et donc à un effet ver, soit que le Cu, le Pb et le Cd du fond géochimique sont redistribués au même titre que les ETM provenant de la boue.

Le comportement du **zinc** est différent : sa disponibilité dans les turricules et parois de galeries varie selon la modalité : elle est similaire à celle du sol dans le cas de la modalité Témoin, tandis qu'elle augmente dans le cas de la modalité Boue. Ces résultats suggèrent que le zinc géogène n'est pas mobilisé par les réactions liées aux activités des lombriciens (digestion, sécrétion de mucus, ...), alors qu'à l'inverse le zinc apporté par la boue est redistribué par les activités lombriciennes.

La redistribution des ETM par les lombriciens se fait selon deux grands processus :

- Une **redistribution** liée au comportement **alimentaire** sélectif du ver qui va ingérer des particules de sol plus ou moins contaminées et induire la concentration ou non de ces 4 ETM dans les turricules et parois de galeries par rapport au sol. De ce comportement sélectif va dépendre également la distribution des ETM au sein même des microsites.
- Une **redistribution** liée aux réactions **physico-chimiques** engendrées par la présence et les activités (ingestion de sol, bioturbation, ect..) des lombriciens : La spéciation du Cu, Pb, Cd et Zn est ainsi modifiée, entraînant leur redistribution au sein même des microsites.

Les parois de galeries constituant des voies préférentielles d'écoulement des eaux, la redistribution des ETM dans ces structures peut jouer un rôle sur la qualité des eaux de percolation.

La présence de galeries accélère la circulation de l'eau dans la colonne de sol. (Francis et Fraser, 1998 ; Shipithalo et al, 2000). Ceci permet de penser qu'à teneurs équivalentes en ETM, leur flux subit un accroissement corrélatif. De plus, les galeries constituent des interfaces chimiques réactives qui peuvent modifier la spéciation des ETM (Scheu, 1987 ; Lee, 1985, Shipitalo et Protz, 1989 ; Devliegher et Verstraete, 1997) et ainsi accélérer ou retarder le transfert de ces éléments vers la solution du sol. Les variations de flux observées entre modalités avec et sans vers sont la résultante de deux processus qui peuvent selon leur nature, cumuler leurs effets ou les soustraire :

- **Un processus physique** se traduisant par une augmentation de la conductivité hydraulique via les galeries et l'augmentation des surfaces de contact.
- **Un processus «physico-chimique»** se traduisant par un changement de spéciation des éléments traces métalliques dans les galeries.

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en évidence une augmentation de la conductivité hydraulique en présence de lombriciens. Cependant, l'impact des processus « physico-chimiques » se déroulant à l'interface galeries / eau n'a pas pu être dissocié du précédent, en raison de difficultés techniques et méthodologiques. En effet, dans les microcosmes sans vers soumis à une percolation plus lente, le processus « physico-chimique » a pu être masqué par la mise en solution d'éléments présents dans la fraction hydrosoluble. Dans les modalités avec vers, l'eau apportée en surface du microcosme va emprunter préférentiellement la macroporosité : les pores recrutés lors de chaque apport d'eau étant les mêmes. Pour les modalités sans ver, l'absence de macroporosité fait qu'un nombre plus important de pores est recruté par l'eau de percolation : la fraction hydrosoluble des ETM sollicitée au cours de ces arrosages successifs peut être plus importante à la différence des modalités avec ver où l'eau emprunte préférentiellement la macroporosité d'origine lombricienne et la méso et micro circumvoisines. Cette fraction hydrosoluble constitue une sorte de bruit de fond et peut masquer l'effet « physico-chimique » des vers.

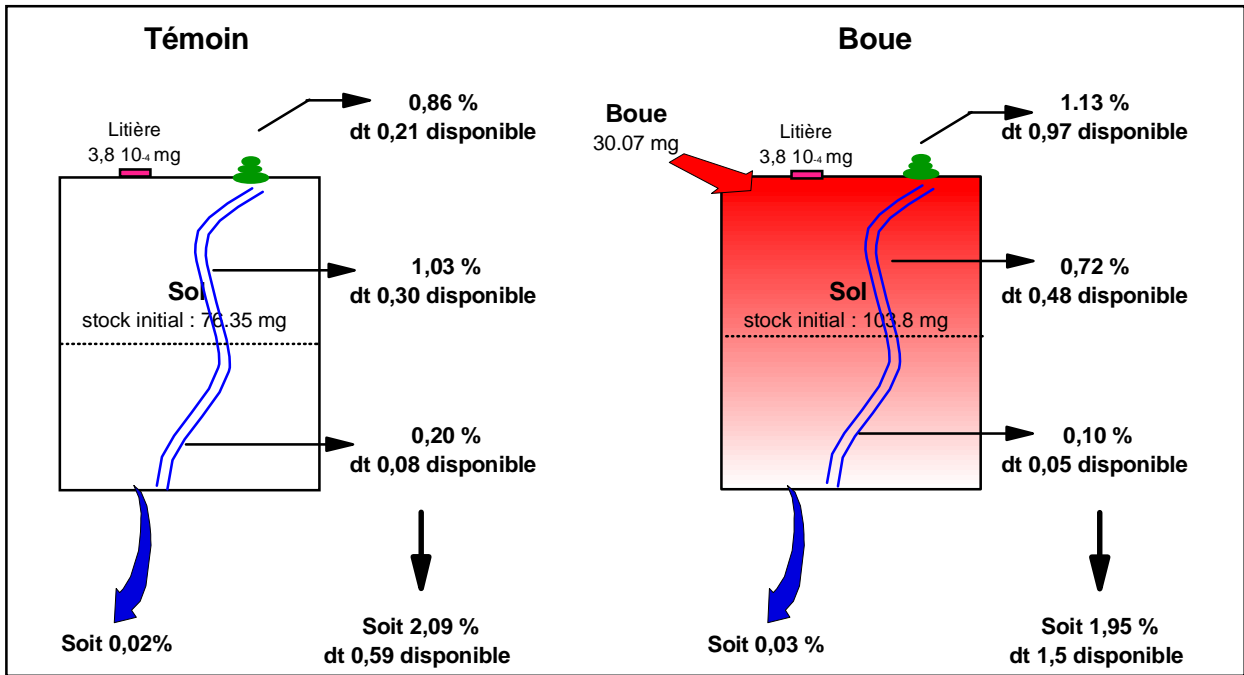
Un autre résultat obtenu dans le cadre de cette expérimentation est la prépondérance d'un effet boue par rapport à celui des vers. Les flux d'ETM sont toujours plus importants pour les modalités Boue. Ce résultat apporte un élément supplémentaire dans la compréhension de la mobilité des ETM issus des boues de station d'épuration dans le sol. En effet, des travaux réalisés en laboratoire montrent une immobilisation dans les horizons de surface des ETM apportés par les boues (Giodarno et Mortvedt, 1976 ; Emmerich et al, 1982 ; Dowdy et al, 1991) : cette immobilisation étant déduite de l'absence de migration d'ETM vers les niveaux sous-jacents. Cependant, malgré l'absence de migration d'éléments, l'impossibilité de boucler les bilans de masse à 100% suggère vraisemblablement une perte d'élément (Chang et al, 1984 ; Dowdy et al, 1991 ; Sterck et Richter, 1997). De récentes études démontrent que les ETM apportés par les boues ne sont pas totalement immobilisés au sein des fractions solides du sol mais qu'une partie de ces ETM peut passer en solution (Camobreco et al, 1996 ; Mc Bride et al, 1997 ; Richards et al, 1998). L'absence de migration d'un élément dans le sol ne signifie donc pas que cet élément soit immobilisé dans les phases solides du sol. Dans le cadre de notre expérimentation, le Cu, Cd et Zn apportés par les boues ne sont pas totalement immobilisés et passent en solution. En revanche, l'éluion du plomb étant plus importante dans le cas des modalités Témoin, cet élément est probablement immobilisé dans les phases solides du sol suite à l'apport de boue.

Outre l'effet ver sur la conductivité hydraulique, les concentrations en cadmium des percolats des modalités Boue avec et sans vers sont similaires. Selon certains auteurs (Harter et Naidu, 1995 ; Camobreco et al, 1996 ; Grolimund et al, 1996 ; Karathanasis, 1996), des entraînements de particules par les colloïdes contribuent à la mobilité des ETM dans le profil de sol. Dans le cadre de notre étude, la migration du cadmium dans la matrice sol vers les horizons sous-jacents associés aux résultats de percolation confirment qu'un front de cadmium labile apporté par les boues migre dans le sol via la microporosité indépendamment des activités lombriciennes.

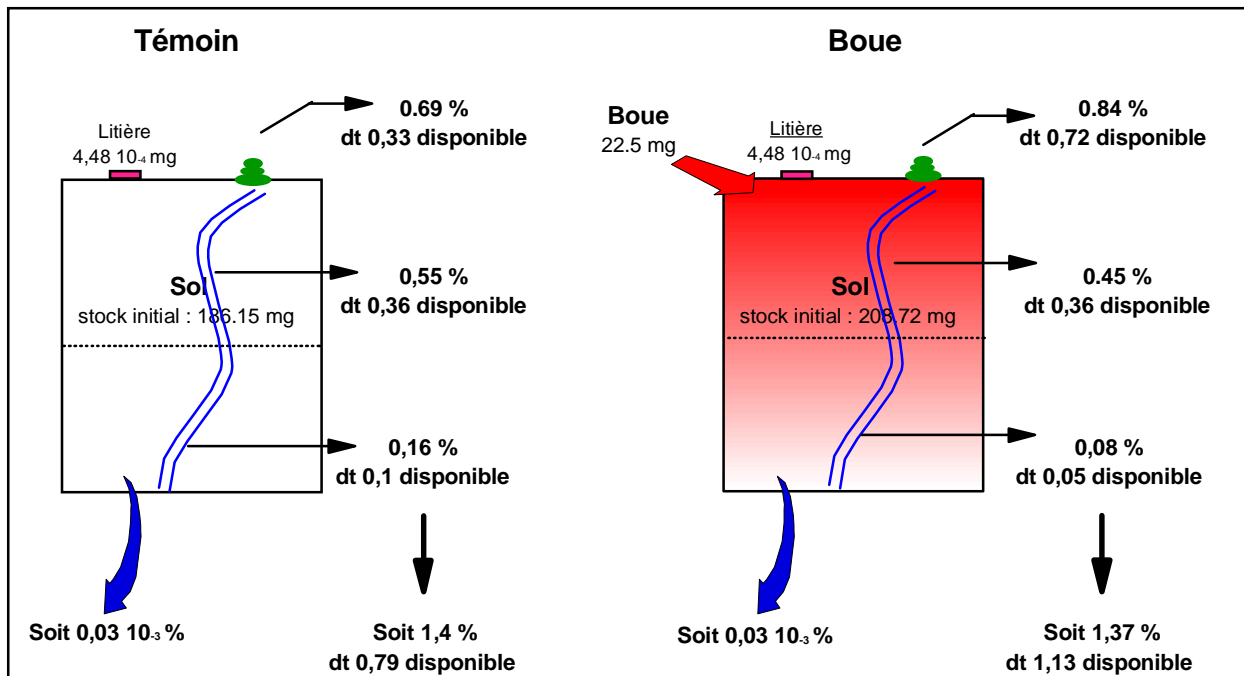
Grâce à ces différentes expérimentations, nous pouvons dresser un bilan de « redistribution » du Cu, Pb, Cd et Zn dans un sol en présence de lombriciens. Les bilans globaux ont été calculés pour une seule espèce lombricienne *L. terrestris* (figures V1 et V.2). Les bilans de redistribution obtenus pour *N. giardi* sont présentés en annexe (Annexe 6).



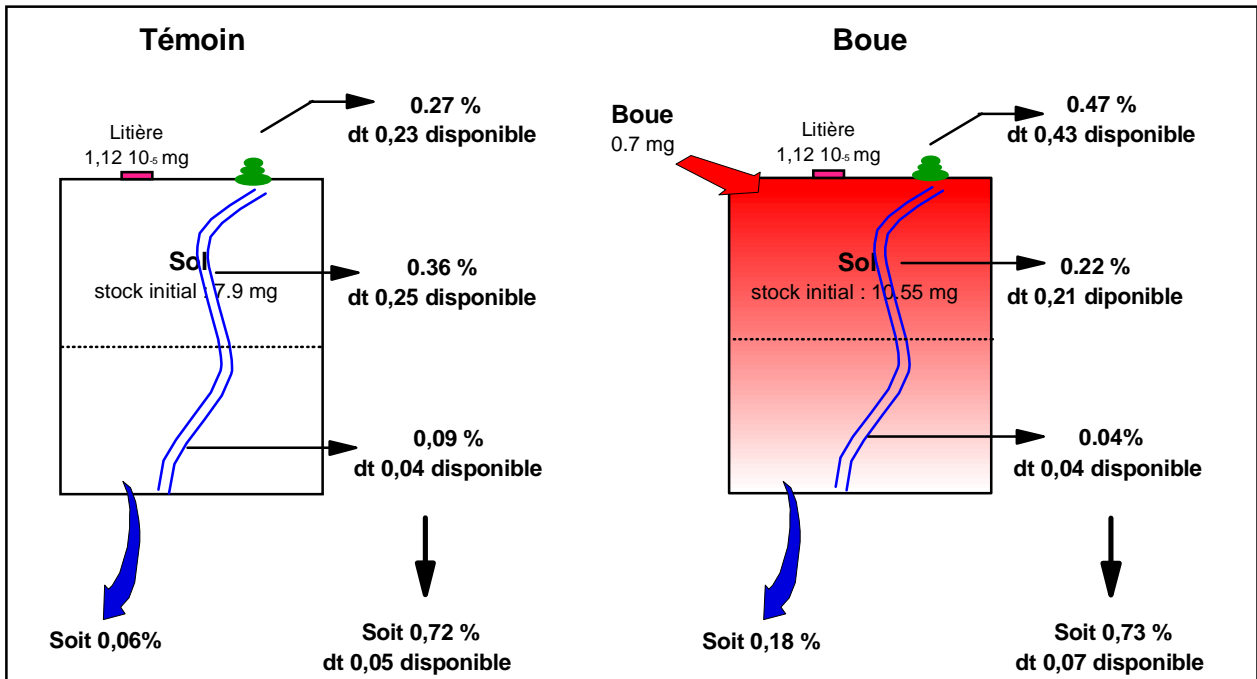
### Bilan du cuivre



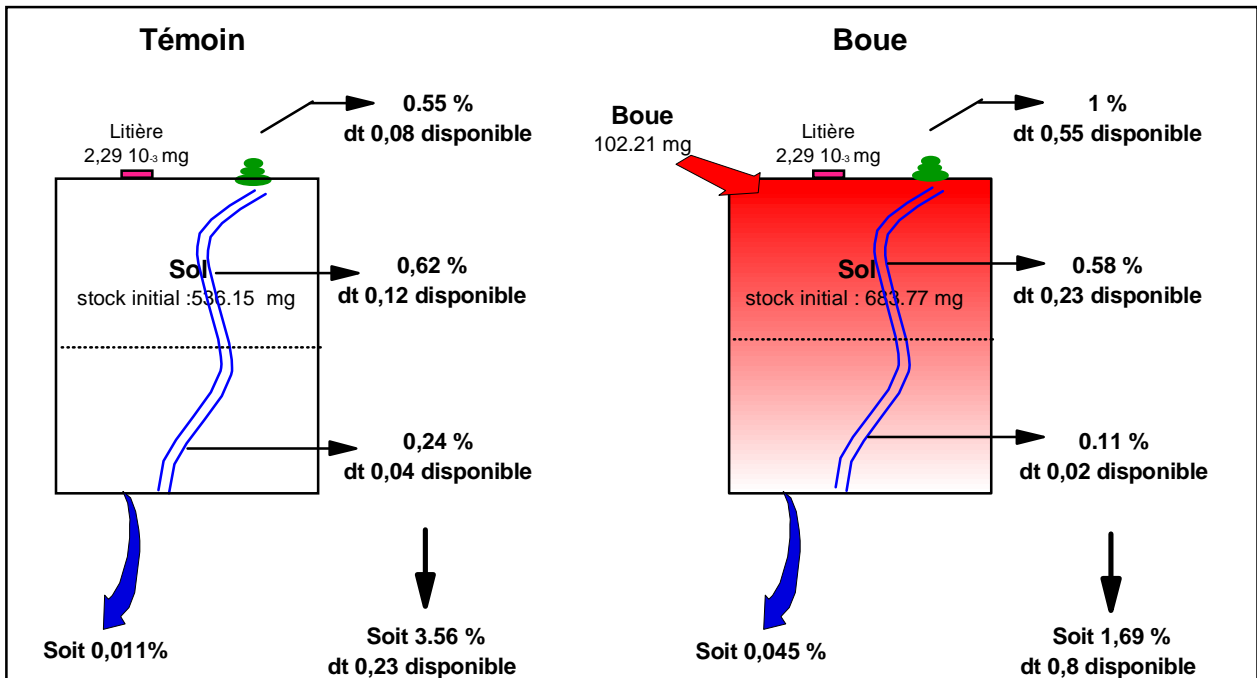
### Bilan du Plomb



## Bilan du Cadmium



## Bilan du Zinc



Ces bilans montrent que la contribution de ces 2 espèces lombriciennes dans la redistribution des ETM dans le sol est modeste : 1 à 3% des ETM du stock initial sont redistribués dans les turricules et parois de galeries et un maximum de 0,18% dans les eaux de percolation. En terme de bilan, la redistribution globale du **cuivre**, **plomb**, **cadmium** et **zinc** dans les turricules et parois de galeries est plus importante pour les modalités Témoin. Par exemple, pour le zinc, 3,6 % du zinc présent dans le stock initial est redistribué dans les microsites de la modalité Témoin pour 1,69% dans le cas de la modalité Boue. Cette redistribution plus importante dans les microsites de la modalité Témoin s'explique par le fait que les lombriciens ont produit plus de turricules et de galeries dans les modalités Témoins que dans les modalités Boue (Annexe 5).

Deux hypothèses peuvent expliquer cette observation :

- Une « toxicité » de boues sur les lombriciens.

La présence de boue n'a pas eu d'impact toxique visible sur les paramètres biodémographiques des deux espèces lombriciennes. L'importante mortalité observée pour *L. terrestris* dans les deux modalités serait plutôt due à une durée de jeun trop longue pour cette espèce épi-anécique. Cependant, l'activité proprement dite des lombriciens peut avoir été affectée par la présence de boue.

- Un effet MO lié à la présence de boue.

L'autre hypothèse posée est que la boue apportant de la MO, les vers doivent parcourir moins de volume afin de puiser une quantité de MO suffisante à sa survie. Ce qui pourrait également expliquer le fait que moins de turricules et de galeries aient été produits en présence de boue.

Il faut cependant distinguer la redistribution inter-compartiment (concentration totale dans le sol, turricules et parois de galeries) de la redistribution intra-compartiment (changement de disponibilité et de phases porteuses). Or, si la redistribution inter-compartiment du cuivre, plomb, cadmium et zinc est plus importante dans le cas des modalités Témoin, la redistribution intra-compartiment est plus importante dans le cas de la modalité Boue : la part d'éléments potentiellement disponibles dans les microsites de la modalité Boue est supérieure à celle de la modalité Témoin. Il semble donc qu'en terme de changement de spéciation (réactivité), le Cu, Pb, Cd et Zn issus de la boue constituent un pool plus facilement « mobilisable » que les ETM du fond géochimique. La redistribution de ces éléments sous des formes plus potentiellement disponibles dans les microsites peut favoriser le transfert de ces éléments vers les nappes.

En conclusion rappelons que deux séries d'expérimentations nous ont permis de séparer l'action des lombriciens sur la redistribution des ETM dans les eaux de percolation et les compartiments du sol à savoir le sol environnant, les turricules et les parois de galeries.

Le rôle des turricules et des parois galeries en tant qu'interfaces chimiques réactives pouvant modifier la spéciation des ETM est mis en évidence : la distribution chimique et physique des ETM dans ces microsites étant différente de celle sol environnant. Deux types de redistribution ont été identifiés :

Une **redistribution alimentaire** : L'ingestion de particules plus ou contaminées détermine les concentration totales en ETM dosés dans les microsites, contribuant ainsi à une redistribution des ETM entre compartiment (sol, turricule et parois de galeries). Cette redistribution alimentaire peut également influencer sur la distribution des ETM au sein même de ces compartiments : les MOP préférentiellement ingérées par le ver deviennent dans les turricules et parois de galeries, une des principales fractions de stockage de ces ETM (Cu, Pb, Cd et Zn).

Une **redistribution physico-chimique** liée aux activités lombriciennes (ingestion, digestion, bioturbation) et à son cortège de réactions associées (activité des micro-organismes, pH, CEC, ...) : ceci va modifier la spéciation des ETM dans les microsites, les rendant généralement plus disponibles.

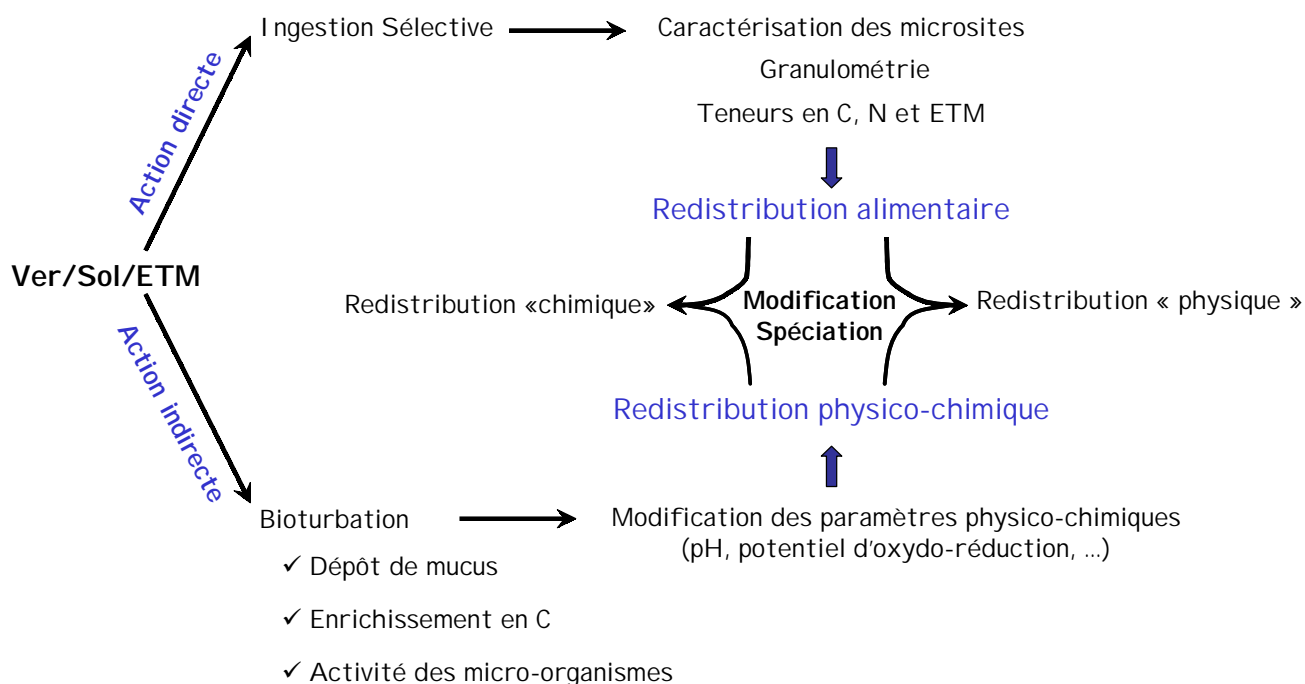
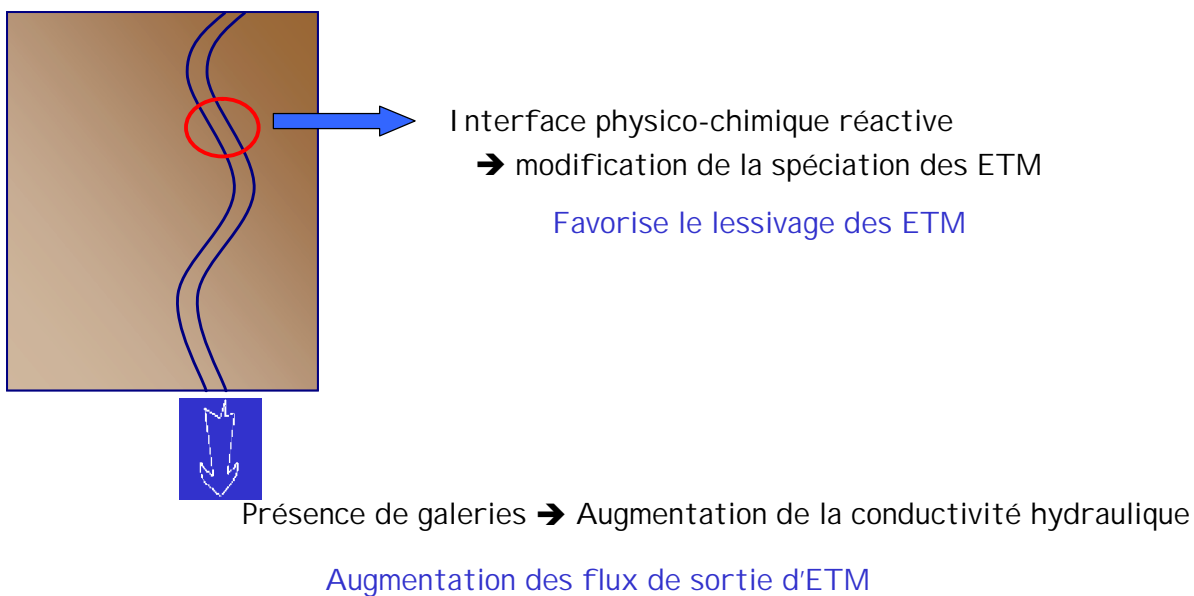


Figure V.3 Schéma de redistribution des ETM par les lombriciens

Les modifications de spéciation des ETM au niveau des microsites et notamment des parois de galeries peuvent avoir une influence sur la qualité des eaux de percolation. Les flux d'éléments traces métalliques dans les eaux de percolation augmentent en présence de ver. Cette augmentation dépend en premier lieu de l'augmentation de la conductivité hydraulique due à la présence de galerie. Des processus physico-chimiques interviennent également au niveau des biostructures lombriciennes influençant le transfert des ETM vers les nappes : ces processus pouvant accélérer le transfert ou le retarder. La part prise par l'augmentation de la conductivité hydraulique et les modifications physico-chimiques n'ont pu être dissociés.



*Figure V.4* Influence des lombriciens sur la qualité des eaux de percolation

Des travaux complémentaires permettraient de préciser le rôle des lombriciens dans la redistribution des ETM :

- Il conviendrait de mieux identifier l'origine du métal réellement redistribué dans les microsites. L'utilisation de marqueur isotopique associés aux ETM de la boue permettrait l'identification exacte des ETM redistribués dans les turricules et les parois de galeries.
- Il conviendrait également d'évaluer plus précisément la redistribution des ETM du sol et non de la litière. La mise en place d'expérimentation plus courte 2 mois, avec et sans litière permettrait ainsi de différencier les deux type de redistribution : la redistribution liée au comportement alimentaire du ver et celle liée aux processus physico-chimiques se déroulant dans les microsites.
- Il conviendrait de mieux comprendre les processus modifiant la spéciation des ETM dans les biostructures. La réalisation d'extractions séquentielles plus complètes, ainsi que le suivi de différents facteurs comme le pH, la CEC et le potentiel d'oxydoréduction dans les microsites pourraient apporter des éléments de réponses quant à la compréhension des

mécanismes responsables du changement de spéciation des ETM dans les microsites.

- Enfin, il conviendrait de déterminer faire la part entre les phénomènes « chimiques » et « physiques » intervenant dans l'augmentation des flux d'éléments traces dans les eaux de percolation en présence de lombriciens, après lessivage complet de la fraction des ETM présents dans la fraction hydrosoluble.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



## Références Bibliographiques

- Abbott I. & Parker C.A. (1981).- Interactions between earthworms and their soil environment. *Soil Biol. Biochem.*, **13** : 191-197.
- 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, Montpellier II. 234 p.
- Abdul Rida A.M.M. (1996).- Concentrations et croissance de lombriciens et de plantes dans des sols contaminés ou non par Cd, Cu, Fe, et Zn : interactions sol-lombricien. *Soil Biol. Biochem.*, **28** : 1029-1035.
- Adriano D.C. (1986).- Trace elements in the environment. Springer Verlag, New York.
- Alloway B.J. & Jackson A.P. (1991).- The behaviour of heavy metals in sewage sludge amended soils. *The Science of the Total Environment*, **100** : 151-176.
- Alloway B.J. (1995).- Heavy metals in soils. 2nd edition, Blackie academic & professional, Glasgow. 368 p.
- Alva A.K., Huang B. & Paramasivam S. (2000).- Soil pH affects copper fractionation and phytotoxicity. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **64** : 955-962.
- Andres P. (1999).- Ecological risk of the use of sewage sludge as fertilizer in soil restoration: effect on the soil microarthropod populations. *Land Degradation And Development*, **10** : 67-77.
- Andreux F., Bruckert S., Correa A. & Souchier B. (1980).- Sur une méthode de fractionnement physique et chimique des agrégats des sols : origines possibles de la matière organique des fractions obtenues. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **291** : 381-384.
- ANRED (1982).- La valorisation agricole des boues de stations d'épuration. *Cahiers Techniques de la Direction de la Prévention des Pollutions*, Ministère de l'Environnement, 61p.
- Ash CPJ, Lee D (1980).- Lead, cadmium, copper and iron in earthworms from roadside sites. *Environ. Pollut.*, **22A**: 59-67.
- Bain S.O. & Butt K.R. (1999).- Survival and reproduction of *Lumbricus terrestris* L-in colliery spoil and sewage sludge. *Pedobiol.*, **43** : 729-734.
- Baize D. (1997).- Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA éditions, Collection un point sur..., Versailles. 410 p.
- Baize D. (2002).- Examen critique des valeurs limites "sols" de la réglementation française. In : Baize D. et Tercé M. (Ed.), Les éléments traces métalliques dans les sols : approches fonctionnelles et spatiales. INRA, Paris, pp. 137-154.
- Balabane M., Faivre D., VanOort F. & DahmaniMuller H. (1999).- Mutual effects of soil organic matter dynamics and heavy metals fate in a metallophyte grassland. *Environ. Pollut.*, **105** : 45-54.

- Balesdent J., Wagner G.H. & Mariotti A. (1988).- Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **52** : 118-124.
- Bardgett R.D. & Saggard S. (1994).- Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled ( $^{14}\text{C}$ ) in a pasture soil. *Soil Biol. Biochem.*, **26** : 727-733.
- Barois I., Villemin G., Lavelle P. & Toutain F. (1993).- Transformation of soil structure through *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta) intestinal tract. *Geoderma*, **56** : 57-66.
- Barois I., Lavelle P., Brossard M., Tondoh J.E., Martinez M.A., Rossi J.P., Senapati B.K., Angeles A., Fragoso C., Jimenez J.J., Decaens T., Lattaud C., Kanyonyo ka Kajondo J., Blanchart E., Chapuis-Lardy L., Brown G., Moreno A. (1999).- Ecology of species with large environmental tolerance and/or Extended distributions. In Lavelle P., Brussaard L., Hendrix P. (eds). The potential of management of earthworm activities in tropical ecosystems, CAB-1, Wallingford: 38-60.
- Barrera I., Andres P., Alcaniz J.M. (2001).- Sewage sludge application, on soil : effects on two earthworms species. *Water, Air and Soil Pollution*, **129**: 319-332.
- Bermond A. & Malenfant C. (1990).- Estimation des cations métalliques liés à la matière organique à l'aide de réactifs chimiques : approche cinétique. *Science du sol*, **28** : 43-51.
- Berti W.R. & Jacobs L.W. (1996).- Chemistry and phytotoxicity of soil trace elements from repeated sewage sludge applications. *J. Environ. Qual.*, **25** : 1025-1032.
- Besnard E. (1999).- Influence d'amendements organiques sur la rétention du cuivre dans les sols du vignoble de champagne : conséquences environnementales. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, 100p.
- Besnard E., Chenu C., Robert M. (2001).-Influence of organic amendments on copper distribution among particle size and density fractions in Champagne vineyard soils. *Environ Pollut* **112**: 329-337
- Beyer W.N., Pattee O., Sileo L., Hoffman D.J. & Mulhern B.M. (1985).- Metal contamination in wildlife near two zin smelters. *Environ. Pollut.*, **38** : 63-86.
- Bhandari G.S., Randhawa N.S. & Maskina M.S. (1967).- On the polysaccharide content of earthworm casts. *Curr. Sci.*, **19** : 519-520.
- Binet F. (1993).- Dynamique des peuplements et fonctions des lombriciens en sols cultivés tempérés. Thèse d'Université, Rennes I. 299 p.
- Bohlen P.J., Parmelee R.W., McCartney D.A., Edwards C.A. (1997).- Earthworms effects on carbon and nitrogen dynamics of surface litter in corn agroecosystems. *Ecological Applications*, **7**:1341-1349.
- Bonneau M. & Souchier B. (1979).- Pédologie Vol 2 : Constituants et propriétés du sol. Masson, 460 p.
- Bostrom U. (1988).- Growth and cocoon production by the earthworm *Apporectodea caliginosa* in soil mixed with various plant materials. *Pedobiol.*, **32** : 77-80.

- Bouché M.B. (1972).- Lombriciens de France. Ecologie et systématiques. INRA Annales de Zoologie-écologie animale, Paris. 671 p.
- Bouché M.B. (1975).- Fonctions des lombriciens. III Premières estimations quantitatives des stations françaises du PBI. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **12** : 25-44.
- Bouché M.B. (1977).- Stratégies lombriciennes. *Bull Ecol.*, Paris, **25** : 122-132.
- Bouché M.B. (1984).- Une méthode de mesure du débits d'éléments dans un sol non perturbé : azote et carbone des lombriciens. *Pedobiol.*, **27** : 197-206.
- Bourrelier P.H. & Berthelin J. (1998).- Contamination des sols par les éléments en traces : Les risques et leur gestion. Académie des Sciences - Techniques et documentation, Paris. 440 p.
- Branas J. (1984).- Histoire et fonction du Cu dans la viticulture de qualité. *Progrès Agricole et Viticole*, **22** : 521-523.
- Brown K.W., Thomas J.C. & Slowey J.F. (1984).- Extractibility of metals applied to soil in sewage effluent. *Soil Science*, **138** : 423-436.
- Brown G., Barois I., Lavelle P. (1998).- Drilosphere effects on soil organic matter dynamics and microbial activity : From priming effect to regulation, *Congrès Sciences du sol*, Montpellier.
- Brümmer G.W., Gerth J. & Herms U. (1986).- Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk*, **149** : 382-398.
- Cambier P., Prudent P., Probst A. & Fevrier C. (1999).- Prise en compte de la spéciation en environnement : dynamique physique et chimique des éléments traces métalliques dans les sols. *In* : Spéciation des métaux dans le sol., Association ECRIN, Paris, pp. 239-261.
- Camobreco V.J., Richards B.K., Steenhuis T.S., Peverly J.H. & McBride M.B. (1996).- Movement of heavy metals through undisturbed and homogenized soil columns. *Soil Science*, **161** : 740-750.
- Canet R., Pomares F. & Tarazona F. (1997).- Chemical extractibility and availability of heavy metals after seven year application of organic wastes to a citrus soil. *Soil Use Manage*, **13** : 117-121
- Chaney, R.L & Olivier, D.P., (1996).- Source, potential adverse effects and remediation of agricultural soil contaminants. pp 456- 478. *In* : R.Naidu, R. Kookana, D.P. Olivier, S.R. Rogers, and M.J. McLaughlin (eds), Contaminants in the soil environment in the Australasia-Pacific Region, Kluwer Publisher, Dordrecht, The Netherlands.
- Chang A.C., Page A.L. & Warneke J.E. (1984).- Sequential extraction of soil heavy metals following a sludge application. *J. Environ. Qual.*, **13** : 33-38.
- Chapuis L. (1994).- Les transformations du phosphore d'un sol ferrallitique par un ver géophage, *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *DEA Géoscience - filière Pédologie*, Université de Nancy I. 41 p.
- Christensen B.T. (1992).- Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density

- separates. *Advances in Soil Science*, **20** : 2-90.
- Cluzeau D. (1992).- Structure et dynamique des peuplements lombriciens dans les systèmes tempérés anthropisés. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1. 195 p.
- Cluzeau D. & Trehen P. (1987).- Approche descriptive du système lande en Bretagne centrale dans les interrelations sol-végétation-faune édaphique après apports massifs de déchets ménagers broyés. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **24** : 649-664.
- Coïc Y. & Coppenet M. (1989).- Les oligo-éléments en agriculture et élevage. INRA- ISBN 2-7380-0138-6, 114 p.
- Conder J.M., Roman P.L., Basta N.T. (2001).- Assessment of metal availability in smelter soil using earthworms and chemical extractions. *J. Environ. Qual.*, **30**: 1231-1237.
- Conder J.M. & Lanno R.P. (2000).- Evaluation of surrogate measures of cadmium, lead, and zinc bioavailability to *Eisenia fetida*. *Chemosphère*, **41** : 1659-1668.
- Cortez J., Hameed R. & Bouché M.B. (1989).- C and N transfer in soil with or without earthworms fed with <sup>14</sup>C and <sup>15</sup>N labelled wheat straw. *Soil Biol. Biochem.*, **21** : 491-497.
- Czarnowska, K. & Jopkiewicz, K., 1978 - Heavy metals in earthworms as an index of soil contamination. *Pol. J. Soil Sci.*, **II**, 57-62.
- Darwin C.R. (1881).- The formation of vegetable mould through the action of worms, with observation of their habits. Murray, London.
- Davis J.A. (1984).- Complexation of trace metal by adsorbed natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica*, **48** : 679-691.
- Deluisa A., Giandon P., Aichner M., Bortolami P., Bruna L., Lupetti A., Nardelli F., Stringari G. (1996).- Copper pollution in italian vineyard soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **27** : 1537-1548.
- Descamps J. (1999).- Problématique industrielle et exemple historiques. In : Collectif, (Ed.), Spéciation des métaux dans le sol, Association ECRIN, Paris, pp. 38-39.
- De Vleeschauwer D. & Lal R. (1981).- Forest regrowth. *Soil Science*, **132** : 175-181.
- Devliegher W. & Verstraete W. (1995).- *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment : nutrient-enrichment processes (NEP) and Gut-associated processes (GAP) and their effect on microbial biomass and microbial activity. *Soil Biol. Biochem.*, **27** : 1573-1995.
- Devliegher W. & Verstraete W. (1997).- Microorganisms and soil physico-chemical conditions in the drilosphere of *Lumbricus terrestris*. *Soil Biol. Biochem.*, **29** : 1721-1729.
- Doube B.M., Davoren C.W., Hindell R., Long N. & Cass A. (1994).- Surface cast production by the earthworm *Aporrectodea trapezoides* and the influence of organic matter on cast structural stability. In C.E. Pankhurst (Ed.), *Colloquium Soil Biota : Management in sustainable farming systems*, CSIRO, Australia..

- Dowdy R.H., Latterell J.J., Hinesly T.D., Grussman R.B., Sullivan D.L. (1991).- Trace metal movement in an Aeric Ochraqualf following 14 years of annual sludge applications. *Journal of Environmental Quality*, **20**:119-123.
- Ducaroir J. & Lamy I. (1995).- Evidence of trace metal association with soil organic matter using particle size fractionation after physical dispersion treatment. *Analyst*, **120** : 741-745.
- Edwards C.A. & Bohlen P.J. (1996).- The biology and ecology of earthworms. Chapman and Hall, New York. 426 p.
- Edwards C.A. & Lofty J.R. (1977).- Biology of earthworms. Chapman and Hall Ltd, Grande Bretagne. 333 p.
- Ehlers W. (1975).- Observations on earthworms channels and infiltration on tilled and untilled loess soils. *Soil Science Society of America Journal*, **119** : 242-249.
- Elliot E.T & Cambardela C.A. (1991).- Physical separation of soil organic matter. *Agric. Ecosystems Environ.* **34**: 407:419.
- Emmerich W.E., Lund L.J., Page A.L., Chang A.C. (1982).- Solid phase forms of heavy metals in sewage sludge-treated soils. *J. Environ. Qual.*, **11** : 178-181.
- Essington M.E. & Mattigod S.V. (1990).- Element partitioning in size- and density-fractionated sewage sludge and sludge amended soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **54** : 385-394.
- Filipek Mazur B., Mazur K. & Gondek K. (2001).- The effect of organic fertilisers on distribution of heavy metals among fractions in soil. *Rostlinna Vyroba*, **47** : 123-128.
- Florence T.M. (1986).- Electrochemical approaches to trace element speciation in water : a review. *Analyst*, **111** : 489-505.
- Flores Velez L.M. (1996).- Essai de spéciation des métaux dans les sols : cas du Cu dans les vignobles. Thèse d'Université, Paris XII. 132 p.
- Flores-Velez L.M., Ducaroir J., Jaunet A.M. & Robert M. (1996).- Study of the distribution of copper in a acid sandy vineyard soil by three different methods. *European Journal of Soil Science*, **47** : 523-532.
- Francis G.S. & Fraser P.M. (1998).- The effects of three earthworms species on soil macroporosity and hydraulic conductivity. *Applied Soil Ecology*, **10**:11-19.
- Gerritse R.G., Vriesema R., Dalenberg J.W. & Roos H.P. (1982).- Effect of sewage sludge on trace element mobility in soils. *J. Environ. Qual.*, **11** : 359-364.
- Giller K.E., Witter E. & Mc Grath S.P. (1998).- Toxicity of heavy metals to micro-organisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biol. Biochem.*, **30** : 1389-1414.
- Giodano P.M. & Mortvedt J.J. (1976).- Nitrogen effects on mobility and plant uptake of heavy metals in sewage sludge applied to soil columns. *Journal of Environmental Quality*, **5**: 165-168.
- Gish C.D. & Christensen R.E. (1973).- Cadmium, nickel, lead and zinc in earthworms from roadside soil. *Environ. Sci. Technol.*, **7** : 1060-1062.

- Godin M., Feinbert M.H. & Ducauze C.J. (1985).- Modeling of soil contamination by air-borne lead and cadmium around several emission sources. *Environ. Pollut.*, **10** : 97-114.
- Gomez A., Wilbert J, Juste C. (1989).- Reconnaissance préliminaire des sols de six stations susceptibles d'être retenues comme sites d'observation de la qualité des sols en région Aquitaine. Inra Bordeaux. *Contrat Minist. Environnement*. 36p.
- Gorres J.H., Savin M.C. & Amador J.A. (2001).- Soil micropore structure and carbon mineralization in burrows and casts of an anecic earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Soil Biology And Biochemistry*, **33** : 1881-1887.
- Greville R.W. & Morgan A.J. (1989).- Concentrations of metal (Cu, Pb, Cd, Zn and Ca) in six species of british terrestrial gastropods near a disused Pb/Zn mine. *Journal of Molluscan Studies*, **55** : 31-36.
- Grolimund D., Borkovec M., Kretzschmer R., Sticher H. (1996).- In situ mobilized soil colloids and their role in the transport of contaminants. *Agronomy Abstracts* : 323
- Halen H. (1993).- Distribution et cinétique de mobilisation du cadmium dans le sol. Thèse de doctorat, Louvain la neuve. 151 p.
- Hartenstein R., Leaf A.L., Neuhauser E.F. & Bickelhaupt D.H. (1980).- Composition of the earthworm *Eisenia Foetida* (Savigny) and assimilation of 15 elements from sludge during growth. *Comp. Biochem. Physiol.*, **66C** : 187-192.
- Harter R.D. & Naidu R. (1995).- Role of metal-organic complexation in metal sorption by soils. *Advances in Agronomy*, **55** : 219-263.
- Helmke P.A., Robarge W.P., Korotev R.L. & Schomberg P.J. (1979).- Effects of soil-applied sewage sludge on concentrations of elements in earthworms. *J. Environ. Qual.*, **8** : 322-327.
- Hopkins S.P. (1989).- Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science, London and New-York. 366 p.
- Illera V., Walter I., Souza P., Cala V. (2000).- Short-term effect of biosolid and municipal solid waste applications on heavy metal distribution in a degraded soil under a semi-arid environment. *The Science of the total Environment*, **255**: 29-44.
- Ireland M.P. (1975).- The effect of the earthworm *Dendrobaena rubida* on the solubility of lead, zinc and calcium in heavy metal contaminated soil in wales. *J. Soil Sci.*, **26** : 313-318.
- Ireland M.P. (1979).- Metal accumulation by earthworms *Lumbricus rubellus*, *Dendrobaena veneta* and *Eiseniella tetraedra* living in heavy metal polluted sites. *Environ. Pollut.*, **19** : 201-206
- 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.*, **26A** : 69-78.
- Ireland M.P. & Richards K.S. (1981).- Metal content after exposure to cadmium of two species of earthworms of known differing calcium metabolic activity. *Environ. Pollut.*, **26A** : 69-78.

- Ireland M.P. (1983).- Heavy metal uptake and tissue distribution in earthworms. *In* : J.E. Satchell (Ed.), Earthworm ecology from darwin to vermiculture., pp. 247-265.
- Jeanson C. (1964).- Micromorphology and experimental soil zoology; contribution to the study, by means of giant-size thin sections of earthworm-produced artificial structure. *In* A. Jongerius (ed.) Soil micromorphology. Proc 2<sup>nd</sup> Int. Work. Meet. Soil Micromorph., Arnheim, Netherlands. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Jégou D. (1998).- Rôle fonctionnel de quatre espèces lombriciennes dans la structuration du sol et dans les transferts de carbone. Thèse d'Université, Rennes I. 152 p.
- Jégou D., Cluzeau D., Balesdent J. & Trehen P. (1998).- Effects of four ecological categories of earthworms on carbon transfer in soil. *Applied Soil Ecology*, **206** : 1-7.
- Jégou D., Cluzeau D., Hallaire V., Balesdent J., Trehen P. (2000). Burrowing activity of the earthworms *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea giardi* and consequences on C transfers in soil. *Eur. J. Soil Biol.* **36**: 27-34.
- Joschko M., Diestel H. & Larink O. (1989).- Assessment of earthworm burrowing efficiency in compacted soil with a combination of morphological and soil physical measurements. *Biol Fertil Soils*, **8** : 191-196.
- Joschko M., Sochtig W. & Larink O. (1992).- Functional relationship between earthworm burrow and soil water movement in column experiments. *Soil Biol. Biochem.*, **24** : 1545-1547.
- Juste C. (1988).- Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Science du sol*, **26** : 103-112.
- Juste C. & Feix I. (1995).- Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines. Ademe, 209 p.
- Kabata-pendias A. & Pendias H. (1992).- Trace elements in soils and plants. 2<sup>nd</sup> édition CRC Press, Boca raton, Florida.
- Kang B.T., Akinnifesi F.K. & Pleyzier J.L. (1994).- Effect of agroforestry woody species on earthworm activity and physicochemical properties of worm casts. *Biol Fertil Soils*, **18** : 193-199.
- Karathanasis A.D. (1996).- Colloid-induced transport of herbicides and heavy metals in subsurface environments. *Agronomy Abstracts*, 319p.
- Keller R.C. & Vedy J.C. (1990).- Role of the humus layer in copper transfer in two acidophilic ecosystems. *In* : Barcelo (Ed.), Environmental Contamination 4th Intern. Conf., Barcelona, pp. 289-291.
- Kenette D., Hendershot W., Tomlin A., Sauve S. (2002).- Uptake of trace metals by earthworms *Lumbricus terrestris* in urban contaminated soils. *Applied soil ecology*, **19**: 191-198.
- Khan M. & Scullion J. (2002).- Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage sludge on soil micro-organisms and their activities. *Applied Soil Ecology*, **20** : 145-155.

- Korantajer L. (1991).- *Water, Air and Soil Pollut*, **17**:189 –
- Kretzschmar A. (1989).- Galeries de lombriciens en réseaux : structures fonctionnelles et signatures comportementales. Thèse de doctorat, Université Paris-sud. 123 p.
- Krishnamurti G.S.R., Huang P.M., Van rees K.C.J., Kozak L.M. & Rostad H.P.W. (1995).- Speciation of particulate-bound cadmium of soils and its availability. *Analyst*, **120** : 659-665.
- Kruse E.A. & Barrett G.W. (1985).- *Environ. Pollut.*, **38** : 235
- Lamy I., Latrille C. & Ducaroir J. (1999).- Apport des fractionnements physiques dans l'étude de la dynamique des éléments traces dans les sols. *In* : Ecrin (Ed.), Spéciation des métaux dans le sol, Association ECRIN, Paris, pp. 56-72.
- Lanno R.P. & Mc Carty L.S. (1997).- Earthworm bioassays : adopting techniques from aquatic toxicity testing. *Soil Biol. Biochem*, **29**:693-697.
- Lavelle P. (1981).- Stratégies de reproduction chez les vers de terre. *Acta OEcolog. OEcolog. Gener.*, **2** : 117-133.
- Lavelle P. (1997).- Faunal activities and soil processes : adaptive strategies that determine ecosystem function. *Advances in ecological soil research*, **27** : 93-132.
- Lavelle P., Pashanasi B., Charpentier F., Gilot C., Rossi J.P., Derouard L., Andre J., Ponge J.F., Bernier N. (1998).- Large scale effects of earthworms on soil organic matter dynamics. *In* : Edwards C (Eds), Earthworms ecology. St Lucie Press, Washington DC.
- Lebourg A., Sterckeman T., Ciesielski H. & Proix N. (1996).- Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol. *Agronomie*, **16** : 201-215.
- Legret M. (1992).- Speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge-amended soil. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **51** : 161-165.
- Legros J.P., Martin S., Baize D., Rivière J.M. & Lepetre A. (2002).- Accumulation de cuivre et de zinc dans la parcelle de l'observatoire de la qualité des sols (OQS). *In* : Baize D. et Tercé M. (Ed.), Les éléments traces métalliques dans les sols: approche fonctionnelles et spatiales, Inra, Paris, pp. 169-182.
- Lee K.E. (1985).- Earthworms. Their Ecology and relationship with soils and land use. Academic Press, Sydney. 411 p.
- Luo Y.M., Christie P. (1998).- Bioavailability of copper and zinc in soils treated with alkaline stabilized sewage sludges. *J. Environ. Qual.*, **27**: 1054- 1059.
- Lunt H.A. & Jacobson M.G.M. (1945).- The composition of earthworm casts. *Soil Sci.*, **58**: 367-375.
- Le Bayon C. (1999).- Influence des activités des lombriciennes sur la dynamique (disponibilité, transfert) du phosphore en sols tempérés. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1. 133 p.
- Le Morvan (1992).- Droit de l'environnement. Recueils de documents. Faculté de Droit et des Sciences Economiques, Brest.



- Ma W.C. (1982).- The influence of soil properties and worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiol.* **24** : 109-119.
- Mackey D.J., Butler E.C.V., Carpenter P.D., Higgins H.W., O'Sullivan J.E. & Plaschke R.B. (1996).- Trace elements and organic matter in a pristine environment: Bathurst Harbour, Southwestern Tasmania. *The Science of the Total Environment*, **191** : 137-151.
- Marinussen M.P.J.C, Van der Zee S.E.A.T.M., De Haan F.A.M., Bouwman L.M. & Hefting M.M. (1997).- Heavy metals (copper, lead and zinc) accumulation and excretion by the earthworms, *dendrobaena veneta*. *J. Environ. Qual.*, **26** : 278-284.
- Marino F., Ligeró A. and Díaz Cosin D.J.,(1992). - Heavy metals and earthworms on the border of the road next to Santiago (Galicia, Northwest of Spain). Initial results. *Soil Biol. Biochem.* **24** : 1705-1709.
- Martin A. (1991).- Short and long term effects of the endogeic earthworms *Millsonia anomala* (Omodeo) (Megascolicidae, Oligochaeta) of tropical savannas on soil organic matter. *Biol Fertil Soils*, **11** : 234-238.
- Martin M.H. & Bullock R.J. (1994).- The impact and fate of heavy metals in an oak wood-land ecosystem. *In* : Ross S.M. (Ed.), *Toxic metals in soil plant systems.*, J. Wiley & sons., Chichester, pp. 327-365.
- Martinez, J. (1994).- Nutrient accumulation in soil from intensive pig slurry applications. *In* Animal waste management. FAO, REUR Technical Series, 34 : 129-135.
- McBride M.B. (1989).- Reactions controlling heavy metal solubility in soils. *Advances in Soil Science*, **10** : 1-47.
- McBride M.B. (1995).- Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: Are USEPA regulations protective? *J. Environ. Qual.*, **24**: 5-18.
- McBride M.B., Richards B.K., Steenhuis T.S., Peverly J.H., Russel J.J., Sauve S. (1997).- Mobility and solubility of toxic metals and nutrients in soil fifteen years sludge application. *Soil Science*, **162**: 487-500.
- Mc Grath S.P. & Lane W.P. (1989).- An explanation for the apparent losses of metals in a long-term field experiment with sewage sludge. *Environ. Pollut.*, **60**: 235-256.
- McGrath S.P., Zhao F.J., Dunham S.J., Crosland A.R. & Coleman K. (2000).- Long-term changes in the extractability and bioavailability of zinc and cadmium after sludge application. *J. Environ. Qual.*, **29** : 875-883.
- Mc Laughing M.J., Zarcinas, B.A., Stevens, D.P., Cook, N. (2000).- Soil testing for heavy metals. *Commun. Soils Sci. Plant Anal*, **31** : 1661-1700.
- McLean J.E. & Bledsoe B.E. (1992).- Behavior of metals in soils. *EPA Ground Water Issue*, US EPA, Washington DC, 25p.
- Michelin J., Bourgeois S., Wiart J., Bermond A. (2002).- Bilan dans un sol agricole suite à des apports réguliers depuis 1985. *In* D. Baize et M. Tercé (ed.). *Les éléments traces métalliques dans les sols : approches fonctionnelles et spatiales.* INRA p :184-189.

- Morel J.L. (1997).- Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In J. Tarradellas, G. Bitton, D. Rossel (ed). *Soil Ecotoxicology*, Lewis CRC p: 141-176.
- Morgan J.E. & Morgan A.J. (1992).- Heavy metal concentration in the tissues, ingesta and faeces of ecophysiologicaly different earthworm species. *Soil Biol. Biochem.*, **24** : 1691-1697.
- Oste L.A., Dolfing J., Ma W.C. & Lexmond T.M. (2001).- Effect of beringite on cadmium and zinc uptake by plants and earthworms: More than a liming effect? *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20** : 1339-1345.
- Parkin T.B. & Berry E.C. (1994).- Nitrogen transformation associated with earthworm casts. *Soil Biol. Biochem.*, **26** : 1233-1238.
- Parkin T.B. & Berry E.C. (1999).- Microbial nitrogen transformations in earthworms burrows. *Soil Biol. Biochem.*, **31** : 1765-1771.
- Parle J.N. (1963a).- Micro-organisms in the intestines of earthworms. *J. Gen. Microbiol.*, **31** : 1-11.
- Parle J.N. (1963b).- A microbiological study of earthworms casts. *J. Gen. Microbiol.*, **31** : 13-22.
- Petruzzelli G., Guidi G. & Lubrano L. (1978).- Organic matter as an influencing factor on copper and cadmium adsorption by soils. *Water Air Soil Pollut.*, **9** : 263-269.
- Pizl V. & Josen G. (1995).- The influence of traffic pollution on earthworms and their heavy metal content in an urban ecosystem. *Pedobiol.*, **39**: 442-453.
- Prudent P., Massiani C. & Thomas O. (1993).- Evolution of heavy metal species in leachates and in the solid phase during composting of municipal solid wastes. In : J.P. Vernet (Ed.), *Environmental Contamination*. Elsevier pub., pp. 187-216.
- Raw F. (1959).- Estimating of earthworms populations by using formalin. *Nature*, **184** : 1661-1662.
- Rafidison G.Z. (1982).- Rôle de la faune dans l'humification : transformations des feuilles de hêtre par un ver anécique (*Nicodrilus velox*). Thèse de 3ème cycle en Agro-Eco-Pédologie, Nancy I.
- Richards B.K., Steenhuis T.S., Peverly J.H., Mc Bride M.B. (1998).- Metal mobility at an old, heavily loaded sludge application site. *Environmental pollution*, **99**: 365- 377.
- Robert M. (1995).- Le sol, une interface dans l'environnement : les grands types de pollution mettant en cause le sol. *Sciences*, **95-1** : 23-29.
- Robert M. & Juste C. (1999).- Enjeux environnementaux et industriels - Dynamique des éléments traces dans l'écosystème sol. In : Spéciation des métaux dans le sol., Les Cahiers du Club Crin, Paris, pp. 15-37.
- Saha J.K., Mondal A.K., Hazra G.C. & Mandal B. (1991).- Depthwise distribution of copper fractions in some ultisols. *Soil Science*, **151** : 452-458.
- Satchell J.E. & Lowe D.G. (1967).- Selection of leaf litter in *Lumbricus terrestris*. In O. Graff & J.E. Satchel (eds). *Progress in Soil Biology*, Holland publishing company, Amsterdam, p: 102-109.
- Savigny E. (1826).- Enterion chloroticum. *Meme. Acad. Sci. Inst. France*, **5** : 183.

- Scokart P.O., Meeus-Verdinne K. & De Borger R. (1983).- Mobility of heavy metals in polluted soils near zinc smelters. *Water Air Soil Pollut.*, **20** : 451-463.
- Sharpley A.N. & Syers J.K. (1976).- Potential role of earthworm casts for the phosphorus enrichment of runoff waters. *Soil Biol. Biochem.*, **8** : 341-346.
- Shaw C. & Pawluk S. (1986).- Faecal microbiology of *Octolasion tyrtaeum*, *Aporrectodea turgida* and *Lumbricus terrestris* and its relation to the carbon budgets of three artificial soils. *Pedobiol.*, **29** : 377-389.
- Scheu S. (1987).- Microbial activity and nutrient dynamics in earthworm casts (Lumbricidae). *Biol Fertil Soils*, **5** : 230-234.
- Shipitalo M.J. & Protz R. (1989).- Chemistry and micromorphology of aggregation in earthworm casts. *Géoderma*, **45**: 357-374.
- Shipitalo M.J., Edwards W.M., Redmond C.E. (1994).- Comparison of water movement and quality in earthworm burrows and pan lysimeters. *J. Environ. Qual.*, **23**:1345-1351.
- Shipitalo M.J. & Butt K.R. (1999).- Occupancy and geometrical properties of *Lumbricus terrestris* L. burrows affecting infiltration. *Pedobiol.*, **43** : 782-794.
- Shipitalo M.J. & Gibbs F. (2000).- Potential of earthworm burrow to transmit injected animal wastes to tile drains. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **64** : 2103-2109.
- Shipitalo M.J., Dick W.A., Edwards W.M. (2000).- Conservation tillage and macropore factors that affect water movement and the fate of chemicals. *Soil & Tillage Research*, **53**:167-183.
- Shuster W.D., Subler S. & McCoy E.L. (2001).- Deep-burrowing earthworm additions changed the distribution of soil organic carbon in a chisel-tilled soil. *Soil Biol. and Biochem.*, **33** : 983-996.
- Siegel S. (1959).- Nonparametric statistics for the behavioral sciences. Harry F. Harlow, JAPON. 310 p.
- Sims R.W. & Gerard B.M. (1985).- Earthworms. Keys and notes for identification and study on the species. Brill and Backhuys, London.
- Sloan J.J., Dowdy R.H., Dolan M.S., Linden D.R. (1997).- Long-term effects of biosolids application on heavy metal bioavailability in agricultural soils. *J. Environ. Qual.*, **26** :966-974.
- Sluber S. & Kirsch A. (1998).- Spring dynamics of soil carbon, nitrogen, and microbial activity in earthworm middens in a no-till cornfield. *Biol. Fertil. Soils*, **26**: 243-249.
- Smith S.R. (1996).- Agricultural recycling of sewage sludge and the environment. CAB, international, UK.
- Sopper W.E. (1993).- Municipal sludge use in land reclamation. Lewis Publisher, London.
- Sokal R. & Rohlf F.J. (1981).- Biometry. Freeman W.H., New York. 859 p.
- Sort X. et Alcaniz J.M.(1998).- *Land Dégradation and Development* 10, 3.
- Sposito G., Lund L., Chang A.C. (1982).- trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: 1 fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **46**:260-264.
- Spurgeon D.J. & Hopkins S.P. (1999).- Seasonal variation in the abundance, biomass and biodiversity of

- earthworms in smelter contaminated soils. *J. Applied Ecol.*, **36**: 173-184.
- Stagnitti F., Steenhuis T.S., Parlange J.Y. & Nijssen B.M. (1991).- Preferential solute and moisture transport in hillslope. Institution Engineers Australia, 919-927 p.
- Steenhuis T.S., Parlange J.Y. & Aburime S.A. (1995).- Preferential flow in structured and sandy soils : consequences for modeling and monitoring . *In* : L. Everett, S. Cullen and L. Wilson (Ed.), Handbook of vadose zone characterization and monitoring., Lewis publisher, Chelsea, pp. 61-77.
- Steenhuis T.S., Sautblitz W. & Andreini M.S. (1990).- Preferential movement of pesticides and tracers in agricultural soils. *J. Irrig. Drain. Eng. Div. ASCE*, **116** : 50-66.
- Stehouwer R.C., Dick W.A. & Traina S.J. (1993).- Characteristics of earthworm burrow lining affecting atrazine sorption. *J. Environ. Qual.*, **22** : 181-185.
- Stehouwer R.C., Dick W.A. & Traina S.J. (1994).- Sorption and retention of herbicides in vertically oriented earthworm and artificial burrows. *J. Environ. Qual.*, **23** : 286-292.
- Sterckeman T., Douay F., Proix N. & Fourrier H. (2000).- Vertical distribution of Cd, Pb, and Zn in soils near smelters in the north of France. *Environ. Pollut.*, **107** : 377-389.
- Stork N.E. & Eggleton P. (1992).- Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. *Am.J.Alt.Agr.*, **7**: 38-47.
- Streck T. & Richter J. (1997).- Heavy metals displacement in a sandy soil at the field scale I: Measurements and parameterization of sorption. *J. Environ. Qual.*, **26**: 49-56.
- Suzuki K.T., Yamamura M., Mori T. (1980).- Cadmium binding proteins induced in the earthworm. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **9**:415-424.
- Svensson B.H., Bostrom U. & Klemmedtson L. (1986).- Potential for higher rates of denitrification in earthworm casts than in the surrounding soil. *Biol Fertil Soils*, **2** : 147-149.
- Syers J.K., Sharpley A.N., Keeney D.R. (1979).- Cycling of nitrogen by surface-casting earthworm in pasture ecosystem. *Soil Biol. Biochem.*, **1** :301-307.
- Syers J.K. & Springett J.A. (1983).- Earthworms ecology in grassland soils. *In* : J.E. Satchell (Ed.), Earthworms ecology : From Darwin to vermiculture., Chapman and Hall, London, pp. 67-93.
- Terry R.E., Nelson D.W. & Sommers L.E. (1979).- Carbon cycling during sewage sludge decomposition in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **43** : 494-499.
- Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M. (1979).- Sequential extraction procedure for the speciation of Particulate trace metal. *Analytical Chemistry*, **51**: 844 – 851.
- Tiunov A.V. & Scheu S. (1999).- Microbial biomass, biovolume and respiration in *Lumbricus terrestris* casts material of different age. *Soil Biol. Biochem.*, **32** :265 :275.
- Tomlin A.D., Protz R., Martin R.R., McCabe D.C., Lagace R.J. (1993).- Relationships amongst organic matter

- content, heavy metal concentrations, earthworms activity, and soil microfabric on a sewage sludge disposal site. *Geoderma*, **57**: 89: 103.
- Tsadilas C.D. (2001).- Soil pH effect on the distribution of heavy metals among soil fractions. *In* :, Environmental Restoration of Metals Contaminated Soils, pp. 107-119.
- Ure A.M. (1991).- Trace element speciation in soils, soil extracts and solutions. *Mikrochim. Acta* **2** : 49-57.
- Van Hook R.I. (1974).- Cadmium, lead and zinc distributions between earthworms and soils : Potential for biological accumulation. *Bull Environ. Contamin.* **12** :509-512.
- Van Rhee J.A. (1975).- Copper contamination effects on earthworms by disposal of pig waste in pastures. *In* :, 5th Int. Colloq. Soil Zool., Vanek J., progress in soil zoology, Prague, pp. 451-457.
- Van Rhee J.A. (1977).- Effects of soil pollution on earthworms. *Pedobiol.*, **17** : 201-208.
- Vangronsveld J., Diels L., van der Lelie D., Bierken J., Corbisier P., Spelmans N., Adriaenssens E., Carleer R., Van Poucke L., Ruttens A., Colpaert J.n Clijsters H. (2002).- réhabilitation par immobilisation des métaux. Site de Lommel-Maatheide (Belgique). *In* Baize D, & Tercé M (eds) les éléments traces métalliques dans les sols : 393-407.
- Vulkan R., Mingelgrin U., Ben Asher J. & Frenkel H. (2002).- Copper and zinc speciation in the solution of a soil-sludge mixture. *J. Environ. Qual.*, **31** : 193-203.
- Wiar J. (2000).- Les boues d'épuration municipales et leur utilisation en agriculture. Dossier Ademe.
- Wiar J. & Thauvin P. (1995).- Situation du compostage des déchets organiques en France et perspective d'évolution. *Environnement et technique*, N°**151**, 1-6.
- Wei Q.F., Lwery B. & Peterson A.E. (1985).- Effect of sludge application on physical properties on silty clay loam soil. *Soil Biol. Biochem.*, **14** : 178-180.
- White C.S., Loftin S.R. & Aguilar R. (1997).- Application of biosolids to degraded semiarid rangeland: nine years responses. *J. Environ. Qual.*, **26** : 1663-1671.
- Xian X. (1989).- Effect of chemical forms of cadmium, zinc and lead in polluted soils and their uptake by cabbage plants. *Plant and Soil*, **113** : 257-264.
- Zachmann J.E., Linden D.R., Clapp C.E. (1987).- Macroporous infiltration and redistribution as affected by earthworms, tillage and residue. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **51**: 1580-1586.
- Zachmann D.W. & Block R. (1994).- Studies of the availability of toxic heavy elements in soil and sediments in the vicinity of lead smelting site (Germany). *Water Air Soil Pollut.*, **78** : 317-334.
- Zhang H. & Schrader S. (1993).- Earthworms effects on selected physical and chemical properties of soil aggregates. *Biol Fertil Soils*, **15** : 229-234.

## ANNEXES

## ANNEXE 1

Consommation moyenne de litière (expérimentation 2)

	Modalité Témoin	Modalité Boue
<i>L. terrestris</i>	++++	+++
<i>N. giardi</i>	++	++

++++ Consommation moyenne entre 75 et 100% de la litière

+++ Consommation moyenne entre 50 et 75% de la litière

++ Consommation moyenne entre 25 et 50% de la litière

+ Consommation moyenne < 25% de la litière

0 Pas de consommation de litière

## ANNEXE 2

### Bilan fractionnement granulo-densimétrique

Fractions µm	Turricules Lumbricus terrestris						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>200-200</b>	9,02	1,32	0,56	7,87	7,09	8,87	9,65
<b>100-200</b>	2,29	0,23	0,29	1,44	2,77	3,08	2,32
<b>50 -100</b>	2,13	0,22	0,34	1,34	3,27	3,68	2,38
<b>20 -50</b>	14,28	7,84	4,17	8,04	8,11	9,43	4,73
<b>2-20</b>	35,08	10,79	15,68	24,34	23,69	37,87	19,82
<b>0-2</b>	24,60	12,79	36,07	37,01	39,11	72,49	51,07
<b>200-2000 MOP</b>	7,92	38,04	14,80	7,32	7,68	2,51	3,93
<b>100-200 MOP</b>	2,16	8,08	6,38	5,69	4,25	2,54	2,62
<b>50 - 100 MOP</b>	2,53	8,25	7,07	7,26	6,06	4,99	3,43
<b>Somme</b>	100,00	87,56	85,36	100,31	102,04	145,46	99,94

Fractions µm	Parois de galeries Lumbricus terrestris						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>200-200</b>	9,24	3,27	0,82	10,55	7,59	11,37	11,66
<b>100-200</b>	2,04	0,38	0,22	1,31	2,22	2,57	1,90
<b>50 -100</b>	1,21	0,21	0,14	0,78	1,49	1,77	1,17
<b>20 -50</b>	13,80	7,96	3,49	6,35	5,54	7,41	4,35
<b>2-20</b>	40,18	17,93	23,16	26,70	23,07	32,12	20,46
<b>0-2</b>	27,86	22,83	44,90	41,92	39,72	65,67	52,60
<b>200-2000 MOP</b>	2,48	24,14	5,72	3,13	2,20	1,02	1,21
<b>100-200 MOP</b>	0,95	6,48	4,33	3,30	2,17	1,75	1,18
<b>50 - 100 MOP</b>	2,24	7,76	6,41	5,85	5,21	4,95	2,98
<b>Somme</b>	100,00	90,96	89,19	99,90	89,20	128,61	97,51



## ANNEXE 2

### Bilan fractionnement granulo-densimétrique

Fractions µm	Turricules <i>Nicodrilus giardi</i>						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>200-200</b>	7,04	1,91	0,58	7,70	4,69	7,50	7,29
<b>100-200</b>	2,30	0,54	0,50	1,61	2,67	3,22	2,14
<b>50 -100</b>	2,37	0,40	0,51	1,77	3,58	3,92	2,48
<b>20 -50</b>	15,82	7,61	4,17	7,83	7,55	8,71	4,70
<b>2-20</b>	39,36	16,09	21,13	29,54	27,37	31,55	22,03
<b>0-2</b>	27,82	22,35	43,35	44,00	46,69	67,66	54,50
<b>200-2000 MOP</b>	2,71	26,16	6,40	3,23	2,79	1,11	1,29
<b>100-200 MOP</b>	0,97	6,76	4,32	3,88	2,77	2,13	1,46
<b>50 - 100 MOP</b>	1,61	7,43	6,53	6,60	5,77	0,00	3,11
<b>Somme</b>	100,00	89,25	87,49	106,18	103,87	125,80	98,99

Fractions µm	Parois de galeries Ng						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>200-200</b>	8,89	3,02	1,17	11,97	8,09	11,37	13,25
<b>100-200</b>	1,95	0,77	0,45	1,45	2,28	2,65	1,82
<b>50 -100</b>	1,98	0,41	0,45	1,41	3,30	3,07	2,01
<b>20 -50</b>	15,20	7,90	4,14	6,43	7,07	8,51	4,18
<b>2-20</b>	41,24	23,38	25,10	27,09	26,59	30,66	21,02
<b>0-2</b>	28,59	34,17	47,19	42,69	44,95	54,05	54,31
<b>200-2000 MOP</b>	0,70	12,42	3,01	1,78	1,01	0,74	0,53
<b>100-200 MOP</b>	0,48	5,40	3,20	2,52	1,42	1,52	0,79
<b>50 - 100 MOP</b>	0,97	7,12	5,68	4,36	3,02	2,34	1,81
<b>Somme</b>	100,00	94,62	90,40	99,69	97,75	114,92	99,73

## ANNEXE 2

### Bilan fractionnement granulo-densimétrique

Fractions µm	Litière						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>200-200</b>	13,68	0,42	0,13	3,94	1,01	9,97	3,03
<b>100-200</b>	3,02	0,05	0,04	0,87	0,30	3,04	0,75
<b>50 -100</b>	1,92	0,09	0,05	0,83	0,47	3,21	0,76
<b>20 -50</b>	8,90	6,47	5,06	10,58	13,37	65,59	9,78
<b>2-20</b>	5,86	3,51	5,03	8,84	9,91	67,32	8,38
<b>0-2</b>	3,32	2,79	7,92	9,92	8,50	65,81	10,17
<b>200-2000 MOP</b>	49,69	61,59	50,11	33,82	36,50	37,90	31,55
<b>100-200 MOP</b>	6,61	7,49	9,29	9,10	11,42	16,98	9,01
<b>50 - 100 MOP</b>	7,01	8,11	9,74	10,19	13,63	35,57	10,17
<b>Somme</b>	100,00	90,52	87,38	88,09	95,12	305,41	83,61

Fractions µm	Boues						
	% Sol Total	% C	% N	% Cu	% Cd	% Pb	% Zn
<b>50-2000</b>	2,80	0,72	0,23	0,62	0,45	0,92	0,62
<b>20 -50</b>	4,66	1,91	0,54	1,11	1,29	8,34	1,21
<b>2-20</b>	18,44	10,88	8,27	1,57	9,24	18,93	9,23
<b>0-2</b>	56,56	58,29	52,74	81,35	86,68	72,56	87,10
<b>200-2000 MOP</b>	6,05	10,31	3,34	2,91	2,60	2,48	2,74
<b>100-200 MOP</b>	1,94	2,92	1,39	2,39	1,51	1,37	1,71
<b>50 - 100 MOP</b>	9,56	10,44	7,20	9,53	8,80	8,53	9,89
<b>Somme</b>	100,00	95,47	73,72	99,47	110,57	113,12	112,49

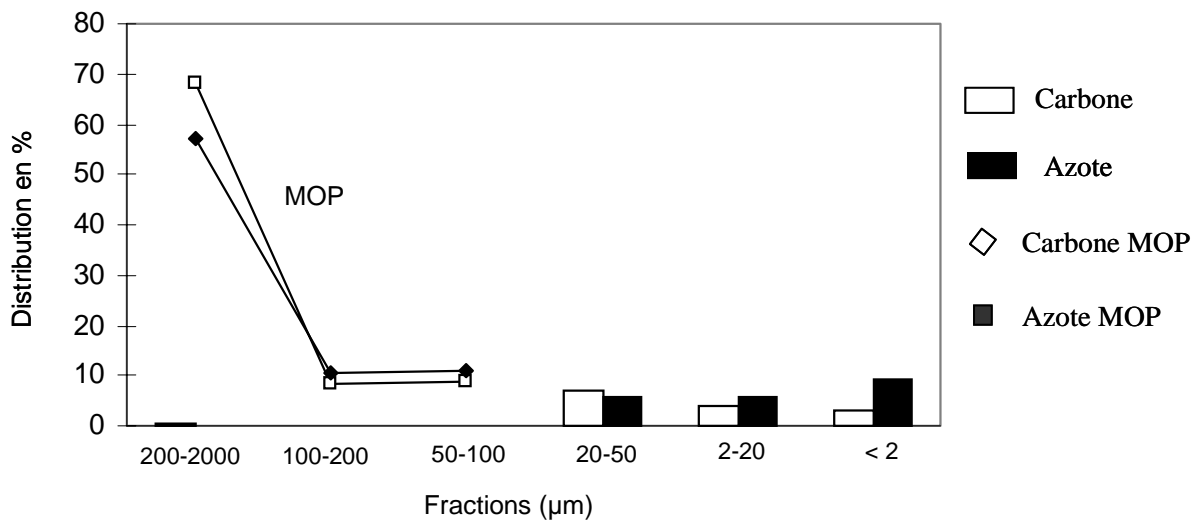
## ANNEXE 3

### Distribution du C, N et ETM dans la litière

Teneurs totales en C, N et ETM

	C g/kg	N g/kg	C/N	Cd mg/kg	Cu mg/kg	Pb mg/kg	Zn mg/kg
Litière	4147,91	11,94	402,97	< 0,05	5,29	2,855	44,36

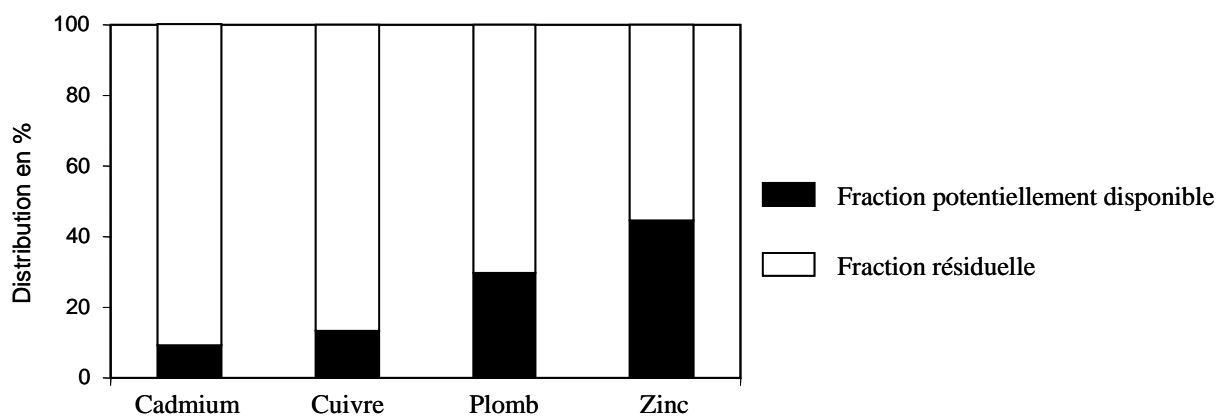
Distribution physique du C et N (fractionnement granulo-densimétrique)



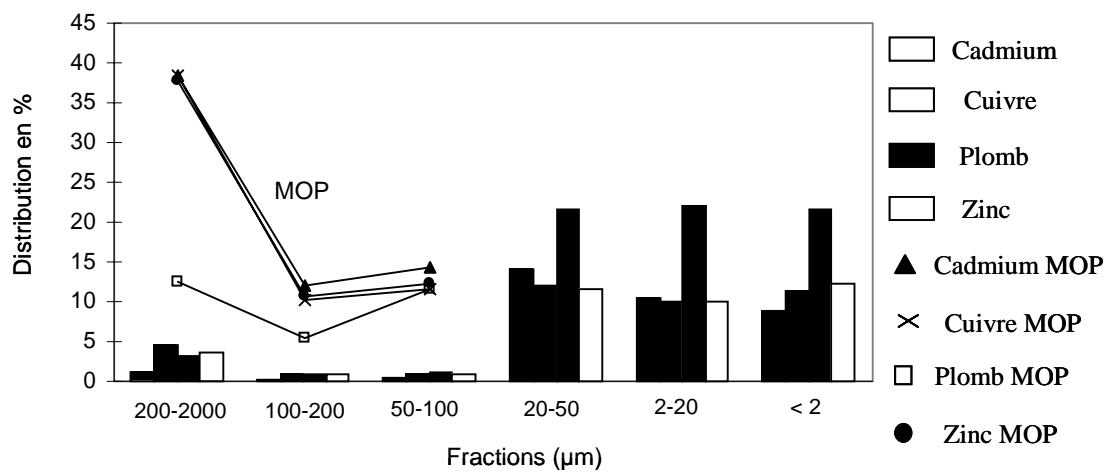
## ANNEXE 3 (bis)

### Distribution du C et N et ETM dans la litière

#### Distribution Chimique des ETM (Disponibilité)



#### Distribution physique des ETM (fractionnement granulo-densimétrique)



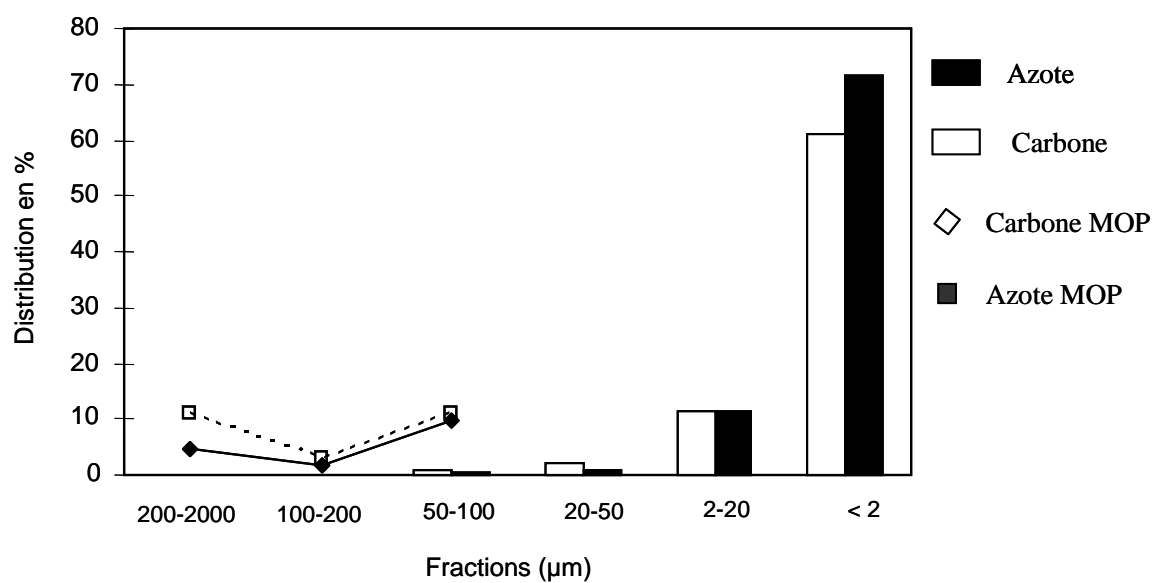
## ANNEXE 4

### Distribution du C, N et ETM dans la boue

Teneurs totales en C, N et ETM

	C g/Kg	N g/Kg	C/N	Cd mg/Kg	Cu mg/Kg	Pb mg/kg	Zn mg/kg
Boue	221,42	33,08	188,34	22,09	744	771	2905

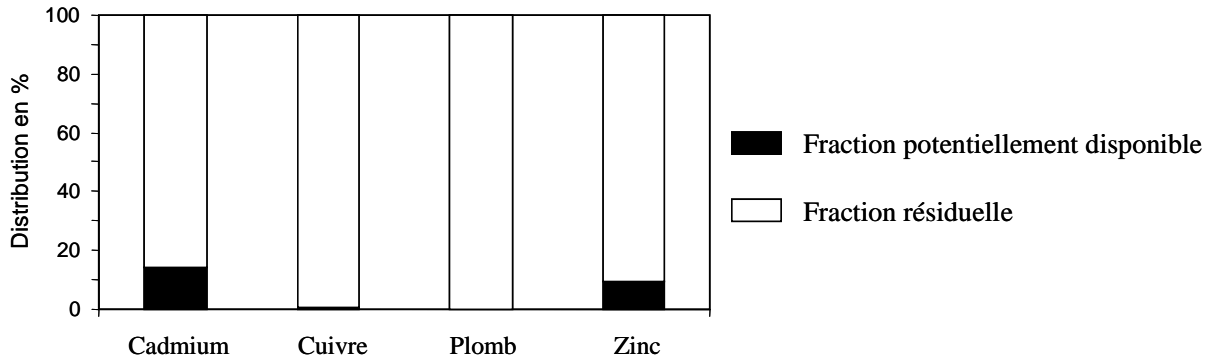
Distribution physique du C et N (fractionnement granulo-densimétrique)



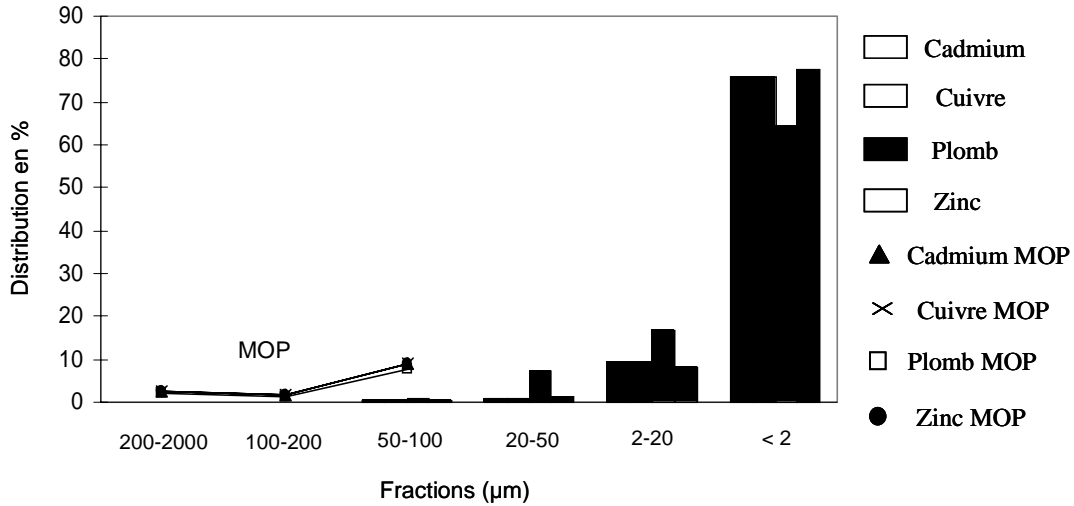
## ANNEXE 4 (bis)

Distribution du C, N et ETM dans la boue

Distribution Chimique des ETM (Disponibilité)



Distribution physique des ETM (fractionnement granulo-densimétrique)



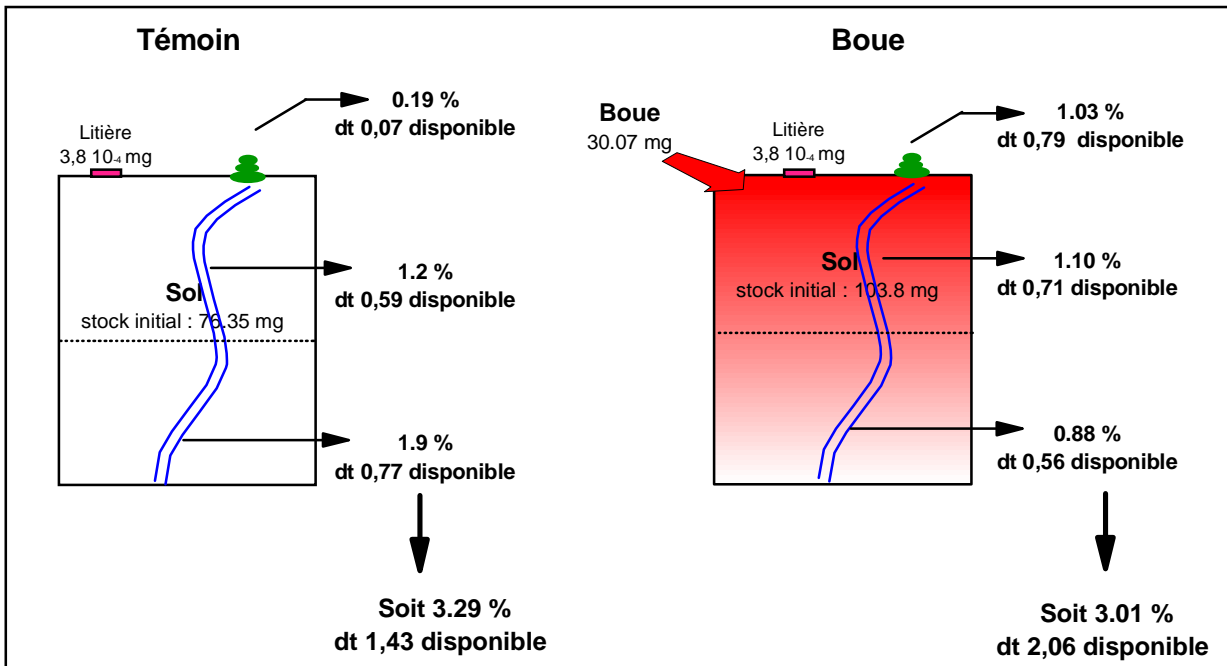
## ANNEXE 5

Production de turricules et Quantité de matériel échantillonné dans les parois de galeries

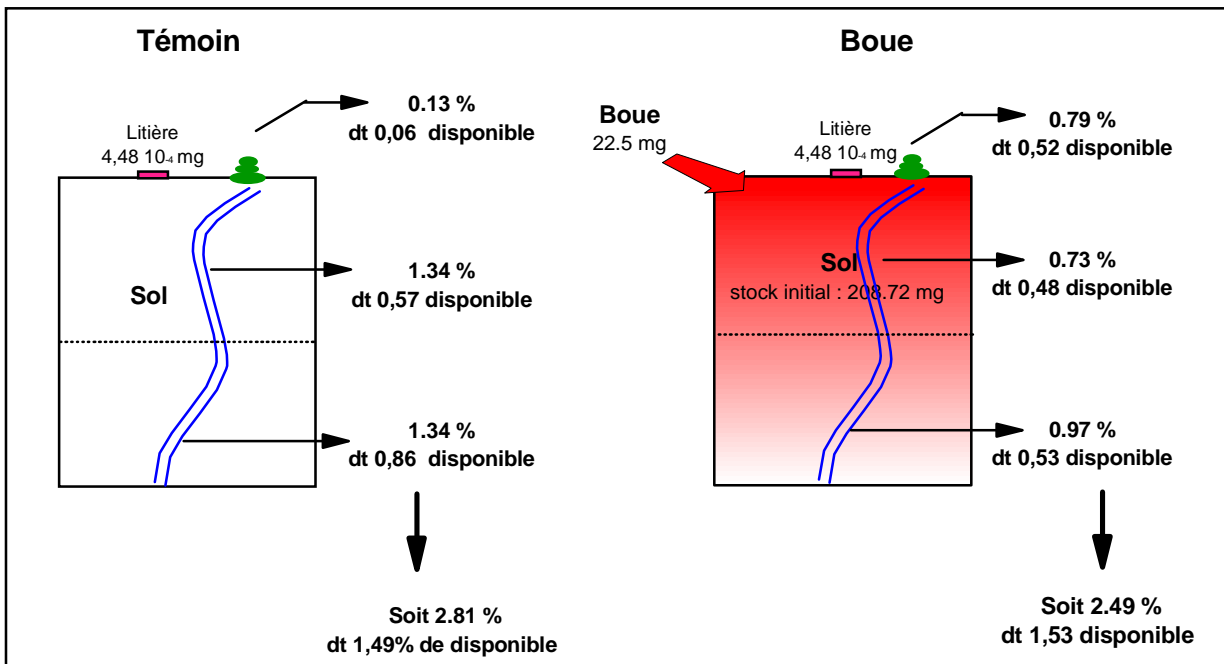
	Modalité Témoin		Modalité Boue	
	<i>L.terrestris</i>	<i>N.giardi</i>	<i>L.terrestris</i>	<i>N.giardi</i>
Production de turricules (g/microcosme/3vdt)	<b>37,3</b>	<b>9,7</b>	<b>48</b>	<b>34</b>
Quantité de matériel Échantillonné dans les galeries Du niveau 1 (g)	<b>43,4</b>	<b>71</b>	<b>25,5</b>	<b>41,67</b>
Quantité de matériel Échantillonné dans les galeries Du niveau 2 (g)	<b>12,5</b>	<b>110</b>	<b>7,5</b>	<b>61,66</b>

## ANNEXE 6

### Bilan du cuivre



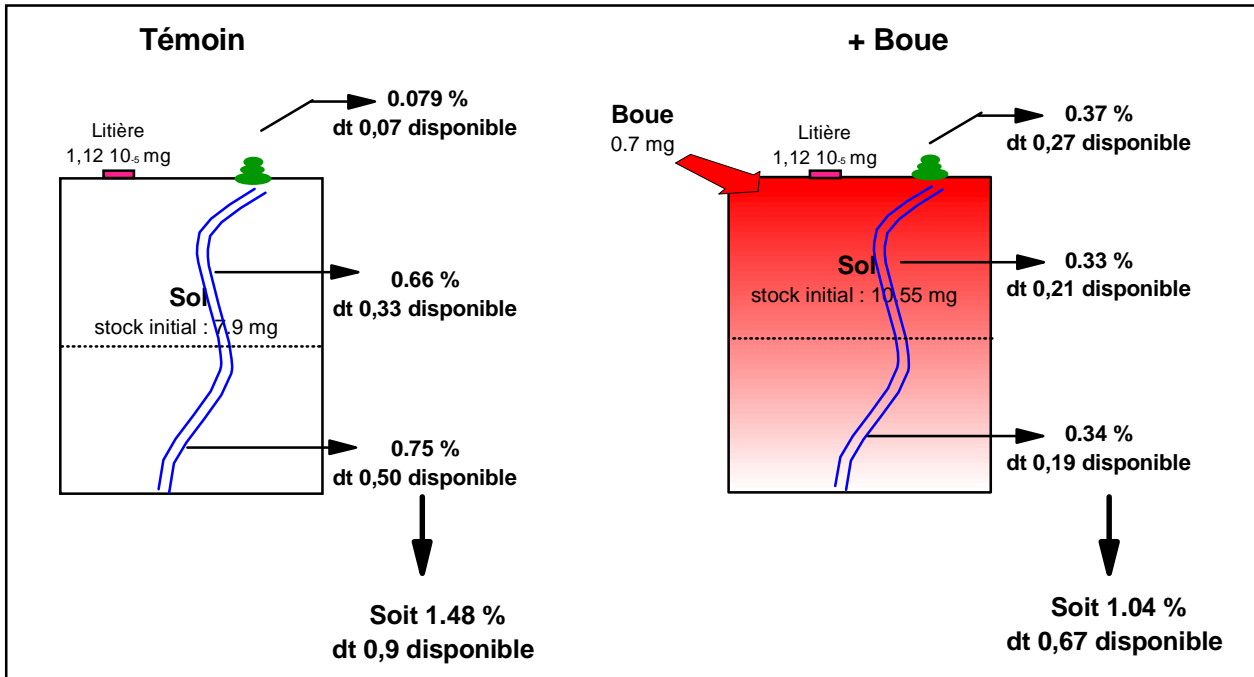
### Bilan du Plomb





## ANNEXE 6 (Bis)

### Bilan du Cadmium



### Bilan du Zinc

