## ... Avant-propos ...

Ce travail a été réalisé à l'I.N.R.A. de Dijon, station de recherches sur la faune du sol dirigée par Monsieur BESSARD, sur un sujet proposé par Monsieur BOUCHé.

Je tiens à remercier sincèrement chaque personne qui a contribué à l'accomplissement de cette étude.

.....

*"Il ne peut exister aucun doute sur le fait que le ver de terre, en partie pour se procurer sa nourriture, en partie pour se tracer un chemin dans la terre et construire les galeries dans lesquelles il s'arrête, engloutit tant de terre que, ainsi que le pense Darwin, la masse entière du terreau qui se trouve sur un champ a passé, dans le cours de peu d'années, à travers le canal digestif du ver de terre".*

P.E. Müller (1889)

... Sommaire ...

INTRODUCTION ..... 1

PREMIERE PARTIE : Justification des choix

I - Présentation des lombriciens ..... 4

II - Dispositif expérimental ..... 6

Choix des espèces ..... 6
Choix du milieu d'élevage ..... 8

Présentation des pesticides ..... 9
Choix des produits ..... 10
Caractéristiques des produits ..... 12

DEUXIEME PARTIE : Matériel et méthode

I - Les souches lombriciennes ..... 22

II - Mode d'élevage ..... 22

III - Mode d'apport du contaminant ..... 23

IV - Paramètres étudiés ..... 25

V - Conduite de l'expérimentation ..... 25

VI - Méthode de dosage des bio-accumulats ..... 28

VII - Aspect pratique du travail ..... 31

TROISIEME PARTIE : Résultats

I - Résultats des tests de toxicité par contact ..... 35

Bénomyl ..... 35
Bromophos ..... 48
Carbaryl ..... 49
Carbendazime ..... 53
Dazomet ..... 56
Diquat ..... 56
Endosulfan ..... 58
Lindane ..... 59
Méthiocarbe ..... 66

...

Phosalone ..... 68
Thiophanate éthyl ..... 69
Thiophanate méthyl ..... 70
Thirame ..... 72
Thiofanox ..... 73
Triallate ..... 74
2-4-5-T ..... 75
Zirame ..... 76

- Conclusion des tests réalisés dans l'artisol pour ces 17 produits ..... 77

- Classement des 17 produits selon l'ordre de toxicité ..... 78

II - Temps létal 50 du lindane et bénomyl ..... 79

III - Essai portant sur la nature des sols ..... 81

IV - Influence des facteurs "espèces lombriciennes et stades".. 82

V - Tests de toxicité aiguë par ingestion du polluant ..... 85

VI - Dosage des bio-accumulats du Lindane..... 86

CONCLUSION ..... 90

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... 93

ANNEXES ..... 100

# INTRODUCTION

L'importance des lombriciens est depuis longtemps reconnue.

Sous nos climats, ils constituent la troisième biomasse après les végétaux et les microorganismes ; ce qui représente couramment un poids frais de vers de terre compris entre 1 et 3 tonnes par hectare (Bouché, 1979).

Ces petits individus stimulent la vie endogée et épigée ; ils enfouissent la matière organique-végétale, la mêlent au sol qu'ils ingèrent ; ils rejettent à la surface une terre enrichie en éléments fins ; les nombreuses galeries qu'ils creusent aèrent le sol, le drainent, abritent les microorganismes et offrent un passage à certaines racines (Bouché, 19 79).

Soixante douze pour cent du poids sec des vers de terre sont constitués de protéines riches en lysine. Ils sont dotés d'une gamme variée d'acides gras. Aussi sont-ils consommés par de nombreux prédateurs qui peuvent être divers oiseaux : grive, corbeau, mouette rieuse (Cuendet, 1978), buse, chouette chevêche, bécasse, ..., des mammifères tels que le sanglier, le porc, la taupe, la musaraigne, ..., des poissons, ...

Tous ces faits indiquent que l'impact économique des vers de terre, s'il est difficilement chiffrable, n'en est pas moins énorme.

Pourtant, la nécessité d'accroître la production agricole a conduit à des pratiques parfois néfastes à la vie du sol, à celle des lombriciens en particulier.

Ces animaux qui brassent régulièrement le sol et la matière organique sont prédestinés à accumuler les polluants ; ceci en fait des bioindicateurs de pollution et justifie en partie notre étude.

Barker (1958) et Davis (1966) ont montré que les concentrations en D.D.T. et ses métabolites s'accroissent du sol aux vers et des vers aux merles migrateurs jusqu'à provoquer leur mort. Ainsi est illustrée clairement la question préoccupante de la concentration croissante des polluants le long des chaînes biologiques.

L'homme est concerné puisqu'il se situe au terme de nombreuses chaînes trophiques. Ainsi, selon Tourte (1972), la population humaine présente une teneur en D.D.T. de l'ordre de 10 à 15 mg par gramme de tissus adipeux.

Nous bénéficions des travaux de nombreux auteurs qui, depuis les années 50, étudient les effets des pesticides vis-à-vis des vers de terre. Malheureusement, les résultats obtenus sont souvent difficiles à confronter, parfois contradictoires, en raison des conditions variées qui se présentent au terrain concernant :

- le mode de traitement (pulvérisation par avion, tracteur, ..., sous forme de poudre, granulés, solution, ...),
- la zone visée (arbres, petites plantes, sol, raies de sillon, ..),
- le climat, la saison, les conditions météorologiques,
- le travail du sol éventuellement effectué avant, pendant et après le traitement,
- la nature du sol,
- le peuplement lombricien observé,

...

et au laboratoire : les expérimentations ont généralement été conduites selon des protocoles différents, ce qui permet peu de comparaisons.

Notre but sera d'isoler artificiellement quelques paramètres afin d'étudier le mécanisme d'intoxication des lombriciens par les pesticides.

L'action de ces paramètres, même quantifiée, n'a qu'une signification qualitative au terrain.

Pour l'élevage des vers, nous utiliserons un milieu artificiel qui servira de référence unique pour chaque produit et qui permettra des tests d'effet létal et de bio-accumulation reproductibles.

Ces tests répondent à la nécessité d'établir une législation européenne sur l'emploi des pesticides.

Les mesures de toxicité de chaque produit, selon sa concentration dans le milieu, permettront un classement des différentes substances. Ce classement sera arbitraire et insuffisant ; il constituera néanmoins une première étape.

Nos choix quant aux lombriciens, milieu d'élevage et pesticides seront exposés dans la première partie. Une seconde partie présentera le matériel et la méthode. Les résultats des tests seront donnés dans la troisième partie.

# PREMIERE PARTIE

## I - Présentation des lombriciens

### 1.1 - Caractéristiques générales de l'activité des lombriciens

Leur activité se remarque par le rejet de turricules abondants. Beugnot (1978) donne le chiffre de 67 T en poids sec, par hectare de prairie et par an.

Les turricules sont enrichis en matière organique par rapport au sol environnant par suite de l'ingestion de débris végétaux (Jeanson, 1960). Ces rejets sont liés à l'entretien d'un réseau de galeries qui facilite les échanges d'air et d'eau et constitue un milieu qui abrite les microorganismes des variations climatiques brutales et de la dessication. Un pré possède au moins 4000 km de galeries par hectare, ce qui réalise environ 5 m2 de surface développée par m2 de sol (Bouché,1979). Par une observation directe au terrain, Bouché à remarqué que l'action de ces animaux régularise la porosité du sol. En effet, ceux-ci progressent soit en utilisant les voies pré-existantes, soit en absorbant la terre, soit en la compactant latéralement, selon le tassement du substrat (Bouché, 1971).

De nombreuses publications mentionnent l'amélioration de la stabilité structurale réalisée par cette faune (Hop et Hopkins, 1946 ; Dawson, 1947 ; Frei, 1948 ; Ponomareva, 1950).

Ils ingèrent l'essentiel de la production végétale lorsqu'elle atteint la surface du sol (litière, écorce, bois pourri,...) ou devient disponible comme les racines mortes (Bouché, 1971), d'où leur importance dans la formation de l'humus. Müller (1889) et Kubiena (1953) ont mis en évidence l'interdépendance entre les humus évolués de type mull et les peuplements importants de vers de terre, ainsi qu'entre les humus de type moder et la mésofaune du sol.

Mais il faut remarquer que les fonctions que nous venons de décrire sont assurées à des degrés divers par chacune des nombreuses espèces de lombriciens. Bouché a défini une classification écologique de ces espèces qui explique leur adaptation à des fonctions différentes. Cette classification nous guidera dans le choix des espèces à utiliser pour le test.

1.2 - Les principales catégories écologiques (Bouché, 1979 ; Beugnot, 1978) (voir figure 1)

a) les épigés : ils ne travaillent pratiquement pas le sol puisqu'ils vivent à sa surface. Leur musculature de type penné leur donne une grande mobilité par laquelle ils résistent à l'intense prédatisme dont ils sont l'objet. Leur coloration rouge s'explique par leur adaptation à la litière forestière. Ils ne semblent pas présenter de diapause. Les petites espèces ont une activité respiratoire élevée.

Les corticoles habitent les écorces, les troncs morts ... *Eisenia fetida* (Sav.), *E. eiseni* (Lev.), *E. submontana* (Vejd.). Les straminicoles fouillent la litière ... *Lumbricus rubellus* (Hoffm.), *L. improvisus* Zicsi, *L. castaneus* (Sav.). Enfin, les pholéophiles occupent les terriers et galeries d'autres animaux ou les infractuosités du sol ... *Dendrobaena mammalis* (Sav.).

b) les endogés : ils travaillent fortement le sol et présentent une forte musculature dissépimenteuse, un tube digestif développé et une absence de pigmentation.

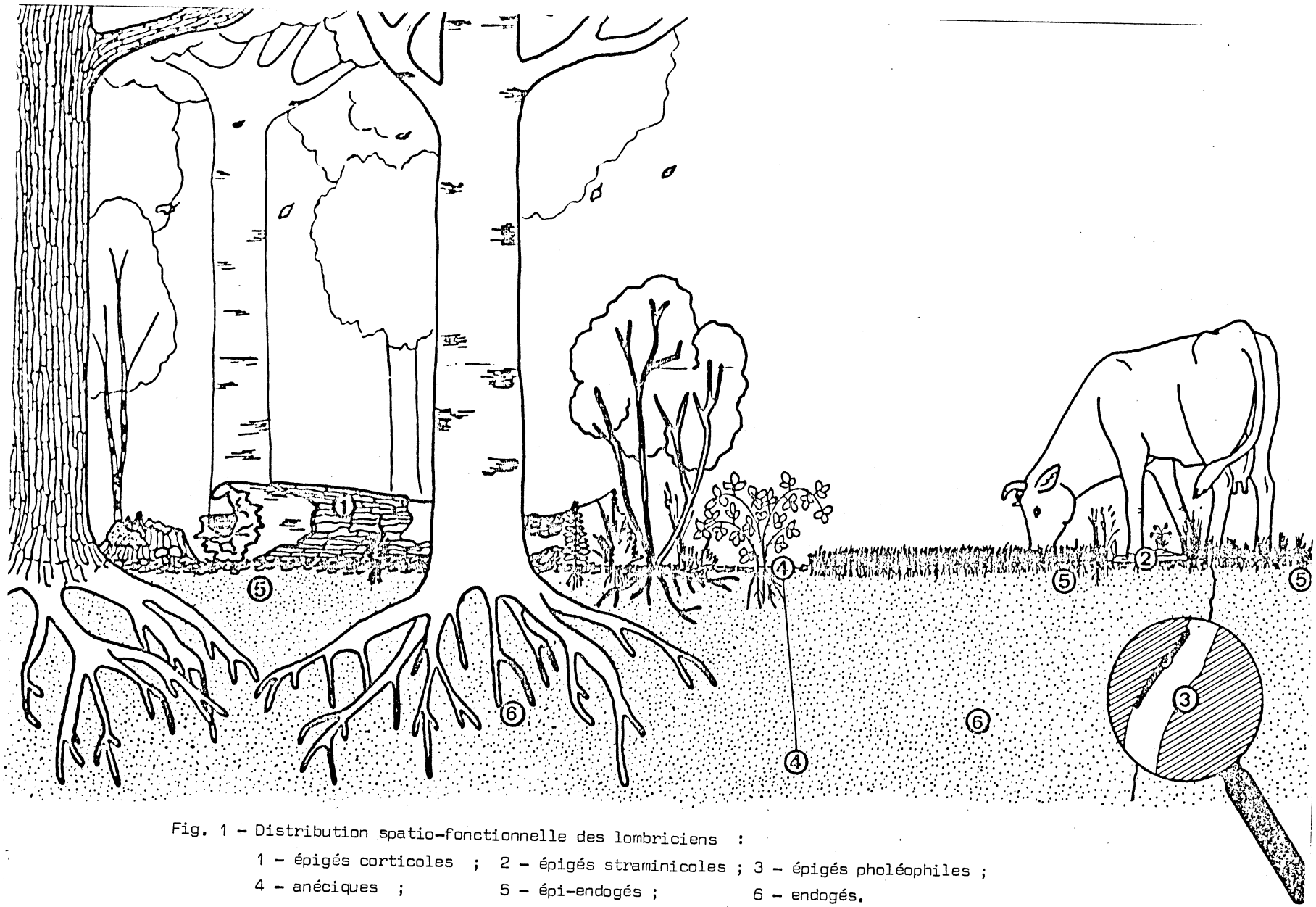



Fig. 1 - Distribution spatio-fonctionnelle des lombriciens :

1 - épigés corticoles ; 2 - épigés straminicoles ; 3 - épigés pholéophiles ;
4 - anéciques ; 5 - épi-endogés ; 6 - endogés.

d'après BOUCHE (1971).

Les épi-endogés sillonnent l'horizon A du sol ... Octolasium cyaneum (Sav.), O. ligrum, Bouché sont géophages. Certaines espèces du groupe "pyrenaica" sont rhizophages.

Les hypo-endogés vivent plus profondément, dans un sol pauvre en éléments biogènes. Ils sont géophages ... quelques espèces du groupe "pyrenaica", Vignysa popi, Bouché.

c) les anéciques : ils s'enfoncent plus ou moins profondément dans le sol mais remontent à la surface pendant la nuit pour se nourrir. Leur réseau de galeries verticales est donc le siège d'une importante circulation de matière organique et d'éléments minéraux. D'une taille moyenne à grande, ils sont dotés d'une musculature puissante, pigmentés de brun ou de gris sur leur partie antéro-dorsale (mimétisme). Ils présentent une diapause et un pouvoir de régénération important ... Nicodrilus longus, Scherotheca occidentalis.

Il existe de plus toutes les formes intermédiaires possibles entre ces trois groupes fonctionnels.

## II - Dispositif expérimental

### 2.1 - Choix des espèces

Nous devons choisir des espèces dont le mode de vie est compatible avec les conditions d'expérience et faciles à obtenir en grand nombre. Comme le souligne Bouché (1979, 1972), les animaux doivent appartenir à des taxons homogènes et bien définis pour que les mesures soit reproductibles. Il est préférable aussi d'utiliser des animaux très répandus dans la nature. Enfin, les individus ne doivent pas présenter d'arrêt sexuel, ni de diapause "endocrine" se déclenchant spontanément sans que les conditions d'élevage aient varié.

Nous avons donc choisi Eisenia fetida fetida, P.1756, espèce épigée, corticole, déjà très étudiée. Elle est monotypique et très cosmopolite. En France, elle est caractéristique des tas de fumiers (Bouché, 1972). C'est une espèce de petite taille. Elle se reproduit facilement et en grande quantité à partir de substrats organiques (ordures ménagères, terreaux, litière, ...).

*Ses caractéristiques* : longueur 50 - 120 mm
largeur 2 - 4 mm
poids 200 - 600 mg
80 - 120 segments
pigmentation rouge violacée

Ce choix implique une température d'élevage proche de 22,5 °C qui est l'optimum pour cette espèce.

De plus, afin de rendre compte de l'effet "espèce" dans les tests, nous utiliserons deux autres taxons : Lumbricus terristris (sensu L.herculeus Sav.), souche P 343 et Allolobophora chlorotica chlorotica forme albinique P 1947. En effet, L. terrestris est une espèce assez monotypique, très répandue (Europe Centrale, de l'Est et du Nord, Amérique du Nord, Falklands, ...) (Bouché, 1972). C'est un épi-anécique (intermédiaire entre épigé et anécique), sans diapause, donc utilisable au laboratoire et avec notre milieu d'élevage.

*Ses caractéristiques* : longueur 130 - 250 mm
largeur 7 - 9 mm
poids 5 - 15 g
108 - 180 segments
pigmentation rouge pourpre avec gradients antéro-postérieur et dorso-ventral (Bouché, 1972)

Nous avons récolté cet animal dans la prairie de Cîteaux par la méthode au formol, début avril 1979. Cette espèce est difficile à élever.

A. chlorotica chlorotica est aussi une espèce monotypique. Elle est répandue en Eurasie et dans les zones tempérées des Amériques (Bouché, 1972). Cette espèce est endogée et géophage ; son développement est continu dans les conditions constantes du milieu d'élevage en laboratoire.

C'est une variété albinique, xérophile, présente à l'Est du méridien de Paris. Nous l'avons récoltée,fin avril, dans la vallée de l'Ouche.

2.2 - Choix du milieu d'élevage

Un substrat inerte est recherché afin de fabriquer un milieu d'élevage dont on puisse connaître les paramètres (humidité, composition, porosité du sol, ...). Ce substrat doit être de pureté chimique connue. De plus, une répartition homogène du polluant doit pouvoir être obtenue.

Initialement, M.B. Bouché avait proposé l'alumine pure en poudre ; mais, même mouillée, cette poudre forme une masse trop compacte. La possibilité d'obtenir un milieu structuré par des billes de verre entre lesquelles on place du carbonate de calcium comme tampon a été envisagée. Un apport de débris végétaux permettait de nourrir Eisenia fetida. Cet essai a échoué ; les vers de terre n'ont pu survivre dans ce milieu.

Un autre mélange fut alors réalisé : billes de verre et fines billes d'alumine chargées de porter le polluant ; ce mélange a également été abandonné car une mini-chromatographie se produisait à la surface des fines billes, empêchant de connaître la concentration en pesticides. L'alumine en poudre, par contre, n'adhère pas aux billes. MM. Bouché,Fayolle et Ferrière, aidés par les élèves de 2ème année de l'E.N.I.T.A. de Quétigny, ont essayé de lier l'alumine aux billes avec un silicone. Ce milieu s'est avéré satisfaisant ; le liant est jugé neutre.

Mais, finalement, pour faciliter l'emploi et assurer la survie des vers ainsi en élevage, c'est un mélange composé de billes de verre enrobées d'une pâte de lévilite mouillée qui a été préférée. La lévilite est une fine poudre de silice que Rhône-Poulenc commercialise. En lui ajoutant 250 % de son poids en eau, on obtient un matériau meuble et humide. Les billes ainsi enrobées laissent entre elles un espace qui permet la circulation de l'air et le passage des espèces lombriciennes non fouisseuses. Ce sol artificiel est appelé artisol.

## 2.3 - Présentation des pesticides

Pour présenter les substances que j'ai testées, je m'appuierai sur les informations publiées par Tourte (1972), ainsi que sur les documents de l'A.C.T.A. (1978).

> *"Un pesticide est, par définition, un produit chimique utilisé pour détruire ou du moins contrôler des populations d'individus qualifiés de "parasites" qui nuisent à d'autres espèces par une concurrence excessive pour les aliments et l'espace, et aussi par les produits, inhibiteurs ou toxiques, de leur métabolisme."*

Les insecticides arsenicaux étaient déjà employés au 17ème siècle. Le soufre, l'acide cyanhydrique et quelques sels d'arsenic ou de fluor sont encore en usage contre les insectes.

Certains végétaux sont connus depuis longtemps pour leur propriétés pesticides. Les substances responsables sont parfois très actives et ne semblent ni toxiques pour les animaux à sang chaud, ni sujettes à une résistance acquise (nicotine, anabasine, pyrèthre, roténone, ryanodine, sébadille, ...).

L'usage massif des substances organiques de synthèse a pratiquement commencé en 1943, consécutivement à la découverte de P.Müller des propriétés insecticides du D.D.T. L'emploi de 1 million de tonnes de ce produit depuis 1945 a permis de diminuer considérablement le taux de paludisme. On estime que l'usage des agents chimiques évite aux U.S.A. de perdre la moitié de leur production de pommes de terre, d'agrumes, de pommes, de coton et au moins 25 % de celle de viande, de lait et de laine. Mais chaque année, un tiers des récoltes mondiales est encore détruit par les agents pathogènes et les nuisibles.

L'importance du marché de ces substances est énorme. En 1972, on a estimé à plus de 100 000 le nombre de produits organiques de synthèse testés pour leur propriété pesticide. Selon le ou les nuisibles auxquels ils sont destinés, on les qualifie de : herbicide, insecticide, fongicide, ...

Toutefois, la spécificité des pesticides est variable ; on peut établir une classification qui tient compte de l'étendue de leur spectre d'action, aux doses indiquées par le fabricant, :

. les substances monotoxiques : leur action est spécifique d'une espèce. Elles sont rares.

. les substances oligotoxiques : elles agissent sur quelques espèces. Elles ont donc généralement un impact sur des espèces jugées "utiles" ou "indifférentes" en plus de celles visées. Ces produits sont les plus nombreux.

. les substances polytoxiques : elles agissent sur un grand nombre d'espèces sans grande variation de doses. Leurs avantages sont : un coût plus bas, compte tenu du volume de la production, l'efficacité plus grande du produit, leur emploi universel. Pour accroître cette efficacité vis-à-vis d'une espèce donnée, on dispose d'un choix de concentrations, du moment d'application et de la formulation, voire même de substances-appâts.

D'autre part, ces produits, de par leur nature, se répartissent en 3 catégories : pesticides non organiques, d'origine végétale ou organiques de synthèse.

### 2.3.1 - Choix des produits

Ce travail a été financé partiellement par l'Office National de la Chasse qui a demandé l'étude prioritaire de 17 pesticides particuliers pour les raisons suivantes :

- certains sont suspectés d'avoir une action létale sur le gibier via leurs aliments dont les lombriciens constituent parfois une part non négligeable,

- les effets biocides d'autres produits sont soupçonnés d'être à l'origine d'une raréfaction alimentaire,

- ...

Il est à noter que l'effet létal d'un traitement pesticide sur les lombriciens entraîne très souvent la montée des individus agonisants à la surface du sol ; de sorte que ceux-ci deviennent des proies faciles et empoisonnées pour le gibier.

Les 17 produits retenus par l'Office National de la Chasse sont :

- Bénomyl : fongicide
- Bromophos : insecticide non systémique
- Carbaryl : insecticide non systémique
- Carbendazime : fongicide systémique
- Dazomet : fongicide, herbicide, nématicide non systémique
- Diquat : herbicide
- Endosulfan : acaricide et insecticide non systémique
- Lindane : insecticide non systémique
- Méthiocarbe : insecticide non systémique
- Phosalone : acaricide et insecticide non systémiques
- Thiophanate éthyl : fongicide systémique
- Thiophanate méthyl : fongicide
- Thirame : fongicide non systémique
- Thiofanox : insecticide, acaricide systémiques
- Triallate : herbicide
- 2,4,5-T : herbicide
- Zirame : fongicide non systémique

Ce sont tous des produits organiques de synthèse. Parmi eux, le lindane a été retenu pour une étude de bio-accumulation en raison de sa rémanence relativement élevée et de la commodité de son dosage.

### 2.3.2 - Caractéristiques des produits

Présentons les différentes catégories de pesticides organiques de synthèse en précisant pour chacune les substances que nous testons, leurs caractéristiques et si possible leur mode d'action et les produits de dégradation.

Les organiques de synthèses comprennent les organo-chlorés, les organophosphorés, les carbamates et quelques produits d'importance secondaire. Ces derniers sont : les sulfones, les thiocyanates, les dérivés de la phénylthiourée (P.T.U.) et les dérivés du benzène (naphtaline, ...). Les 3 principaux groupes fournissent nos produits.

#### 2.3.2.1 - Les pesticides chlorés

Les organo-chlorés sont des composés organiques cycliques dont quelques atomes d'hydrogène sont substitués par du chlore ; ils ont des propriétés pesticides. Leurs molécules dépourvues de groupement fonctionnel aisément hydrolysable sont très stables : elles résistent à la lumière, à la chaleur et à l'humidité.

On distingue 4 catégories :

. les dérivés du chlorobenzène,
. HCH et les composés voisins,
. les dérivés chlorés du naphtalène et du lindane
. les dérivés chlorés des terpènes.

a) <u>les dérivés du chlorobenzène</u>

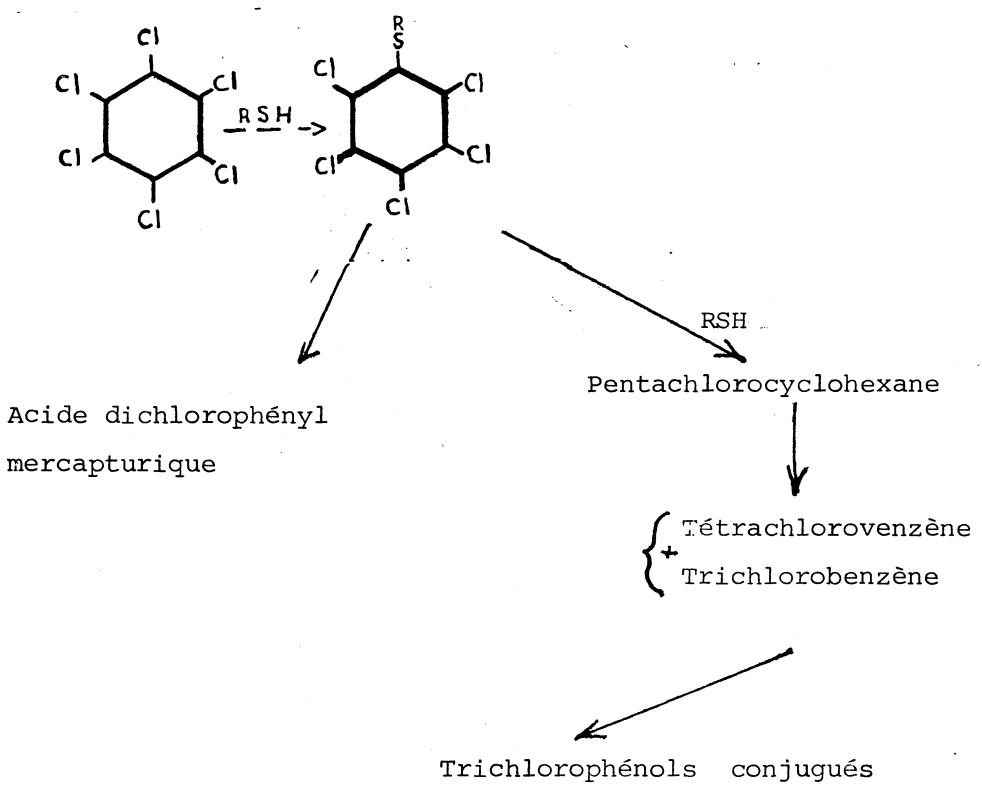
Le plus connu est le D.D.T. ou Dichloro-Diphényl-Trichlorométhane.

b) <u>les dérivés du cyclohexane</u>

HCH, l'hexachloro-cyclohexane, $C_6H_6Cl_6$ a été obtenu en 1825 par Faraday. Mais ce n'est qu'en 1942 que l'on remarqua ses propriétés insecticides.

Seul l'isomère ,dénommé gammexane ou lindane, a ces propriétés insecticides. Il a le point de fusion le plus bas. Son poids moléculaire est 291. Il se présente sous forme de poudre blanche. Soluble dans les solvants organiques, il l'est peu dans l'eau (10 ppm). Il agit par contact, ingestion et inhalation sur presque tous les ordres d'insectes. Sa DL 50 pour le rat, par ingestion, est comprise entre 90 et 125 mg/ kg selon les auteurs (Tourte, 1972 ; ACTA, 1978).

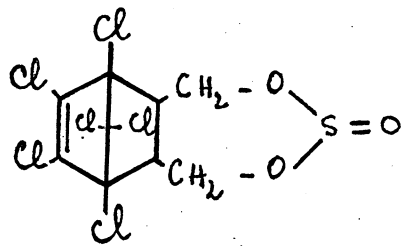
o'Brien (1967) indique qu'il donne un produit de dégradation labile : le pentachloro-cyclo-hexane. D'après Tourte, il ne s'accumule pas dans l'organisme ; la mouche domestique et les mammifères le convertissent en un composé dérivé soufré, puis le dégradent rapidement. Le soufre étant probablement apporté par le glutathion.




Il semble que les plantes métabolisent le lindane en pentachloro-cyclo-hexane par la même voie.

c) les dérivés chlorés du camphène (ACTA, 1978)

. l'endosulfan est l'hexachloro -6,7,8,9,10,10 hexahydro-1,5,5a,6,9,9a méthano-6,9 benzo-dioxothiépine-2,3,4 oxide-3. $C_9H_6Cl_6O_3S$ . Poids moléculaire : 407. Il agit sur de nombreux insectes par contact, ingestion et en se vaporisant un peu, juste après l'application. Son action persiste 3 à 7 jours sur le feuillage. Il est insoluble dans l'eau. La plante le métabolise. Sa toxicité est 2 fois plus grande en solution huileuse qu'en solution aqueuse. Les DL 50 pour le rat par ingestion varient de 50 à 110 kg/mg.




. Le 2,4,5-T $C_8H_5Cl_3O_3$ ou acide (trichloro-2,4,5 phénoxy)-acétique est un herbicide peu sélectif du groupe des dérivés aryloxy-acétiques. C'est un débroussaillant utilisé contre les végétaux ligneux. Son poids moléculaire est : 255,5. Sa toxicité est assez faible. La DL 50 pour le rat par ingestion est 500 mg/kg.

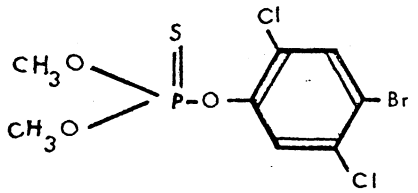
d) Les pesticides chlorés détruisent les tissus. Ceci serait dû en partie à l'acide chlorhydrique qu'ils libèreraient.

2.3.2.2 - Les pesticides organo-phosphorés

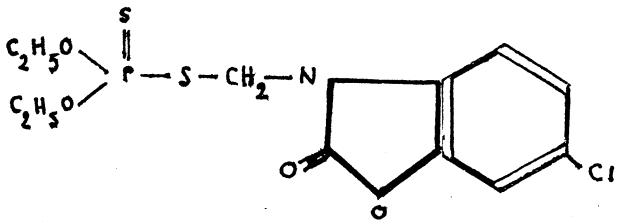
Ce sont des phosphates ou leurs dérivés. Ils comportent 1, voire 2 atomes de phosphore et parfois des atomes de soufre à la place d'oxygène. Datant de la seconde querre mondiale, leur essor n'est que relativement récent. Certains agissent en pénétrant directe-

ment dans l'insecte : ils sont exothérapiques ; d'autres sont endothérapiques (systémiques) puisqu'ils pénètrent dans les végétaux et, métabolisés ou non, circuluent dans la sève pour la rendre toxique pour les insectes. Tous sont anticholinestérasiques.

. Le bromophos, $C_8H_8O_3SPCl_2Br$, ou thiophosphate de O,O-diméthyle et de O-(bromo-4 dichloro-2,5 phényle) est un insecticide non systémique et un acaricide. Il agit par contact et plus efficacement par ingestion. Peu soluble dans l'eau (40 ppm), il est très stable. Son action persiste pendant 10 à 15 jours. Sa toxicité est très faible. La Dl 50 pour le rat par ingestion est 3750 mg/hg. Poids moléculaire : 366.




. Le phosalone, $C_{12}H_{15}O_4NPS_2Cl$, ou S-(chloro-6-oxo 2 benzoxazolinyl-3) méthyl phosphoro-thiolothionate de diéthyle, est un insecticide acaracide. Très actif sur les acariens, il agit également sur un grand nombre d'insectes, par contact et par ingestion. Son action persiste pendant 15 à 18 jours. La DL 50 pour le rat par ingestion est 135 mg/hg.




"Les organo-phosphorés peuvent être transformés dans la plante ou l'animal par hydrolyse, oxydation, réduction et isomérisation ; hydrolyse et oxydation étant les processus essentiels :

- l'hydrolyse de la liaison pyrophosphate conduit en général à une levée de la toxicité.

Pour beaucoup d'esters phosphoriques se produit un clivage ; on aboutit alors aux dérivés désalkyl, très peu toxiques, vite éliminés.

Lors de la séparation d'un résidu acide du phosphore sont libérés des phénols, des hétérocycles avec OH aromatique, des acides alcools, et lors de la dissociation d'une liaison P-S-C des composés mercapto. Ces produits sont conjugués dans certaines conditions d'acidité et dans ce cas éliminés rapidement par l'animal ; dans les plantes, ils sont conservés plus longtemps.

- L'oxydation conduit à une toxicité accrue. Mais en même temps augmente la solubilité dans l'eau et baisse la stabilité pour le clivage hydrolytique, ce qui peut accélérer l'élimination chez les animaux à sang chaud. Un processus important est le remplacement d'un soufre thiono $>\underset{\underset{\shortparallel}{}}{P}-$ sur le phosphore par un atome d'oxygène, processus qui peut se produire pour le bromophos et le phosalone. Les "oxons" ainsi produits sont très instables.

Une autre réaction importante est la formation de sulfoxydes et de sulfones à partir de thioéthers. Ces produits d'oxydation sont toxiques ; bien qu'ayant une très courte durée d'action, ils pénètrent mieux dans les plantes et se répartissent plus facilement chez les animaux.

- La réduction a un rôle secondaire, elle transforme sous anaérobiose les groupes nitro en groupes amino dans les sols peu aérés.

- L'isomérisation des thionophosphates en thiolphosphates accroît l'activité anticholinestérasique mais ces composés sont encore plus instables que les oxons."

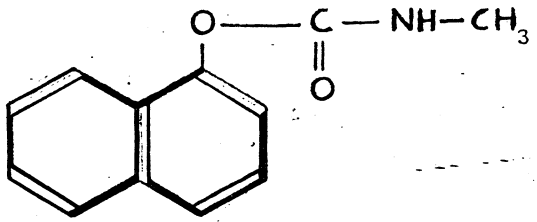
2.3.2.3 - Deux autres séries de composés organiques sont étudiés depuis peu : les organo-fluorés et les organo-arsenicaux.

2.3.2.4 - Les carbamates sont dérivés de l'acide carbamique. Ils sont anticholinestérasiques. On distingue les :

. N-méthylcarbamates,
. N-phénylcarbamates,
. N,N-diméthylcarbamates.

a) les N-méthylcarbamates

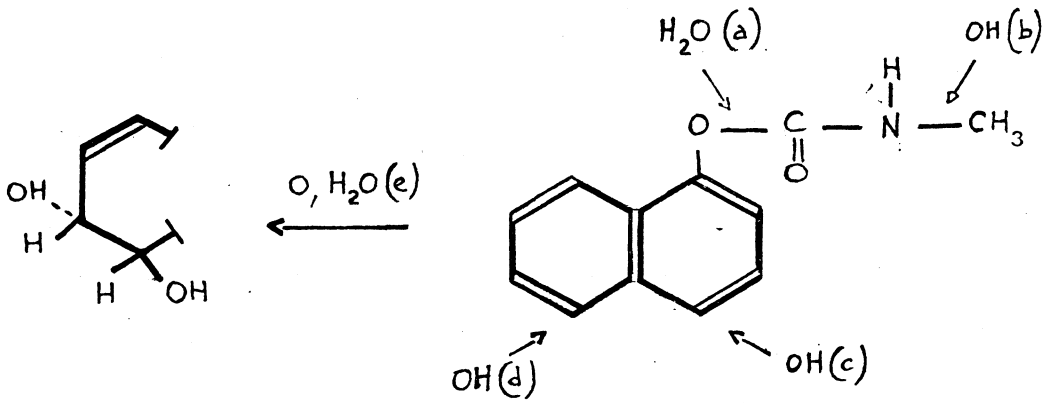
Le carbaryl est le plus utilisé des carbamates. C'est un solide, cristallisé et incolore. Il est employé contre les insectes ravageurs des récoltes ; il agit par contact et par ingestion. Il est assez sélectif. Il est pratiquement insoluble dans l'eau (40 ppm). Il est stable à la chaleur et à la lumière. Son action persiste pendant 15 à 21 jours.




Sa toxicité est très faible. La DL 50 pour le rat par ingestion est : 540 mg/hg.

"L'attaque métabolique consiste principalement en hydroxylation et oxydation suivie de la conjugaison des produits d'hydroxylation. Une carbamoylation peut avoir lieu en présence de carbamates.

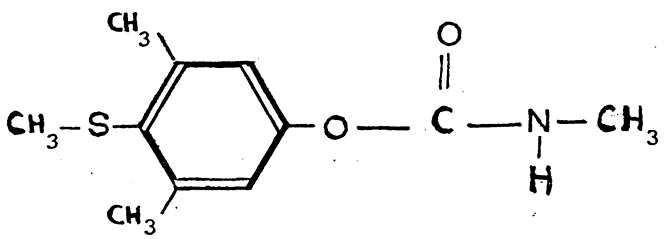
Le carbaryl est transformé chez les plantes, les mouches domestiques et




les rats en quatre métabolites résultant de l'hydroxylation du groupe N-méthyl (b) et du noyau (c et d), et de l'époxydation suivie d'un clivage époxy du noyau phénol ; chacun de ces produits d'oxydation est ultérieurement conjugué. Ils sont alors excrétés chez les mammifères sous forme de sulfates et de glucuronides, mais ils persistent chez les plantes sous forme de glucosides.

Un certain degré d'hydrolyse (a) a lieu chez les plantes et les rats, et l' $\alpha$-naphtol libéré subit une dégradation rapide.

Le méthiocarbe, $C_{11}H_{15}NO_2S$) ou N-méthylcarbamate de thiométhyl-4 xylyle-3,5. Il est utilisé contre les lépidoptères, coléoptères et diptères. Sa DL 50 pour le rat par ingestion est de 130 mg/hg.

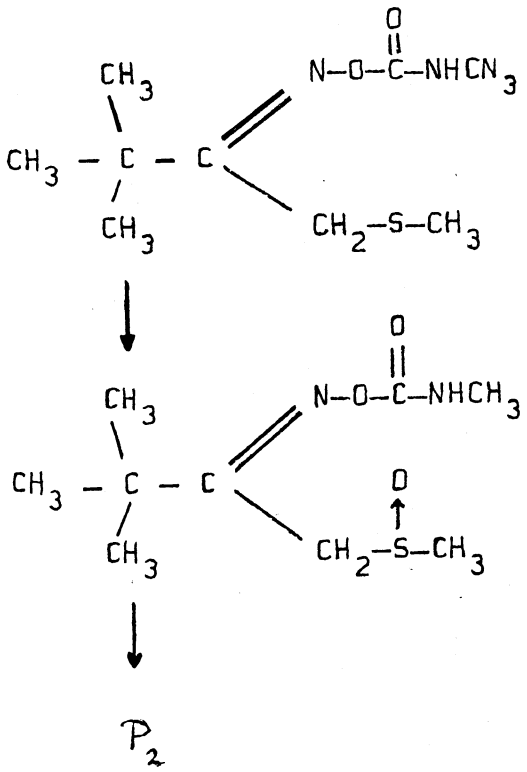


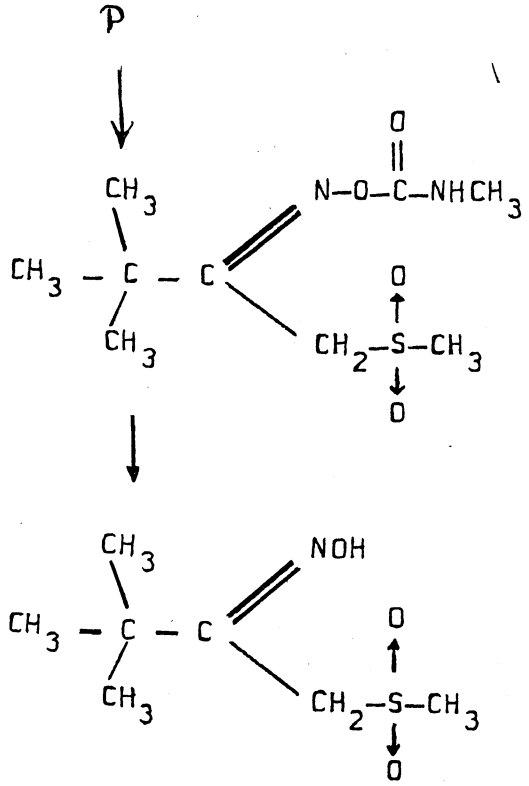

Le bénomyl, $C_{14}H_{18}N_4O_3$, est l'ester méthylique de l'acide 1-(butyl carbamoyl)-2 benzimidazole carbamique. C'est un fongicide systémique persistant. Il est efficace contre un grand nombre de champignons pathogènes : Botrytis, Oïdium, ... Il est très toxique. La DL 50 pour le rat par ingestion : 3600 mg/hg.

Le carbendazime : $C_9H_9N_3O_2$, est le 2-(méthoxy-carbamoyl)-benzimidazole. C'est un fongicide polyvalent et systémique qui se présente sous forme de cristaux blancs, pratiquement insolubles dans l'eau (10 ppm). En solution alcaline, il se décompose lentement. Son action persiste pendant 2 à 3 semaines. Sa toxicité est presque nulle. La DL 50 pour le rat par ingestion est > 15 000 mg/kg.

Le Dazomet : $C_5H_{10}N_2S_2$, est le dimétyl-3,5 perhydrothiadiazine-1,3,5 thione-2. En se décomposant dans le sol, il donne des carbamates, puis des thiocyanates. Ses vapeurs intoxiquent de nombreux nématodes et des champignons du sol (Pythium, Rhizoctonia, Fusarium, Verticillium et Colletotrichum, ...). Il est aussi herbicide et insecticide sur les vers blancs, les vers fil de fer et les larves de Tipules. Il est très phytotoxique. Sa DL 50 pour le rat est de 640 mg/kg.

Le Thiofanox, $C_9H_{18}N_2O_2S$, est le 3,3 diméthyl-1-(méthylthio)-2-butanone O- (méthylamino) carbonyl oxime. Il se présente sous la forme d'un solide blanc cristallisé soluble dans l'eau (5200 ppm à 22°C). Tension de vapeur : $1,7.10^{-4}$ nm de mercure à 25°C. C'est un insecticide systémique absorbé par les racines. Il agit également par contact, ingestion et par inhalation sur certains insectes du sol (Myriapodes, Pucerons, Acariens). Sa toxicité est élevée. La DL 50 pour le rat est de 64,5 mg (Klein) à 8,5 mg/kg (Acta). Il est relativement peu hydrolysé à un pH compris entre 5 et 9 et à une température inférieure à 30°C. Appliqué sur le sol sous forme de granulés, son action persiste environ 8 semaines. Mais la nature physico-chimique du sol intervient sur la vitesse de dégradation. La dégradation du thiofanox suit la même voie chimique générale chez les plantes, les animaux et dans le sol. P(le thiofanox) est facilement oxydé en $P_1$ (sulfoxyde) et $P_2$ (sulfone) ; $P_2$ est ensuite hydrolysé en $O_2$ (oxime).






$P_2$ (sulfone)

$O_2$ (oxime)

Le taux de dégradation du thiofanox dépend néanmoins étroitement de la température, de l'humidité du sol, de l'activité microbienne et, à un moindre degré, du pH."

<u>Le thiophanate-éthyl</u>, $C_{14}H_8N_4O_4S_2$, est le 1,2-bis-(3-éthyloxycarbonyl-2-thiouréido)-benzène. C'est un fongicide très efficace contre les champignons du sol ; il est absorbé par les feuilles et les racines des plantes. Il est peu soluble dans l'eau. Sa persistance dans le sol est supérieure à celle du thiophanate méthyl. Sa toxicité est très réduite. La DL 50 pour le rat est de 15 000 mg/kg.

<u>Le thiophanate-méthyl</u>, $C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$, est le 1,2-bis(3-méthoxycarbonyl-2-thiouréido)benzène. Ce fongicide est absorbé par les racines et les feuilles des plantes. Il est très peu soluble dans l'eau. Dans les plantes ou conservé trop longtemps en suspension dans l'eau, il est décomposé en carbendazime. Sa toxicité est pratiquement nulle. La DL 50 pour le rat est de 6620 mg/kg.

Le thirame, $C_6H_{12}N_2S_4$, est le disulfure de bis(diméthyl-thiocarbanyle). C'est un fongicide actif sur de nombreux champignons. Il est insoluble dans l'eau (30 ppm) et thermiquement stable. Son action persiste pendant 2 à 3 semaines. Sa toxicité est réduite. La DL 50 sur le rat est de 865 mg/kg.

Le Triallate, $C_{10}H_{16}ONSCl_3$, est le di-isopropylthiocarbamate de S-(trichloro-2,3,3-allyle). C'est un herbicide insoluble dans l'eau (4 ppm). Sa toxicité est très réduite. La DL 50 pour le rat est de 1675 à 2165 mg/kg.

Le Zirame, $C_6H_{12}N_2S_4Z_4$, est le diméthyl dithiocarbamate zincique. C'est un fongicide peu soluble dans l'eau (65 ppm) qui se décompose en milieu acide. Sa toxicité est faible. La DL 50 pour le rat est de 1400 mg/kg.

2.3.2.4 Ammonium quaternaire :

Le Diquat : $C_{12}H_{12}N_2$, est le dihydro-9,10 diazonia-8a phénonthrène. Cet herbicide passe dans la sève des végétaux. Sa forme commerciale (dibromure monohydraté) est soluble dans l'eau (7g/l) ; il est stable en milieu acide ou neutre, instable en conditions alcalines. Sa toxicité est faible. La DL 50 pour le rat est de 400 mg/kg.

# DEUXIEME PARTIE

## MATERIEL et METHODE

### I - Les souches lombriciennes

J'utilise Eisenia fetida fetida Savigny, souche P 1756, pour la plupart des essais. Les individus proviennent de l'élevage de la station de recherches sur la faune du sol de l'I.N.R.A. à Dijon.

Afin de rendre compte de l'effet "espèce", on comparera les résultats obtenus avec Eisenia fetida à ceux obtenus obtenus avec 3 stades (adulte, sub-adulte et larve) de Lumbricus terrestris(sensu L. herculeus Sav.) souche P 343, et avec Allolobophora chlorotica chlorotica, forme albinique, souche P 1947.

### II - Mode d'élevage

Les Eisenia fetida sont placés par lots de 20 dans des boîtes d'élevage contenant l'artisol. Il est de même pour A. chlorotica et L.terrestris larves, tandis qu'on ne place,en raison de leur taille, que 10 L.terrestris sub-adultes et 6 ou 7 L. terrestris adultes.

Les boîtes et leur couvercle sont en plastique (à usage alimentaire) Elles sont dotées de 2 aérations : 1 proche du fond et l'autre sur la face opposée proche du couvercle. Cette dernière est munie d'un petit tuyau de raccordement.

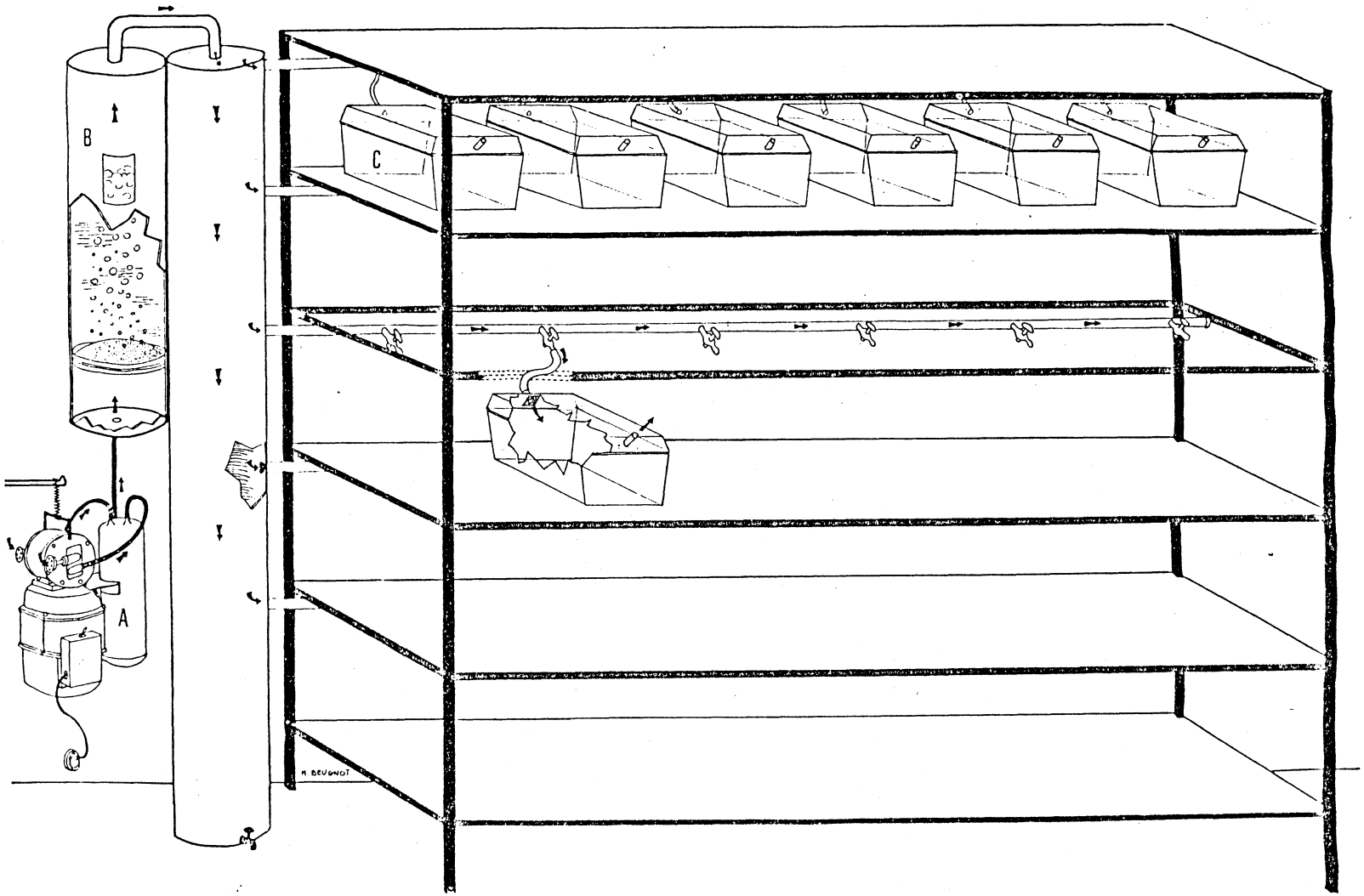



FIGURE I : Dispositif d'aération continue des boîtes d'élevage : l'air propulsé par une pompe A et saturé dans la colonne d'eau B avant de traverser les boîtes d'élevage C. Les flèches indiquent le flux d'air. D'après Bouché (1972).

Chaque boîte contient l'artisol ou l'un des trois autres milieux que l'on compare : sol argileux, sol humifère et sol limoneux.

Ces milieux, de densité voisine de celle de l'artisol, sont composés de billes enrobées d'une terre d'origine naturelle (cf. § 2.2).

Il importe d'assurer une ventilation des boîtes pour permettre aux animaux de respirer et pour éliminer les gaz de putréfaction provenant des individus morts. Pour une raison de constance des conditions expérimentales, l'humidité du milieu doit varier aussi peu que possible. Pour ces raisons, les boîtes sont placées dans une salle où on les branche, grâce à leur tuyau de raccordement, sur un dispositif d'aération forcée avec de l'air saturé de vapeur d'eau (voir figure 2).

La salle d'élevage est obscure jour et nuit et possède des cases climatisées grâce à un système de réfrigération et à un radiateur thermostatés. Un petit ventilateur supprime les gradients de température. Ce système permet d'élever chaque espèce lombricienne à sa température optimale : 22,5 °C pour *E. fetida*
18°C pour *A. chlorotica* et *L. terrestris*.

## III - Mode d'apport du contaminant

Les formulations des produits que nous avons utilisés sont les suivantes.

Bénomyl : Benlate, poudre à 50 %
Bromophos : Rhodianex, liquide 250 g/l
Carbaryl : Prosévor 85 , poudre à 85 %
Carbendazime : Bavistine, poudre à 50 %
Dazomet : Fongosan, poudre à 85 %
Diquat : Réglone 2, liquide 200 g/l
Endosulfan : Thiodane super, liquide à 350g/l
Lindane : Litexa 20, liquide à 200 g/l ou Litexa 90, poudre à 90 %

Méthiocarbe : Mesurol 50, poudre à 50 %
Phosalone : Zolone, liquide 350 g/l
Thiophanate éthyl : Pelt sol, poudre à 50 %
Thiophanate méthyl : Pelt 44, poudre à 70 %
Thirame : Thirazan, poudre à 80 %
Tiofanox : Dacamox 5 G, poudre à 5 %
Triallate : Avadex liquide 400 g/l
2,4,5-T : Agrishell liquide 500 g/l
Zirame : Micronyl, poudre à 90 %

Au terrain, les polluants atteignent les lombriciens par les débris végétaux contaminés qu'ils ingèrent, ou par le sol. Nous avons donc imaginé deux modes d'apport : l'un dans la pâte de lévilite, l'autre dans un aliment figuré.

Nous pensions qu'Eisenia fetida, ver corticole, n'ingèrerait pas la lévilite ; ce qui aurait permis de dissocier deux contaminations : l'une par contact, l'autre par ingestion en fonction du mode d'apport du pesticide. En fait, Eisenia fetida absorbe la lévilite.
Par simplicité, nous gardons les mêmes désignations : contamination par contact (sens large) et contamination par ingestion (sens strict).

### 3.1 - Contamination par le sol

Les 17 produits à tester sont utilisés sous forme de poudre que l'on mêle intimement à la lévilite sèche. La concentration en matière active de chaque produit est exprimée relativement au poids sec de lévilite contenue dans une boîte.

### 3.2 - Contamination par la litière

L'aliment figuré choisi est une "litière" de son tamisé entre 1 et 2 mm. C'est un produit peu variable et pratique. Nous le stérilisons à l'étuve pendant 3 h à 60°C afin de détruire les spores de champignons qui,

en se développant dans la boîte d'élevage, stopperaient la consommation de l'aliment.

Seul le lindane (formulation liquide) a été appliqué sur le son sec que l'on humidifie ensuite afin qu'il puisse être consommé.

La dose apportée est définie à partir de la surface de la boîte. On considère que la dose normale (dose N) de matière active correspond à 1 kg/ha (par référence à l'usage agricole), c'est-à-dire à 3 mg par boîte (S = 300 m2).

## IV - Paramètres étudiés

La mortalité sera observée après 7 jours pour diverses doses de polluants (facteur dose) ou les 7è, 14è, 21è et 28è jour pour une même dose (facteur temps).

La bio-accumulation ne sera mesurée que pour le lindane.

Les modifications d'anatomie ou de comportement seront notées.

## V - Conduite de l'expérimentation

### 5.1 - Etude des effets par contact des polluants sur *E. fetida fetida* élevé dans l'artisol

a) Une étude préliminaire est réalisée pour chacun des 17 produits aux concentrations 0 ppm (témoin), 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm. Le 7è jour, le comptage des survivants de chaque boîte permet de situer la zone médiane d'effet létal partiel que nous appellerons zone létale.

b) On s'efforce, en complétant par 3 nouvelles concentrations, d'obtenir 7 concentrations à progression logarithmique dont 1 serait à effet

faible ou nul le 7è jour, 4 seraient à effet intermédiaire, 1 a effet fort et 1 serait la dose témoin, sans contaminant (Lowy, 1977-1978).

A la suite d'une erreur lors de la transcription des directives à suivre durant cette étude, j'ai systématiquement recherché 2 concentrations à effet faible ou nul, 2 à effet intermédiaire et 2 à effet fort. Cette erreur n'a été corrigée qu'à la fin de mes mesures.

A partir de ces données, le calcul des mortalités corrigées selon Abbott doit permettre d'établir la courbe log-Probit de survie, les coefficiens r de corrélation et F de Snedecor-Fisher (avec tests de signification aux seuils de 1 et 5 %). (Le principe d'obtention de la courbe log-Probit est exposé en annexe n° 2 ). D'usage courant en toxicologie, la courbe log-Probit fournit par lecture directe la concentration létale 50 à 7 jours (CL 50 7j) et la plus petite concentration effet significatif au seuil de 5 % (PPCS) (Lowy, 1978). Les résultats sont comparés entre produits.

c) Détermination du temps létal 50 correspondant à la PPCS : elle ne sera faite que pour le lindane.

Quatre boîtes d'artisol contaminé à la PPCS permettent de donner la mortalité chronique à 7, 14, 21 et 28 jours. Une 5ème boîte, servant de témoin, n'est vidée que le 28ème jour.

d) Bio-accumulation par contact : les survivants obtenus lors des essais avec le lindane sont lavés et congelés en attendant d'être vidés de leur contenu intestinal et préparés pour un dosage du contaminant accumulé.

5.2 - Influence de la nature des sols étudiée avec le lindane sur *E. fetida*

- effet létal : quatre milieux de densité semblable sont préparés : artisol, sol humifère, sol limoneux et sol argileux. Pour chacun d'eux on établit les courbes log-Probit de survie comme en 5.1.b.

- bio-accumulation : elle est étudiée sur les survivants comme indiqué au § d précédent.
- les résultats sont comparés entre sols.

5.3 - Influence des facteurs "espèce lombricienne " et "stade"

Il s'agit de tracer les courbes log-Probit de survie dans l'artisol contaminé par le lindane pour Allolobophora chlorotica chlorotica et pour différents stades de Lumbricus terrestris : adultes, sub-adultes, et larves.

Les résultats sont comparés à ceux obtenus avec E. fetida fetida.

La bio-accumulation est étudiée chez les survivants comme en 5.1.d.

5.4 - Etude des effets du polluant par ingestion

Ils ne sont mesurés que pour le lindane sur E. fetida.

Les animaux sont élevés dans l'artisol comme précédemment, mais le polluant est apporté avec du son contaminé déposé à la surface du substrat.

a) dose "seuil de palatabilité" : on apporte une gamme de 3 doses (N, 5N et 10N) diluées sur du sol et l'on observe la consommation pendant 7 jours. Puis, on apporte de nouveau 3 doses intermédiaires inférieure au seuil de non consommation. Après 7 jours, le nouveau seuil de non consommation indique la dose "subcritique" : celle qui est juste inférieure à ce seuil.

b) temps létal 50 en condition "subcritique". On prépare 5 boîtes d'artisol en réservant une boîte témoin qui reçoit du son non contaminé. Dans les 4 premières, le son pollué à la dose "subcritique" est apporté en petites quantités tous les 3 ou 4 jours. Le son pollué est préparé en une fois et stocké au congélateur. On sacrifie une boîte traitée le 7è jour, une le 14è, une le 21è et une le 28è jour avec la boîte témoin. On établit le temps létal 50 (TL 50).

c) Bio-accumulation par ingestion : elle est étudiée chez les survivants du 5.4 a et b comme en 5.1. d.

## VI - Méthode de dosage des bio-accumulats

Le lindane est une molécule de faible poids moléculaire, facilement volatile qui se prête bien à un dosage par chromatographie en phase gazeuse.

### 6.1 - Préparation des échantillons

#### 6.1.1 - L'extraction

Principe - On laisse macérer le matériel divisé dans un solvant organique où le principe actif (ici le lindane) est si possible très soluble et le matériel inerte peu soluble. En raison de la forte teneur en eau des lombriciens (85 % d'eau/poids sec), on utilise un système binaire d'extraction avec 2 solvants : acétone et hexane. L'acétone, solvant miscible à l'eau, permet la récupération du principe actif qui est ensuite transféré à l'hexane.

Mode opératoire - Les vers de terre congélés sont repris pour être disséqués. Les animaux sont incisés ventralement, d'arrière en avant, afin de mettre à vue le contenu du tube digestif. Un rinçage à l'eau assure l'élimination de ce contenu ; les vers sont alors égouttés sur du papier filtre. Une prise d'essai d'environ 1 g de l'échantillon ainsi préparé (tronçonné et homogénéisé) est combinée avec 10 cm3 d'acétone et 10 cm3 d'hexane. Le tout est broyé à grande vitesse pendant 30 secondes à 1 minute avec un appareil Turax. Le mélange est filtré sur Büchner garni d'un papier filtre et d'une couche de 0,5 à 1 cm d'hyflosupercel. L'échantillon recueilli sur le filtre est repris avec la même quantité d'acétone et d'hexane afin de subir une seconde opération (broyage et filtration). Ce filtrat est introduit dans une ampoule à décanter de 500 ml. On additionne l'extrait acétonique de 4 fois son volume d'eau salée à 20 ‰ . Après une légère agitation,

la phase hexane contenant les résidus se sépare de la phase aqueuse. L'extrait hexanique est filtré sur un entonnoir garni de laine de verre et de sulfate de soude anhydre. On réextrait la phase aqueuse à laquelle on ajoute 25 ml d'hexane en agitant vigoureusement pendant 1 mn. Le second extrait hexanique est filtré comme précédemment ; les extraits sont ajustés à 100 ml avec de l'hexane.

### 6.1.2 - Le dosage

Principe

La substance à chromatographier (ici le lindane) est dissoute dans un solvant organique : l'hexane. On introduit la solution dans la chambre d'injection pré-chauffée du chromatographe. Le flux d'un gaz vecteur entraîne les produits volatilisés dans une colonne remplie d'une phase stationnaire qui sert à retarder leur migration. Les produits sortent de la colonne en ordre différent ; cet ordre est fonction de leur affinité pour la phase stationnaire. Les vapeurs sont alors dirigées dans un détecteur à capture d'électrons. La chambre du détecteur est constituée d'une source radio-active (cathode) qui émet des particules perpendiculairement à sa surface. Ces particules entrent en collision avec les atomes des gaz présents et leur arrachent des électrons périphériques. Ces électrons sont captés par une électrode (anode) reliée à un électromètre et à un système d'enregistrement.

Mode opératoire

Les dosages ont été effectués sur un appareil Hewlett-Packard 5830A avec détecteur à capture d'électrons,dans les conditions suivantes :

- injecteur - t° = 220°C,
- colonne de type OV 210 - t° = 210°C,
- détecteur - t° = 300°C,
- gaz porteur : argon-méthane à 40 ml/mn,
- volume injecté : 5 µl,
- atténuation 8

En plus du système d'enregistrement, un programmateur permet de calculer pour chaque pic la surface correspondante. Celle-ci est proportionnelle à la quantité de produit contenu dans l'échantillon.

6.2 - Dosage proprement dit

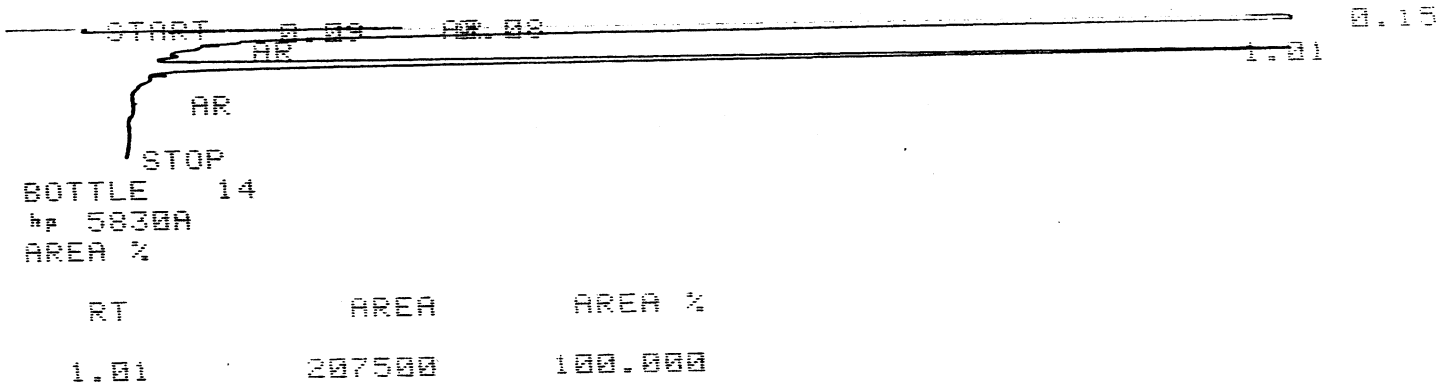
6.2.1. - Etalonnage de l'appareil

A titre d'exemple, nous avons présenté, figure 2 , les résultats obtenus suite à l'injection d'une concentration connue de lindane (0,020 γ/ml). Le premier pic représente l'hexane au temps 0,15 mn comptabilisé après l'injection. Au temps 1,01 mn, nous obtenons le pic du lindane avec la surface correspondante. L'appareil n'intègre que les surfaces comprises entre 0,6 et 2 mn. Le lindane représente la totalité de la surface retenue (aucun pic parasite).

| Y = Concentration en γ/ml de HCH | X = surface du pic |
|---|---|
| 0,004 γ/ml | 19 800<br>20 480 |
| 0,008 γ/ml | 41 760<br>41 930 |
| 0,016 γ/ml | 79 800<br>79 680 |
| 0,020 γ/ml | 104 200<br>100 900 |
| 0,040 γ/ml | 207 500<br>209 400 |

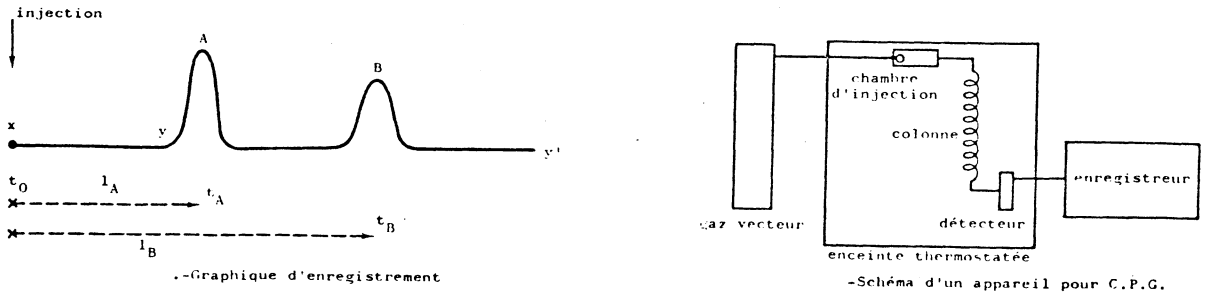
Tableau 1 - Résultats exprimant la surface du pic de lindane obtenue après injection de concentrations connues ; Y = 5223831X - 1394 représente l'équation de la droite qui lie ces deux variables, r (coefficient de corrélation) = 99,97.

Fig. 3 - Injection d'une concentration de lindane à 0,020 γ/ml.




Le tableau 1 représente, pour chaque injection de lindane à concentration connue, la surface du pic correspondante.

Nous effectuons 2 injections par échantillon si les surfaces diffèrent trop ( > 5%) ; nous réalisons 3 injections successives et nous ne conservons que les deux résultats les plus proches. Pour des concentrations plus élevées, la surface n'est plus proportionnelle et conduit à sous-estimer les valeurs ; les échantillons qui contiennent plus de 0,080 γ/ml doivent être dilués.




.-Graphique d'enregistrement

-Schéma d'un appareil pour C.P.G.

Fig. 4

### 6.2.2 - Validité de l'extraction

Dans un lot témoin, nous avons volontairement ajouté une quantité connue de lindane et effectué les opérations classiques d'extraction. La valeur obtenue (0,024 /ml au lieu de 0,020 /ml) surestime légèrement la quantité de lindane contenue dans l'échantillon.

Les impuretés non identifiées,interférant avec le pic lindane que nous avons par ailleurs mis en évidence dans un lot témoin, peuvent à elles seules expliquer ces différences. Les fortes concentrations en lindane que nous avons trouvées dans les échantillons contaminés rendent inutile une opération préalable de purification.

Résultats de 2 dosages sur un même échantillon

Sur un même lot fragmenté et homogénéisé de 20 vers, nous avons prélevé 2 aliquotes et effectué les opérations classiques d'extraction et de dosage. Les résultats (42,64 ppm et 32,21 ppm/poids frais) divergent en raison peut-être des erreurs de manipulation (rinçage de verrerie lors de l'extraction, dosage, ...) ou d'une mauvaise séparation de l'échantillon. Ainsi, nous avons remarqué qu'après l'égouttage des animaux sur papier filtre, la liquéfaction des échantillons était rapide. La séparation en 2 aliquotes identiques n'a probablement pas été assez rigoureuse (teneur en eau variable) et a provoqué une sous-estimation de la teneur en lindane du produit le plus humide.

## VII - Aspects pratiques du travail

### 7.1 - Les mesures de protection personnelle

Afin de ne pas respirer de poudre de lévilite ou de pesticides, je manipule sous une hôte aspirante. L'emploi de gants est indispensable. Enfin, j'équipe mes pipettes de pro-pipettes lorsqu'elles servent à prélever des préparations liquides de pesticides.

7.2 - La réalisation de l'artisol

Lorsque le contaminant à apporter se présente sous la forme de poudre, il est mélangé aux 180 g de lévilite sèche. Les deux produits sont réunis dans un flacon qu'un appareil retourne rythmiquement en le faisant rouler autour de son axe (agitateur Turbula).

Compte tenu de la fréquence des mouvements et de la nature des poudres à mélanger, il est jugé que 2 mn d'agitation suffisent pour obtenir un matériau homogène. Par précaution, je réalise 5 mn d'agitation.

Eventuellement, le pesticide sera dilué deux fois dans la lévilite selon cette méthode afin d'obtenir une concentration faible. Ainsi, quelques milligrammes de produit sont mêlés à la lévilite (la balance dont je dispose est sensible au milligramme).

La lévilite contaminée (180 g) est versée dans la boîte d'élevage et mélangée à 450 cm3 d'eau.

Lorsque le produit utilisé se présente sous la forme d'un liquide miscible à l'eau, c'est avec l'eau qu'il est apporté à la lévilite.

J'ajoute alors 2,850 kg de billes en verre de 1,85 cm à 2,15 cm de diamètre et je les enrobe de la pâte de lévilite.

Il ne me reste plus qu'à introduire les vers de terre.

7.3 - La réalisation des 3 autres sols

Ils sont composés d'un mélange de billes avec l'une des trois terres suivantes : argile, limon, terre humifère.

Ces terres tamisées ont été mises à sécher pendant 3 jours à l'étuve à 60 °C. Afin d'établir un potentiel capillaire identique pour chacune, il faut déterminer le volume d'eau à apporter. C'est pourquoi un échantil-

lon de chaque terre a été immergé, puis égoutté, et passé à la centrifugeuse à 3 vitesses différentes (250 tours pendant 2 mn30", 500 tours pendant 2'30", 1000 tours pendant 2'30") correspondant à 3 pF théoriques différents. (rappel : pF = log $\Psi$ où $\Psi$ est le potentiel capillaire ou énergie de rétention de l'eau par le sol ; $\Psi$ s'exprime en atmosphère).

L'observation des trois échantillons centrifugés a permis de choisir celui dont l'humidité semblait satisfaisante pour E. fetida, humidité qui a été mesurée grâce à un passage à l'étude pendant 24 h à 60°C :

. terre argileuse : 35,43 % du poids sec,
. terre humifère : 65,19 % du poids sec,
. terre limono-sableuse : 16,75 % du poids sec.

A partir de ces données j'ai pu préparer 3 sols de densité semblable à celle de l'artisol et composés comme suit :

| | artisol | sol argileux | sol humifère | sol limono-sableux |
|---|---|---|---|---|
| poids de sol | 180 g | 460 g | 300 g | 460 g |
| poids d'eau | 450 g | 163 g | 195 g | 77 g |
| poids de billes | 2 850 g | 2 850 g | 2 850 g | 2 850 g |
| poids total | 3 480 g | 3 473 g | 3 345 g | 3 387 g |

7.4 - Préparation de la litière

Pour faciliter la consommation du son, il est souhaitable de l'humifier à raison de 6 ml d'eau permutée pour 4 g de son sec.

Je prends 500 mg de son sec auquel j'apporte la dose voulue de litexa 20 qui est un produit liquide. La dose N correspond à 3 mg de matière active). Puis je complète en volume cette dose à 0,75 ml pour obtenir l'humidité désirée.

7.5 - Récupération des billes de verre

Lorsqu'une boîte d'élevage a été vidée, il faut récupérer les billes de verre ; les laver est peu pratique et pollue l'eau d'écoulement. J'ai choisi comme solution de faire sécher les boîtes pendant quelques jours en les maintenant ouvertes pour que la lévilite se détache des billes lorsque je secoue les boîtes refermées. Ceci me permet d'isoler la lévilite souillée et de la stocker, et d'obtenir des billes seulement poussiéreuses.

7.6 - Manipulation des vers

Les vers sont lavés et essuyés sur papier filtre avant de les peser par lots que je m'efforce d'obtenir d'un poids homogène. Les poids moyens de ces lots pour les différentes espèces sont :

. Eisenia fetida : 5 g
. Allolobophora chlorotica : 3,6 g
. Lumbricus terrestris adultes : 16 g
sub-adultes : 13 g
larves : 10 g.

Afin de tuer les survivants à conserver, je les congèle. Cette méthode les empêche de rejeter trop de leur liquide coelomique.

A la dissection, j'ai remarqué que les individus fins et fragiles se sectionnent moins facilement s'ils baignent dans l'eau.

# TROISIEME PARTIE

## RESULTATS

.....

## I - Résultats des tests de toxicité par contact

Pour chaque produit, je présente un résumé des travaux de divers auteurs, puis les résultats que j'ai obtenus sur l'artisol avec E. fetida.

### 1.1 - Bénomyl

*Etude bibliographique*

1° BAUDE et al. (1974)

Observations : . demi-vie des biodégradats du bénomyl
- de 3 à 6 mois sur gazon
- de 6 à 12 mois sur sol nu

. les biodégradats se localisent surtout dans les 10 premiers cm du sol.

2° BURCHILL (1973)

Milieu : verger

Traitements : a - pulvérisation de bénomyl

b - pulvérisation de thiophanate méthyl

Taxon étudié : L. terrestris

Observations : pour a et b : enfouissement réduit des feuilles ; les maladies trouvent plus de refuge l'hiver

Sinon : 2241,7 kg/ha des vers enfouissent 90 % des feuilles.

3° COOK M.E. et A.A.J. SWAIT (1975)

. Milieu : pommeraie

Taxon étudié : L. terrestris

Traitement : pulvérisation en été

Observation : absence de turricules l'hiver suivant

. Milieu : pommeraie

| Traitements : | Observations : |
|---|---|
| en 1970 : bénomyl (poudre soluble)<br>en 1971 : rien | nov. 1972 : 68 lombriciens/m2 |
| en 1970 : bénomyl )<br>en 1971 : captan ) poudre soluble<br>3 applications | nov. 1972 : 55 lombriciens/m2 |
| en 1970 : captan )<br>en 1971 : bénomyl ) poudre soluble<br>3 à 6 applications | nov. 1972 : de 8 à 27 lombriciens/m2 |
| en 1970 : bénomyl )<br>en 1971 : bénomyl ) poudre soluble<br>6 applications | nov. 1972 : 6 lombriciens/m2 |
| en 1972 : bénomyl + dinocap | mars 1973 : 113 lombriciens/m2 |

Remarque : l'effet du bénomyl se fait encore sentir 3 ans après ces différents traitements.

4° CROSSE J.E. (1974)

Milieu : vergers

Taxon étudié : Lombriciens

Traitement : pulvérisation

Observations : 3 ans, le niveau du peuplement reste faible malgré un un signe de reprise.

5° FAYOLLE L. (1979)

Milieu : en salle d'élevage climatisée à 15°C, obscure. Boîtes contenant 3,5 kg d'un substrat très pauvre en en matière organique (2/3 sol limono-argileux d'un horizon B + 1/3 de sable fin). pH = 7

Taxon étudié : Allolobophora chlorotica chlorotica

Traitements : pulvérisation sur le substrat sec que l'on brasse (25 % du poids sec en eau) - 20 à 25 vers par boîte, soit environ 6 g, ce qui correspond à 2 T de vers/ha.

Observations :

| Pesticides | Test F | r (1) | Equation (2) | CL 50 (3) 7j | DL 50 (5) rat |
|---|---|---|---|---|---|
| Méthiocarbe | ++ | 0,84 | - 3,6 X + 8,3 | 8,1 | 0,97 |
| Diméthoate | ++ | 0,92 | - 6,4 X + 13,0 | 18,2 | 2,18 |
| Lindane | + | 0,64 | - 4,3 X + 12,2 | 49,8 | 5,98 |
| Bénomyl ( | + | 0,70 | - 0,5 X + 6,9 | 4600,0 | . |
| Bénomyl ( A | ++ | 0,97 | - 14,8 X + 18,3 | (8,0) | - |
| Bénomyl ( B | ++ | 0,96 | - 14,9 X + 18,5 | (7,8) | - |

(1) : r : coefficient de corrélation

(2) : Equation de la droite de régression avec X = log de la dose

(3) : DL $50_{7j}$ lombriciens (en ppm)

(4) : DL $50_{7j}$ lombriciens (en kg m.a./ha sur 1 cm)

Le modèle log de la dose (en ppm)-probit de la survie corrigée a permis de calculer la CL 50 dans le cas où le test F est significatif à 1 % (++) ou 5 % (+). Pour le bénomyl, la TL 50 exprime le temps en jours ( ) aux doses 8,6 ppm (A) et 86,2 ppm (B).

6° KENNEL (1972)

Taxon observé : L. terrestris

.Milieu : boîtes contenant de la terre — Traitement : solutions de bénomyl versées

Observation : enfouissement des brindilles stoppé par une concentration de 25 ppm

.Milieu : pommeraies régulièrement tondues — Traitement : pulvérisation avec : a : bénomyl b : thiophanate méthyl

Observation : a = b : accumulation de l'herbe sèche et des feuilles mortes Réduction de la surface occupée par les turricules

7° PRASAD R. et R.P. MOODY (1974)

. Milieu : ormaie

Traitements :

a = terrain pulvérisé avec une suspension de bénomyl dans l'eau de 2 500 ppm, au printemps 1972 ; pH 7 poudre mouillable utilisée de suite

b = terrain pulvérisé avec une suspension de carbendazime dans l'eau (pH 7) de 2 500 ppm au printemps 1972

Taxons observés : α : L. terrestris

β : autres lombriciens

Observations : après 3 mois

| | α | β | Total |
|---|---|---|---|
| a | 0,03 | 2,30 | 2,33 |
| b | 0 | 1,25 | 1,25 |
| Témoin | 2,41 | 12,70 | 15,11 |

la différence entre a et b peut être due au fait que le bénomyl se décompose en carbendazime

. Milieu : laboratoire ; boîtes plastique de 2 l contenant de la terre

Traitement : sol saturé d'une suspension de bénomyl ou de carbendazime (50 ml/boîte). 10 L.terrestris de 15cm de long par boîte, nourris de feuilles sèchées, élevés en captivité pendant 15 jours avant l'essai.

Taxon observé : L. terrestris

Observations : la chromatographie en couche mince de sol saturé de bénomyl montre qu'en 14 jours le bénomyl se dégrade donnant : 78% de bénomyl, 21,3 % de carbendazime, 0,7% de AB (2 amino-benzimidazole).
Durée : 6 jours ; DL 50 = 3000 ppm pour le bénomyl ; DL 50 = 300 ppm pour le carbendazime.

Traitement : dosage par radioactivité de L. terrestris contaminé par du carbendazime marqué au $C^{14}$.

A = vers immergés dans le carbendazime

B = vers dans un sel mouillé de carbendazime

Observations :

| Partie de l'organisme | % d'activité radioactive | |
|---|---|---|
| | A | B |
| système reproducteur | 21,6 | 18,7 |
| système digestif | 67,3 | 58,3 |
| peau et musculature | 11,1 | 23,0 |
| antérieure | 26,9 | 22,2 |
| milieu | 41,7 | 36,9 |
| postérieure | 31,4 | 41,0 |

8° STRINGER A. et C.H. LYONS (1977)

Milieu : pommeraie

Taxons observés : L : L. terrestris
A : Allolobophora long
L. castaneus,
L. rubellus,
A.chlorotica,
A.tuberculata,A.ro
et autres

Traitements : (aucun traitement aux bénomyl et carbendazime ne fut effectué auparavant)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | bénomyl + carbendazime | 2240 l/ha | 0,025 % | 5,04 kg/ha |
| $T_2$ | " | 560 l/ha | 0,10 % | 5,04 kg/ha |
| $T_3$ | " | 560 l/ha | 0,025 % | 1,26 kg/ha |
| $T_4$ | " | 45 l/ha | 0,125 % | 0,50 kg/ha |

$T_1$, $T_2$, $T_3$, $T_4$ : chacun en 9 pulvérisations, de fin avril à mi-juillet.

Observations :

| | Toutes les espèces | | | | L | | A | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | avant | | 8 mois après | | avant | 8 m.après | avant | 8 m.après |
| | nb/m2 | biomasse g/m2 | nb/m2 | biomasse g/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 |
| $T_1$ | 131,5 | 79,7 | 53,0 | 56,4 | 17,3 | 9,9 | 2,0 | 14,8 |
| $T_2$ | 182,2 | 76,8 | 72,3 | 94,1 | 13,4 | 8,0 | 0 | 14,8 |
| $T_3$ | 143,0 | 103,8 | 129,9 | 109,4 | 10,7 | 15,7 | 0 | 14,1 |
| $T_4$ | 175,9 | 109,4 | 202,5 | 190,7 | 17,9 | 26,3 | 4,1 | 19,0 |

(remarque : A est en diapause de mai à septembre-octobre)

DL 50 pour L. terrestris : 218 g/ha de bénomyl + carbendazime

DL 50 pour toutes les espèces : 989 g/ha de bénomyl + carbendazime.

9° STRINGER A. et M.A. WRIGHT (1973) in A.STRINGER et C.H. LYONS (1974)

Milieu : verger

Traitement : pulvérisation de bénomyl et de thiophanate méthyl

Taxons observés : x = Lombriciens
y = L. terrestris

Observations :

peuplement de lombriciens très réduit
L.terrestris est pratiquement éliminé

10° STRINGER A. et C.H. LYONS (1974)

Milieu : verger

Traitements : bénomyl en poudre soluble à 50 % à la dose de 0,28 kg/ha

$Aa_1$ : pulvérisation sur les arbres 1120 l/ha
en 1979 : 5 pulvérisations, soit 1,40 kg/ha de bénomyl.
en 1971 et 1972 : 7 pulvérisations par an (fin avril à mi-juillet, soit 1,96 kg/ha de bénomyl.

$Aa_2$ : pulvérisation en 1970 seulement, soit 1,40 kg/ha.

$Aa_3$ : pulvérisation de thiophanate méthyl : 0,78 kg/ha, poudre soluble à 50 %

T : témoin

$Bb_1$ : pas de traitement au bénomyl avant 1972. Avant 1972 : 13 pulvérisations de 562 l/ha (1 tous les 10 j. de mi-avril à août, soit 3,64 kg/ha.

$Bb_2$ : traitement routinier de doguadine et dinocap seulement.

T : témoin

Taxons observés :

$\alpha$ = L. terrestris
$\beta$ = L. castaneus
$\gamma$ = L. festivus
$\delta$ = L. rubellus
$\varepsilon$ = A. caliginosa
$\varphi$ = A. chlorotica
$\psi$ = A. longa
$\pi$ = A. rosea
$\rho$ = A. tuberculata
$\omega$ = Octolasium cyaneum
$\lambda$ = Lumbricus immatures
$\mu$ = Allolobophora immatures

.../...

Observations :

A

| | avril 1972 | | | novembre 1972 | | | décembre 1972 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $Aa_1$ | $Aa_2$ | $Aa_3$ | $Aa_1$ | $Aa_2$ | $Aa_3$ | T | T |
| | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | nb/m2 | biomasse g/m2 |
| α | 0 | 7 | 0 | 0 | 26,08 | 0 | 42,30 | 48,06 |
| β | 0,76 | 2,28 | 0 | 0,48 | 1,80 | 0 | 3,29 | 0,64 |
| γ | 0 | 0,60 | 0,36 | 0,36 | 0,56 | 0 | 0,57 | 0,55 |
| δ | 1,68 | 3,56 | 0,60 | 0 | 2,96 | 0 | 3,23 | 1,63 |
| λ | 1,20 | 2,12 | 0 | 0,55 | 29,64 | 0,19 | 27,30 | 9,33 |
| ε | 1,96 | 5,44 | 0 | 0,76 | 8,04 | 0,18 | 5,13 | 2,21 |
| φ | 0 | 0,76 | 0 | 0 | 0,18 | 0 | 3,24 | 0,79 |
| ψ | 1,74 | 3,44 | 0,60 | 1,42 | 7,00 | 1,32 | 7,33 | 12,72 |
| π | 1,64 | 2,48 | 1,96 | 1,72 | 3,92 | 0,18 | 1,55 | 0,41 |
| ρ | 0,76 | 17,24 | 0 | 0,70 | 24,40 | 0,26 | 20,52 | 17,52 |
| μ | 13,00 | 49,84 | 1,96 | 8,22 | 96,00 | 2,04 | 47,49 | 19,80 |
| Total | 22,74 | 94,76 | 5,48 | 14,21 | 200,58 | 4,17 | 161,85 | 113,66 |

γ, φ : différences non significatives entre $Aa_1$ et $Aa_2$

λ, μ, ψ : accroissement significatif entre avril et novembre

B

| | Nombre moyen de vers/m2 | | Biomasse g/m2 | |
|---|---|---|---|---|
| | $Bb_1$ | $Bb_2$ | $Bb_1$ | $Bb_2$ |
| α | 18,32 | 134,36 | 12,752 | 288,456 |
| δ | 0 | 0,43 | 0 | 0,340 |
| ε | 0,96 | 11,84 | 0,468 | 5,956 |
| φ | 2,20 | 87,00 | 0,356 | 15,728 |
| ψ | 4,76 | 17,64 | 1,952 | 5,108 |
| π | 2,56 | 18,80 | 0,680 | 3,764 |
| ω | 0,60 | 2,32 | 0,756 | 3,500 |
| Total | 29,40 | 272,39 | 16,964 | 322,852 |

δ : différences non significatives entre $Bb_1$ et $Bb_2$.

10° STRINGER A. (1976)

Observations : le bénomyl n'inhibe pas la cholinestérase. Mais, en se dégradant, il produit de petites quantités de butyl isocyanate ($C_4H_9NCO$) qui est anticholinestérasique.

LEROUX (Phytopharmacie, Versailles ; communication personnelle) indique que cette dernière substance fige les microtubules cellulaires. Cette action s'oppose à la mitose et au fonctionnement des épithéliums intestinaux.

11° TOMLIN et GORE (1974)

Milieu : pré

Traitement : poudre mouillable à 50 % ; 7,8 kg de m.a./ha appliqué sur le sol le 11 juin, 24-26°C ; humidité de 70 à 80 % ; l'herbe étant tondue à 5 - 7,5 cm et ramassée.

Taxons observés : A. caliginosa L. terrestris et A. chlorotica

Observation : après 21 jours : peuplement réduit numériquement de 94,6 % par rapport au témoin.

12° WALLACE E.G.R. (1976)

Milieu : prés, terre argilo-limoneuse

Traitements : (mi janvier en Nouvelle Zélande).
A : poudre soluble à 50 % de bénomyl 0,15 kg de m.a./ha.
B : poudre soluble à 50 % de carbendazime 0,15 kg m.a./ha.
C : produit à 40 % de thiophanate méthyl 0,14 kg m.a./ha.

Taxon étudié : lombriciens

Observation : taille moyenne des prélevats 53 jours après le traitement :

A = 15,1 B = 14,6

C = 14,6 témoin = 14,0

13° WINSOR (1973)

Milieu : verger sans pelouse

Traitement : auparavant, traitement avec la simazine et le paraquat ; puis, pendant 2 ans : 1,120 kg de bénomyl par hectare pulvérisé 5 fois par an.

Taxon étudié : lombriciens

Observation : les nombreux vers disparaissent pratiquement ainsi que leurs turricules.

14° WRIGHT M.A. et A. STRINGER (1973)

α Taxons étudiés : x = lombriciens
y = L. terrestris

1 - Milieu : pommeraies

Observations : population de x très réduite ; y a pratiquement disparu.

Traitement : bénomyl ou thiophanate méthyl

2 - Milieu : laboratoire

Traitement : feuilles pulvérisées avec une solution d'une poudre mouillable à 50 % de bénomyl, carbendazime ou thiophanate méthyl.

Observation : x ne se nourrit pas des feuilles.

3 - Milieu : laboratoire

Traitement : vers mis en contact avec des suspensions dans l'eau de bénomyl, carbendazime ou thiophanate méthyl.

Observation : les vers meurent.

Traitement : immersion pendant 1 mn dans une suspension dans l'eau à 5 % de bénomyl, carbendazime ou thiophanate méthyl.

Observation : les vers meurent en 14 jours

4 - Milieu : pots de terre

Traitement : la terre dans laquelle vivent les vers est détrempée avec une suspension dans l'eau de bénomyl, carbendazime ou thiophanate méthyl qui apporte 7,8 kg de m.a. par ha.

Observation : 100 % de mortalité en 18 jours

5 - Milieu : laboratoire

Traitement : 7 µg/ml de bénomyl ($T_1$), de carbendazime ($T_2$) ou de thiophanate méthyl ($T_3$) (correspond à 7 ppm).

Observations : inhibition de la cholinestérase du ganglion de *L. terrestris* de l'ordre de 50 % par le bénomyl ($T_1$). $T_2$ et $T_3$ : pas d'effet.

β Taxons étudiés : lombriciens en général

1 - Milieu : boîtes

Traitement : *L. terrestris* adultes prélevés dans la nature, élevés en boîtes au moins une semaine, nourris normalement. Mis à jeûner pendant 5 jours. (1 ver par boîte en polyéthylène fermée, dans 2 mm d'eau. La nourriture est placée sur un morceau de polyéthylène de 4 mm d'épaisseur. Les boîtes sont lavées chaque jour à l'eau du robinet, puis placées dans le noir à 15°C. Nourriture : feuilles de pommier prises avant la chute automnale, séchées et congelées ; trempées dans l'eau pendant 2 jours avant l'usage ; on découpe des disques de 1 cm2 entre entre les grosses nervures ; 5 disques par ver.)Le bénomyl ou le thiophanate méthyl (formulation à 50 %), ou encore le carbobendazime (42,3 % de m.a.) sont pulvérisés avec de l'air sous pression sur les disques.

Observations :

Poids moyen de disques de feuilles mangés par 5 vers en 2 jours, en mg de poids sec : voir tableau page suivante ..

| Dose : niveau de dépôt | Bénomyl | Carbendazime | Thiophanate méthyl |
|---|---|---|---|
| T = 0 ug/cm2 | 39 à 40 | 39 à 40 | 39 à 40 |
| - de 0,4 ug/cm2 | 39 | 39 | 39 |
| 0,43 ug/cm2 x | 35,4 | 38,1 | 38,7 |
| 0,87 ug/cm2 | 28,6 | 29,7 | 26,8 |
| 1,75 ug/cm2 xx | 0 | 0 | 0 |
| 3,5 ug/cm2 | 0 | 0 | 0 |

x pas d'effet significatif
xx correspond aux doses après une pulvérisation en pommeraie.

2 - Milieu : pots de terre

Traitement : 10 vers par pot (L. terrestris). Suspensions de bénomyl versées sur la terre, correspondant à 3 doses au terrain.

Observations :

| | Témoin | 1,55 kg/ha | 7,75 kg/ha | 38,75 kg/ha |
|---|---|---|---|---|
| Survie après 14 j | 100 % | 40 % | 0 % | 0 % |
| Morts à la surfa- du sol | | 20 % le 8è j. | 20 % le 5è j. + 30 % le 8è j. | 20 % le 5è j. + 30 % le 8è j. |

Conclusion : empoisonnement par contact (probable).

3 - Milieu : boîtes

Traitement : L.terrestris est plongé 1 mn dans une suspension de bénomyl puis placé dans les boîtes décrites en β milieu 1 après lavage : 5 vers par boîte.

Observations : le 5è jour, tous les vers sont en bon état ; on les nourrit ; jusqu'au 9è jour leur état est satisfaisant.
suspension à 0,00005 % ; 0,0005 % et 0,005 % : L. terrestris commence à se nourrir le 14è jour ; se nourrit normalement le 21è jour.
suspension à 0,05 % : aucun ver ne se nourrit ; 15è jour : 1 mort ; 27è jour : 100 % morts.
suspension à 0,5 % : 9è jour : paralysie de la partie antérieure ; 13è jour : 100 % morts.

Conclusion : en-dessous de 0,01 % L. terrestris survit ;
au-dessus de 0,1 % L. terrestris meurt.

4 - Milieu : pommeraie

Taxons étudiés : x = L. terrestris
y = L. rubellus, A. longa, A. chlorotica, A. caliginosa.

| Traitements ↓ → | Observations → | Nb de vers/m2 | |
|---|---|---|---|
| 1970 | 1971 | α | β |
| bénomyl ) 5 pulvérisa- | captan + 1,00 kg/ha<br>binapacryl 0,56 kg/ha | 7 | 96 |
| bénomyl ) tions de | bénomyl 0,28 kg/ha | 0 | 24,64 |
| bénomyl ) 0,28 kg/ha | thiophanate méthyl 0,78 kg/ha | 0 | 6,36 |
| | 7 pulvérisations | | |

*Tests effectués dans l'artisol*

(J'ai réalisé ces essais avec E. fetida sur une durée de 7 jours).

Pour désigner les concentrations en matière active de pesticides en ppm de poids sec, j'utilise ppms. ppmh signifie ppm de poids humide ou vif. Dans l'artisol, la distinction entre ces deux mesures de concentration s'impose compte tenu du fait que la pâte de lévilite contient 250 % de son poids sec en eau.

$$1 \text{ ppms} = \frac{1}{3,5} \text{ ppmh}$$

Le modèle log de la concentration (en ppms)-probit de la mortalité corrigée me permet d'interpréter les données que j'obtiens. A partir de l'équation de la droite de régression ( X = log de la concentration en ppms ; Y = probit de la mortalité corrigée), je calcule la concentration qui correspond à une mortalité corrigée de 50 % au bout de 7 jours , ou concentration létale 50 ($CL50_{7j}$) et la plus petite concentration ayant un effet sensible (ppcs) au seuil de 5 %.

Le coefficient de corrélation entre les données r doit être aussi proche que possible de 1 en valeur absolue pour que l'interprétation log-probit ait un sens. L'usage du coefficient de Fisher-Snédécor permet de préciser le niveau de confiance de l'interprétation (voir annexe n°

Pour chacun des 17 produits testés, le nombre de survivants indiqués pour le témoin est la moyennes de 20 mesures effectuées sur 20 témoins égales à 19 pour 13 d'entre elles, à 18 pour 3 et à 20 pour les 4 autres.

...

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 20 | 18 | 17 | 13 | 3 | 2 | 0 |
| Mortalité corrigée en % | 0 | 5,26 | 10,52 | 31,57 | 84,21 | 81,47 | 100 |

| | |
|---|---|
| Coefficient de corrélation : $r = -0,826$ | Coefficient F de Snédécor-Fisher<br>$F = r \frac{(n-2)}{(1-r^2} = t$ * où n = nombre de concentrations : 6 ici<br>$F = 2,930$ n-2 = nombre de ddl : 4 (ici) |
| équation de la droite de régression :<br>$Y = -2,326 X + 9,869$<br>X = log de la concentration ppmq<br>Y = probit de la mortalité corrigée | $CL\ 50_{7j} = 123,9$ ppms 124 ppms ≃ 35,4 ppmh<br>PPCS = 24,3 ppms 24 ppms ≃ 6,8 ppmh |

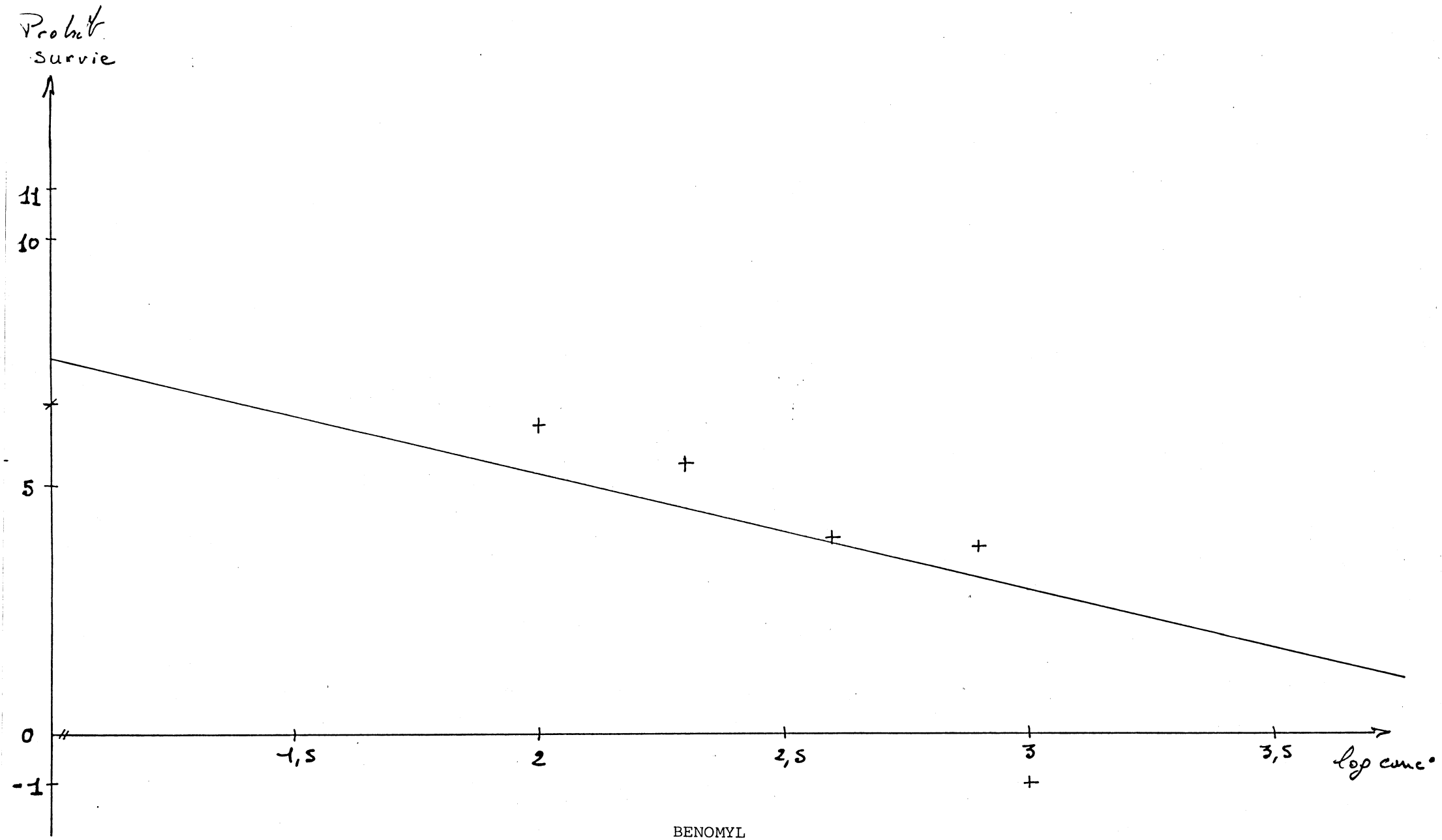
* La lecture de cette valeur dans la table de distribution de t permet de connaître le seuil auquel l'interprétation log-probit est significative.

Pour satisfaire aux conditions définies par Lowy, nous devons posséder une concentration à effet faible ou nul ; ici, nous ne disposons que d'une concentration qui a donné 5,26 % de mortalité corrigée.

Le coefficient de corrélation des points associés aux mesures est un peu faible mais permet tout de même une interprétation significative au seuil de 5 %.

La valeur de la CL 50 obtenue est nettement supérieure à celle trouvée par Fayolle (1979) (35,8 ppmh contre 8 ppm sur A. chlorotica).

Ce premier essai est encourageant. Il serait nécessaire de le compléter par la mesure de la mortalité à 5 et 300 ppms et le vérifier pour au moins une ou deux répétitions.




BENOMYL

4 7bis

1.2 - Le bromophos

Etude bibliographique : néant

Tests effectués dans l'artisol.

J'ai utilisé ce produit pour faire deux mesures de mortalité aux concentrations 10, 100 et 1000 ppms à un mois d'intervalle.

Les nombres de survivants trouvés aux deux dates sont très voisins et tendent à prouver le caractère reproductible de mes mesures.

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 200 | 400 | 600 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 20 19 moyenne 19 | 20 17 moyenne 18 | 15 | 10 | 4 | 0 0 moyenne 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 5,26 | 21,5 | 47,36 | 78,94 | 100 |
| r = - 0,965<br>Y = - 4,39 X + 15,64 | F = t = 7,419 4 ddl<br>CL $50_{7j}$ = 263 ppms 75,14 ppmh<br>PPCS : 111,14 ppms 111 ppms 3,5ppmh | | | | | | |

Je dispose de 6 mesures pour lesquelles, comme dans le cas du bénomyl, plus de 50 % des pots testés présentent une réaction à la présence de polluant. Ceci prouve que le bromophos a un effet significatif sur la mortalité de E. fetida dans ces conditions d'élevage. De même, la mortalité induite croît avec la concentration en pesticide.

r indique une bonne corrélation entre nos données et F précise que l'interprétation log-probit est significative au seuil de 0,5 %.

Il serait souhaitable de compléter ces mesures par celle de l'effet létal à 800 ppm.

## 1.3 - Le carbaryl

Etude bibliographique

1° ANDERLAND E. et H. ASPOCK in E. KLEIN (I977).

Milieu : laboratoire

Taxon étudié : lombriciens

Traitement : suspension de carbaryl à 1 %

Observation : la suspension est toxique.

2° ASPOCK H. et E. ANDERLAND in C.A EDWARDS (I965).

Milieu : laboratoire

Taxon étudié : lombriciens

Traitement : carbaryl qui tombe sur le sol (peut-être après pulvérisation)

Observation : apparition d'abcès chez les vers ; forte réduction du nombre de vers.

3° ATLAVINYTE O. (1975)

Milieu : pots de 5 l contenant 4 à 5 kg de terre

. terreau + podzol + 50 g de paille
ou terreau + podzol + sable + 50 g de paille
ou terreau + sable + soddy podzolic gley (gazonné)

Taxon étudié : A. caliginosa

Traitement : soupoudrage de carbaryl sur toute la surface du sol ; ce qui donne des concentrations de 1, 5, 10 et 20 ppm.

Observation : réduction de la destruction de la paille de 6,5 à 17,6 %

4° HEUGENS A. (1969)

Milieu : pots d'azalées de 0,75 l, avec une litière de conifères

Taxon observé : Lombriciens

Traitement : 2 applications de carbaryl à 50 % en 1 mois et demi déposent 20 kg de produit par hectare.

Observation : nombre moyen d'individus dans 0,1 l de terre :
témoin : 3,19 carbaryl : 0,88

5° ROSCOC RANDELL, J.D. BUTLER et T.D. HUGHES (1972)

Milieu : champ

Taxon étudié : lombriciens

Traitement : depuis 1967 : 3 applications par an de 0,98 g/m2 de carbaryl

Observation : sur les 10 premiers centimètres du sol :

accumulation de débris organiques (en mm) : 1969 : 1,3
1970 : 0,3

nombre de lombriciens : 1969 : jeunes = 92 adultes = 4
1970 : jeunes = 113 adultes = 2

Nombre de galeries : 1969 : 14
1970 : 20

6° THOMSON A.R. (1970)

Milieux : prés, terre argilo-sableuse

Taxon étudié : lombriciens

Traitement : application sur le sol tondu et ratissé de kg/ha de poudre de carbaryl.

Observation : 3 semaines plus tard, le peuplement est réduit de 59,8 % et sa biomasse de 68,3 par rapport au témoin.

7° THOMSON et SANS (1973) in TOMLIN A.D. et F.L. GORE (1974)

Milieu : terrain

Taxon observé : lombriciens

Traitement : carbaryl

Observation : teneur des vers en carbaryl : après 3 semaines : traces
après 1 an : aucune trace

8° VORONOVA L.D. (1969)

Milieu : Taïga, arbres âgés de 17 ans, couverture herbacée dense et variée.

Taxon observé : A. handlirschi, A. diplotetratheca, A. baschkinica, Dendrobaena octaedra, Eisenia nordenshiddi

Traitement : application d'une suspension à 1 % en mai qui apporte 5 kg/ha.

Observations : nombre moyen de vers par m2 :

après 2-3 semaines : 25 ± 4 témoin 62 ± 11
2 mois : 48 ± 6 témoin 112 ±16
1 an et 1 mois : 28 ± 8 témoin 86 ± 18
1 an et 2 mois : 27 ± 8 témoin 78 ± 10

Le carbaryl est assez stable : ses résidus sont trouvés dans tous les échantillons de sol, litières, herbes et lombriciens.

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 100 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 0 | 14 | 3 | 11 | 8 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 26,31 | 63 ,15 | 42,10 | 36,84 | 100 | 100 |

r = 0,893 F = - 3,448 3 ddl

Y = -3,537 X + 8,735 CL $50_{7j}$ = 11,37 ppms 11 ppms = 3,14 ppmh

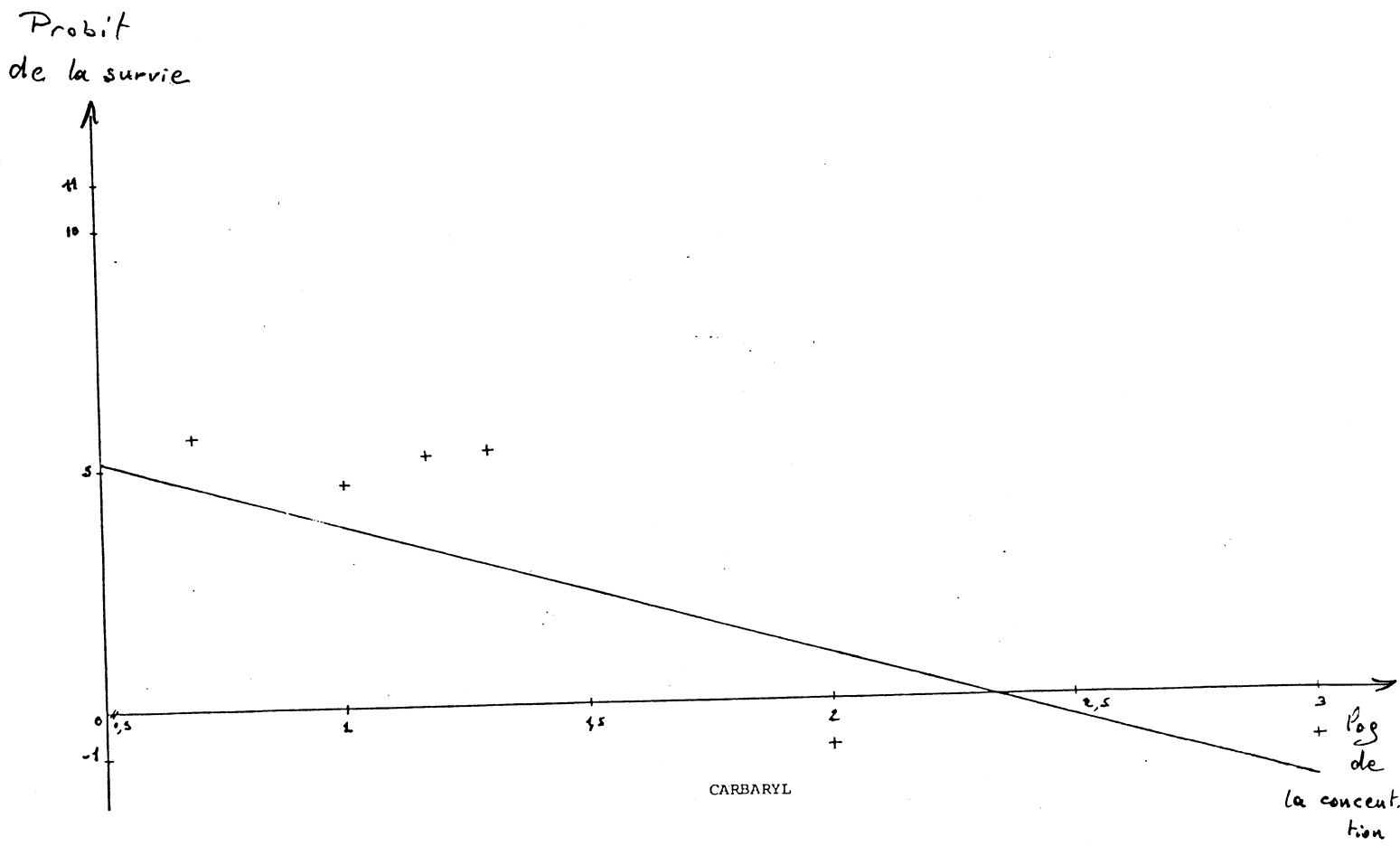
PPCS = 3,9 ppms 4 ppms = 1,14 ppmh

Je n'ai pas obtenu de concentration à effet nul ou faible pour ce produit malgré une mesure à 5 ppms. La mortalité obtenue à 10 ppms n'est pas en accord avec l'augmentation de la réponse avec l'accroissement de la concentration.

Ces deux faits ne sont pas propices à l'utilisation du modèle log-probit. L'usage de ce modèle, en ignorant la mesure faite à 1000 ppms pour ne pas dévier la droite de régression par une trop forte proportion de concentrations à effet total ou nul, fournit des valeurs significatives au seuil de 5 %.

Il est difficile d'expliquer la mortalité trouvée à 10 ppms. On peut penser à une erreur de manipulation, un milieu un peu trop compacté, trop ou trop peu d'humidité, une mauvaise aération, des animaux moins résistants ou qui se sont trouvés proches de ceux qui mouraient, ...

Afin de compléter cet essai, il serait nécessaire de refaire la mesure à 10 ppms, au moins 2 fois, pour connaître la mortalité à retenir à cette concentration, de rechercher une concentration à effet nul ou faible en observant la réponse à 2,5 ppms et d'effectuer deux mesures (40 et 60 ppms ou 35 et 70 ppms- entre 20 et 100 ppms.




CARBARYL

## 1.4 - Le carbendazime

*Etude bibliographique*

1° COOK M.E. et A.A.J. SWAIT (1975)

Milieu : pommeraie sandy loam

Taxon observé : lombriciens

Traitement : les allées plantées d'arbres sont traitées avec une poudre soluble à 0,025 % de carbendazime. 3 traitements l'été

Observation : litière résiduelle en mars suivant : 96,1 g de matière sèche par m2 ; témoin : 16,9 g/m2.

Milieu : serres

Observations : le carbendazime est directement toxique pour les lombriciens.

2° WRIGHT M.A (I97I) in COOK M.E et A.A.J SWAIT (I975)

Observations : le carbendazime ralentit la dégradation des feuilles à cause de son effet néfaste soit sur les lombriciens, soit sur les champignons et bactéries concernées.

3° CROSSE J.E. (1974)

Milieu : serres

Taxon observé : L. terrestris

Traitement : pulvérisation d'un produit à 0,025 % de m.a. sur les feuilles ou le sol.

Observations : le carbendazime est toxique pour L.terrestris.

4° EDWARDS C.A., 1973

Observations : le carbaryl ne tue pas les lombriciens.

5° PRASAD R. et R.P. MOODY (1974)

voir bénomyl, auteur 6°.

6° WRIGHT et STRINGER (1973)

voir bénomyl, 14° auteur α milieux 2,3,4 et 5
β milieu 1.

7° STRINGER et LYONS (1974)

Observations : le carbendazime est un produit de dégradation commun au bénomyl et au thiophanate méthyl

8° STRINGER et LYON (1977)

voir Bénomyl, 8° auteur.

9° WALLACE E.G.R. (1976)

Milieu : pré, terre argilo-limoneuse.

Traitement : poudre soluble à 50 %

Observation : taille des prélevats 53 après l'application 14,6
témoin : 14.

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 5 | 10 | 100 | 1000 | 1500 | 2000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 17 | 20 | 18 | 12 | 9 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 10,52 | 0 | 5,26 | 36,84 | 52,63 | 100 |

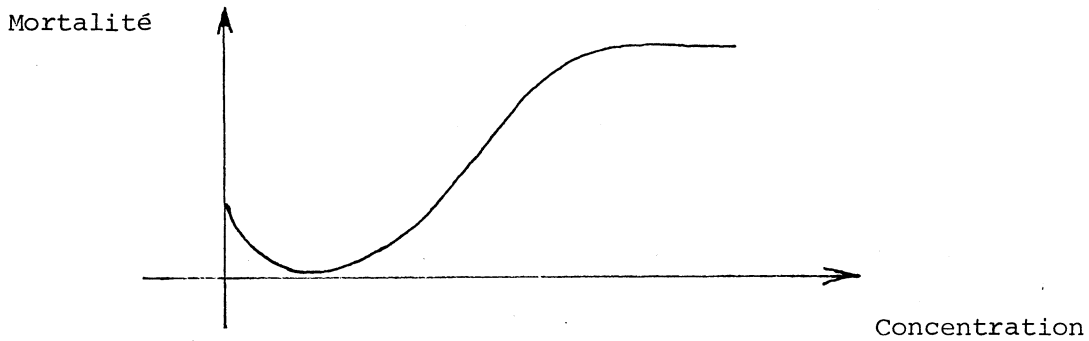
r = - 0,9124 F = - 3,8634 3 ddl

Y = - 3,345 X + 14,125 CL $50_{7j}$ = 534,6 ppms 536 ppms = 152,8ppmh

PPCS = 172,3 ppms = 172 ppms = 49,1 ppmh

Par curiosité, j'ai effectué une mesure à 5 ppms. Il est à remarquer que la mortalité est supérieure pour cette concentration à celle obtenue avec la concentration double. Pour expliquer ce fait, en plus des raisons invoquées au sujet du carbaryl, il faut signaler qu'une "activation de la

de la toxicité" s'observe pour certaines substances aux faibles concentrations (Leroux, Phytopharmacie, Versailles, comm.pers.).




Je n'utilise pas cette mesure dans l'interprétation log-probit qui s'appuie donc sur 5 mesures dont une à effet nul et une à effet total.

Le coefficient de Snédécor-Fisher indique que l'interprétation est significative au seuil de 5 %.

Il sera bon de poursuivre l'essai en refaisant les mesures à 5 et 10 ppms et en observant la mortalité à 1650 et 1800 ppms, voire à 2,5 et 7,5 ppms.

## 1.5 - Dazomet

*Tests réalisés dans l'artisol.*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 1000 | 1500 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 20 | 16 | 12 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 15,78 | 36,84 | 63,15 | 100 | 100 | 100 |

r = - 0,906

Y = - 3,313 X + 13,868

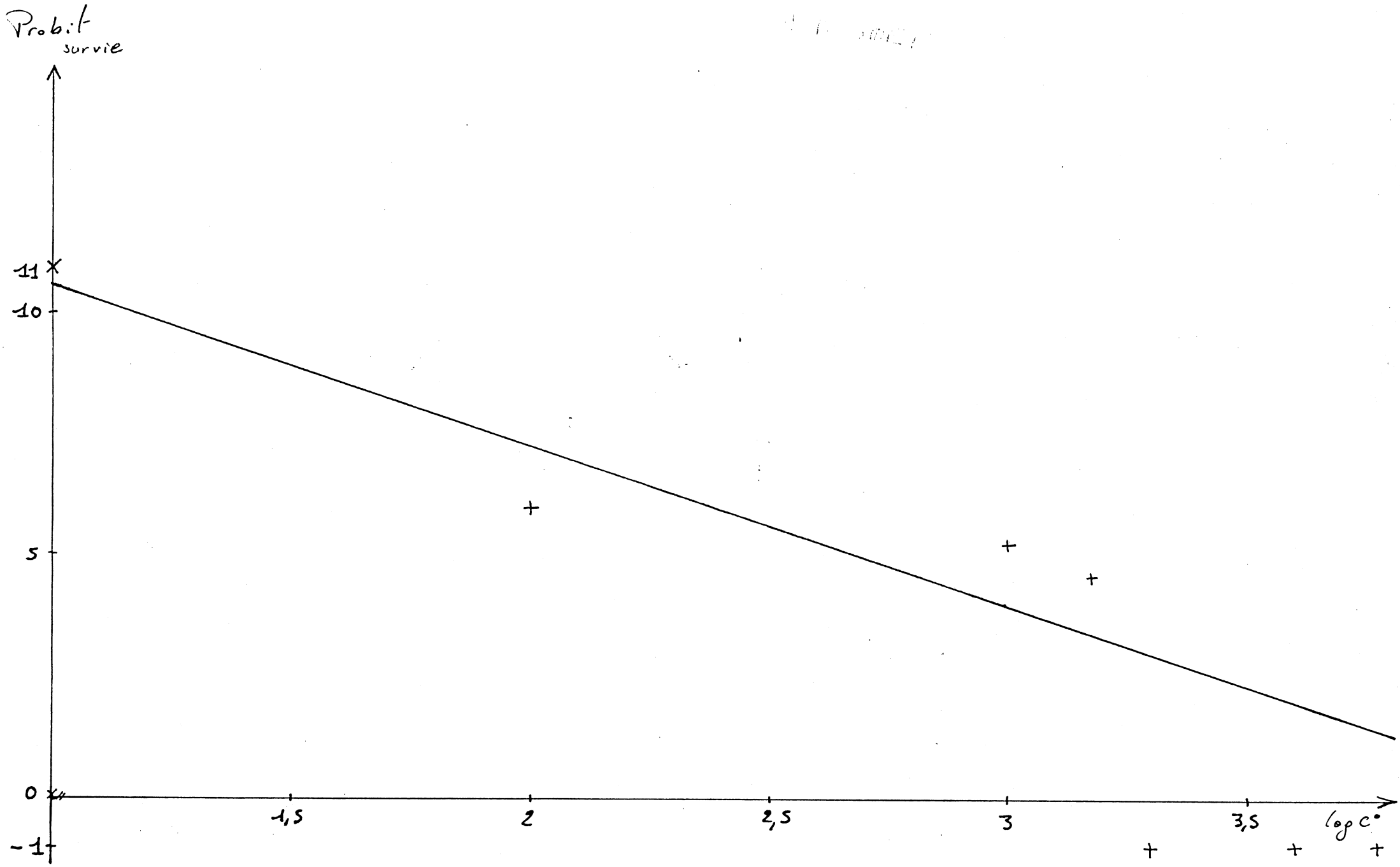
F = - 3,715 3 ddl

$CL50_{7j}$ = 475,03 ppms = 475 ppms = 135,71 ppmh

PPCS = 151,45 ppms = 151 ppms = 43,14 ppmh

J'exclus les valeurs obtenues avec 4000 et 6000 ppms. L'interprétation statistique des 5 autres mesures permet un calcul de la CL 50 et de la PPCS significatives au seuil de 5 %.

Afin de compléter cet essai, il serait utile d'effectuer quelques mesures à des concentrations intermédiaires : 50, 500, 1250 et 1750 ppms.




DAZOMET

5644

## 1.6 - Le diquat

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 200 | 400 | 600 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 19 | 18 | 15 | 10 | 3 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 5,26 | 21,05 | 47,36 | 84,21 | 100 |

r = - 0,9685

Y = - 4,4535 X + 15,694

F = - 7,787 4 ddl

CL $50_{7j}$ = 257,78 ppms = 258 ppms =73,71 ppmh

PPCS = 109,75 ppms = 110 ppms = 31,42 ppmh

Bien qu'il ne comporte que 6 mesures et le témoin, ce test satisfait pleinement aux conditions établies par Lowy.

Ainsi les valeurs de la CL 50 et de la PPCS sont-elles obtenues avec 0,5 % d'incertitude.

## 1.7 - Endosulfan

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 100 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 20 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 100 | 84,21 | 73,68 | 100 | 100 |

r = - 0,730

Y = - 6,501 X + 12,103

F = - 1,850 3 ddl

$CL50_{7j}$ = 12,37 ppms = 12 ppms = 3,42 ppmh

PPCS = 6,9 ppms = 7 ppms = 2 ppmh

Ces résultats ne correspondent pas à notre attente. La mortalité obtenue à 10 ppms semble exagérée. Sans pouvoir mieux la justifier que dans le cas du carbaryl (à 10 ppms), je dois rappeler que les essais sont réalisés en deux temps : mesures à 10, 100 et 1000 ppms, puis mesures complémentaires déduites des premières. J'ignore les facteurs qui atténuent le caractère reproductible de ce test.

Il n'est pas étonnant de constater une indétermination de 20 % sur le calcul des concentrations létales 50 et 5 % (PPCS).

## 1.8 - Lindane

*Etude bibliographique*

1° BAKER W.L. (I946) in HOY J.M. (I955)

Milieu : pots de 10 cm ; terre semée de ray gras depuis 1 semaine.

Taxon observé : L. rubellus et A. caliginosa

Traitement : 6 vers par pot traités avec une poudre soluble

A : terre à faible teneur en matière organique
à 10 % de lindane HCH ; dose : 2,24 kg/ha de produit actif
B : terre à teneur moyenne en matière organique
à 10 % de lindane HCH ; dose : a - 2,24 kg/ha b - 11,208 kg/ha
à 50 % de lindane γ HCH ; dose : c - 2,24 kg/ha d - 11,208 kg/ha
C : terre à teneur moyenne en matière organique ; poudre soluble à
10 % HCH ; dose : a - 14 kg/ha b - 16,81 kg/ha c - 19,61/ha d - 22,41 kg/l
50 % γ HCH ; dose : e - 16,81 kg/ f - 22,41 kg/ha g - 33,624/kg/ h - 44,83 kg/l

Observations :

A : après 8 semaines : nombre de vers par pot : 0
témoin : 5,6 ± 0,2

B : après 8 semaines : nombre de vers par pot : a = 5,8 b = 2,8
c = 5,6 d = 5,4
témoin = 5,4

C : après 8 semaines : nombre de vers par pot : a = 5,5 b = 6,0
c = 5,8 d = 5,8
e = 5,8 f = 6,0
g = 5,0 h = 5,0
témoin = 5,6

Milieu : champ

Taxon observé : lombriciens

Traitement : doses de m.a. appliquées

| | | | |
|---|---|---|---|
| HCH : | a - 67,24 kg/ha | b = 33,62 kg/ha | c = 2,24 kg/ha |
| γ HCH : | d - 67,24 kg/ha | e = 33,62 kg/ha | f = 2,24 kg/ha |

Observations : peuplement

après 23 semaines : a = 0,9 b = 1,0 c = 2,7 d = 2,5
e = 2,5 f = 3,3 témoin : 3,8

après 83 semaines : a = 1,3 b = 1,7 c = 3,0 d = 3,1
e = 2,6 f = 3,9 témoin : 4,9

2° FAYOLLE L. (I979)

Milieu : boîtes contenant un substrat très pauvre en matière organique (2/3 sol limono-argileux d'un horizon B + 1/3 de sable fin). pH 7 ; température : 15°C.

Traitement : les vers sont placés au moins 3 jours avant l'expérience dans le milieu. Chaque boîte reçoit 1 ver (de 2 à 5 g) qui s'est montré consommateur de litière (son et foin). Litière : 220 g de son et foin sec contaminé par 180 ml de solution (eau + lindane).

Observations :

| Apport de lindane | | Date du contrôle | | | | 7ème jour | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| g de m.a./ha | µg/ver | 3ème jour | | 5ème jour | | (a) en % | (b) en % |
| | | (a) | (b) | (a) | (b) | | |
| 0 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 100 | 0 |
| 22,2 | 11,1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 100 | 0 |
| 66,7 | 33,3 | 9 | 0 | 10 | 0 | 100 | 0 |
| 200,0 | 100,0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 100 | 0 |
| 600,0 | 300,0 | 5 | 0 | 6 | 1 | 60 | 10 |
| 1 800,0 | 900,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 400,0 | 2 700,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 200,0 | 8 100,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Résultats de l'essai litière individuel sur *L. terrestris*. On désigne par (a) le nombre d'individus ayant consommé la totalité de la litière et par (b) le nombre de morts.

3° JERSY J. UPA (1958)

Milieu : champ de pommes de terre

Taxon observé : lombriciens

Traitement : poudre à 12 % de HCH étroitement mêlée aux 10 premiers cm de sol, en mai.
doses : a = 1,008 kg/ha b = 2,016 kg/ha c = 2,88 kg/ha d = 5,76 kg/ha

Observations : après 18 mois, nombre de vers par m2

a = 21,2 b = 25,8 c = 26,1 d = 14,6 témoin = 10,0

concentration optimale calculée de HCH : 3,103 kg/ha

4° LIPA J. (I958) in S.P DAVEY (I963)

Milieu : champs (pommes de terre, betteraves sucrières)

Taxon observé : lombriciens

Traitement : poudre à 12 %

a = 1,1208 kg/ha b = 2,241 kg/ha
c = 3,362 kg/ha d = 6,725 kg/ha

Observations :

a, b, c : 2 fois plus de vers que le témoin
d : même nombre de vers que le témoin.

5° HOPKINS A.R et KIRK (1957)

Milieu : pots en céramique fermés et contenant du terreau sabloneux

Taxon observé : Eisenia fetida

Traitement : poudre à 3 % de lindane mêlée à la terre ; la dose correspond à 5,604 kg de m.a. répartis dans les 15 premiers cm d'un hectare.

Observation : pas de mortalité notable.

Traitement : poudre à 3% mêlée à la terre

doses : 35,867 71,735 143,470 kg/ha
correspondant au mélange du produit dans les 15 premiers cm de terre

Observation : la DL 50 à 96 h est de 67,251 kg/ha

6° HOY J.M. (I955)

Milieu : pots de terre à faible teneur en matière organique

Taxons observés : L. rubellus et A. caliginosa

Traitement : lindane mêlé à la terre

a = 13,450 kg/ha b = 11,208 kg/ha c = 16,812 kg/ha
d = 22,417 kg/ha e = 33,625 kg/ha f = 44,834 kg/ha

Observations :

après 3 semaines : a et b : rien e et f : beaucoup plus de morts qu'en c et d

Milieu : pots p1 : terre à faible teneur en matière organique
p2 : terre à teneur moyenne en matière organique

Traitement : 23,538 kg/ha de lindane répartis dans du sable que l'on mêle à la terre/

Observations : p1 : mortalité significative
p2 : pas de mortalité significative

7° POLIVKA S.I (1953) in S.P. DAVEY (1963)

Taxon observé : lombriciens

Traitements : a = 0,280 kg/ha b = 13,450 kg/ha de HCH
pendant 3 et 6 ans N = 1,120 kg/ha c = 0,25 N
d = 2,5 N e = 5 N
f = 10 N

Observations : a et b : pas d'effet après 42 mois
c,d,e,f : pas d'effet

8° SATCHELL J.E (1955) in S.P DAVEY (1963)

Taxon observé : lombriciens

Traitements : a = sous forme de poudre de HCH
b = solution en suspension de HCH

Observation ; en général, a = pas d'effet
b = destruction plus rapide

9° SCHREAD (1952) in DAVEY (1963)

Milieu : terrain de golf

Taxon observé : Pheretima hupeiensis

Traitement : poudre mouillable de lindane ; dose : 22,417 kg/ha
24 et 48 h après : arrosage d'eau pure.

Observation : 1 an après ; P. hupeiensis n'est toujours pas actif sur ce terrain.

10° THOMPSON A.R. (1973)

Résidus de lindane dans les vers de terre.

| | Résidus en ppm | | facteur de concentration | références |
|---|---|---|---|---|
| | sol poids sec | vers poids frais | | |
| Lombriciens | 0,01 | 0,05 | 5,0 | Davis et Harrison, 1966 |
| Lombriciens | 0,08 * | 0,3 | 3,75 | Davis, 1968 |
| L. terrestris | 0,004 | 0,0064 | 1,6 | Wheatley et Hardman, 1968 |
| A. longa | 0,004 | 0,0060 | 1,5 | " |
| A. caliginosa | 0,004 | 0,011 | 2,7 | " |
| A. chlorotica | 0,004 | 0,013 | 3,3 | " |
| A. rosea | 0,004 | 0,017 | 4,2 | " |
| O. cyaneum | 0,004 | 0,0076 | 1,9 | " |

* concentration obtenue dans une pommeraie, après pulvérisation de 2,94 kg/ha de lindane.

11° WHEATLEY E.A. et J.A. HARDMAN (1968

Milieu : champ ; terre sombre légère; peu profonde et caillouteuse d'origine calcaire.

: L. terrestris 3,22 ± 0,2 g
: Allolobophora longa 1,05 ± 0,028 g
: A. caliginosa 1,05 ± 0,028 g

: A. rosea 0,17 ± 0,004 g
: Octolasium cyaneum 2 g

Traitement : usage excessif de pesticides organo-chlorés dont le lindane

Observations : teneur en lindane

| | Concentration en ppm | | Facteur de concentration (vers) | Teneur en lindane ug/ver |
|---|---|---|---|---|
| poids sec | sol | 0,004 | | |
| poids frais | | 0,0064 | 1,6 | 0,020 |
| | | 0,0060 | 1,5 | 0,006 |
| | | 0,0011 | 2,7 | 0,004 |
| | | 0,013 | 3,3 | 0,002 |
| | | 0,017 | 4,2 | 0,003 |
| | | 0,0076 | 1,9 | 0,015 |

*Tests réalisés dans l'artisol*

Cet essai a nécessité 11 mesures réalisées en 4 étapes en raison des quelques valeurs finalement jugées non significatives :

1ère étape : concentrations : 10, 100 et 1000 ppms,

2ème étape : concentrations : 200, 500 et 2000 ppms,
le calcul indique alors une CL 50 de 585 ppms.

3ème étape : compte tenu de l'importance du lindane dans mes essais, j'ai réalisé 2 autres mesures à titre de vérification aux concentrations de 400 et 585 ppms. Cette dernière en contradisant le calcul de la CL 50 a entraîné une 4è série de mesures.

4ème étape : concentrations : 600, 1000 et 2000 ppms.

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 200 | 400 | 500 | 585 | 600 | 1000 | 2000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 19 | 19 | 16 | 7 | 1 | 0 | 0 | 4 x<br>0 + | 1 x<br>0 + |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 0 | 15,78 | 63,15 | 94,73 | 100 | 100 | 100 | 100 |

r = - 0,966

Y = - 11,290 X + 33,13

F = 6,5331 3 ddl

$CL50_{7j}$ = 310,56 ppms = 311 ppms = 88,85 ppmh

PPCS = 222,05 ppms = 222 ppms = 63,48 ppmh

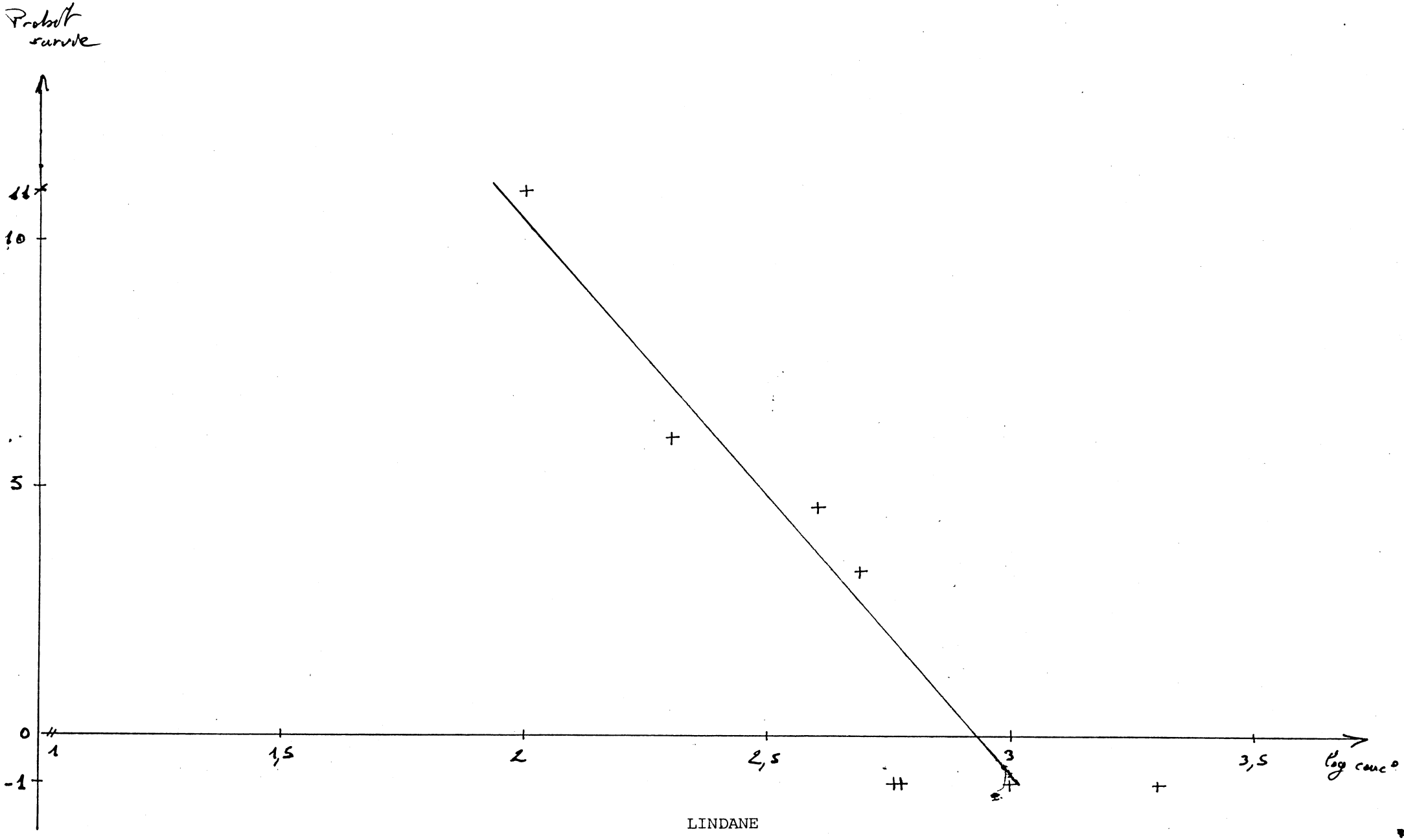
x 1è valeur obtenue + 2è valeur obtenue

Je n'utilise finalement que les valeurs correspondant aux concentrations 100, 200, 400, 500 et 585 ppms pour l'interprétation mathématique.

L'application du modèle log-probit est alors significatif au seuil de 1%. Elle s'appuie pourtant sur trop peu de valeurs et il serait nécessaire d'observer les mortalités à 150, 300 et 450 ppms et réaliser au moins un ou deux répétitions des mesures.

Comme dans le cas du bénomyl, la CL 50 trouvée ici est supérieure à celle obtenue par Fayolle (1979) sur A. chlorotica (88,85 ppmh contre 49,8 ppmh).

Remarque : plus loin, je présente une mesure du temps létal 50 effectuée pour le lindane à la concentration de 114 ppms. Cette valeur correspond à la CL 50 calculée à partir de l'ensemble des données, en raison de l'erreur initiale au niveau des critères de choix des données à soumettre au modèle log-probit.




LINDANE

## 1.9 - Méthiocarbe

*Etude bibliographique*

1° FAYOLLE L.

voir bénomyl ; CL 50 7j = 8,1 ppm
DL 50 7j = 0,97 kg m.a./ha sur 1 cm

2° SYMONDS B. (1975)

Milieu : champ

Traitements : solutions pulvérisées sur le sol

A : application le 25 novembre 1970 à 16 h : boulettes à 4% : 5,6 kg/ha

B : application le 19 janvier 1971 à 12 h : a = boulettes 4% : 5,6 kg/ha
b = granulés 5% : 30 kg/ha

C : application le 19 janvier 1971 à 16 h : a = boulettes 4% : 5 kg/ha
b = granulés 5% : 10 kg/ha

D : application le 19 janvier 1971 à 16 h : granulés à 5 % : 30 kg/ha

E : application le 21 février 1972 à 12 h : a = boulettes 4%
a = boulettes à 4% : 5 kg/ha : méthiocarbe 036
b = boulettes à 4% : 5 kg/ha : méthiocarbe
c = boulettes à 4% : 5 kg/ha : méthiocarbe 037
d = granulés à 5% : 30 kg/ha : méthiocarbe
e = granulés à 5% : 15 kg/ha : méthiocarbe

Observations : nombre de vers trouvés morts sur le sol

A : pendant les 9 premiers jours : 71

B : pendant les 7 premiers jours : a = 82 b = 20

C : pendant les 19 premiers jours a = 101 b = 8

D : pendant les 28 premiers jours : 12

E : pendant les 10 premiers jours a = 17 b = 12 c = 16
d = 38 e = 29

*Tests réalisés dans l'artisol*

...

| Concentration ppms | 0 | 10 | 25 | 50 | 100 | 150 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 16 | 16 | 11 | 1 | 4 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 15,78 | 15,78 | 42,10 | 94,73 | 78,94 | 100 |

| | |
|---|---|
| r = - 0,952 | F = 6,287 4 ddl |
| Y = - 2,638 X + 9,253 | $CL50_{7j}$ = 40,954 = 41 ppms = 11,21 ppmh |
| | PPCS = 9,74 ppms = 10 ppms = 2,85 ppmh |

Je regrette ici l'absence d'une concentration à effet nul ou faible et une mortalité étonnante à 100 ppms. Néanmoins, le test F est significatif à 0,5 %.

Il conviendrait de compléter cet essai par une mesure au moins en dessous de 10 ppms (5 ppms) et deux entre 150 et 1000 ppms.

Deux nouveaux lots de vers, au minimum, devraient être soumis à la concentration de 100 ppms.

Fayolle (1979) indique pour la CL $50_{7j}$ une valeur de 8,1 ppms sur A. chlorotica.

## 1.10 - Phosalone

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 150 | 200 | 400 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 19 | 5 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 73,68 | 84,21 | 94,73 | 100 | 100 |

r = - 0,995

Y = - 6,105 X + 17,055

F = - 19,196 3 ddl

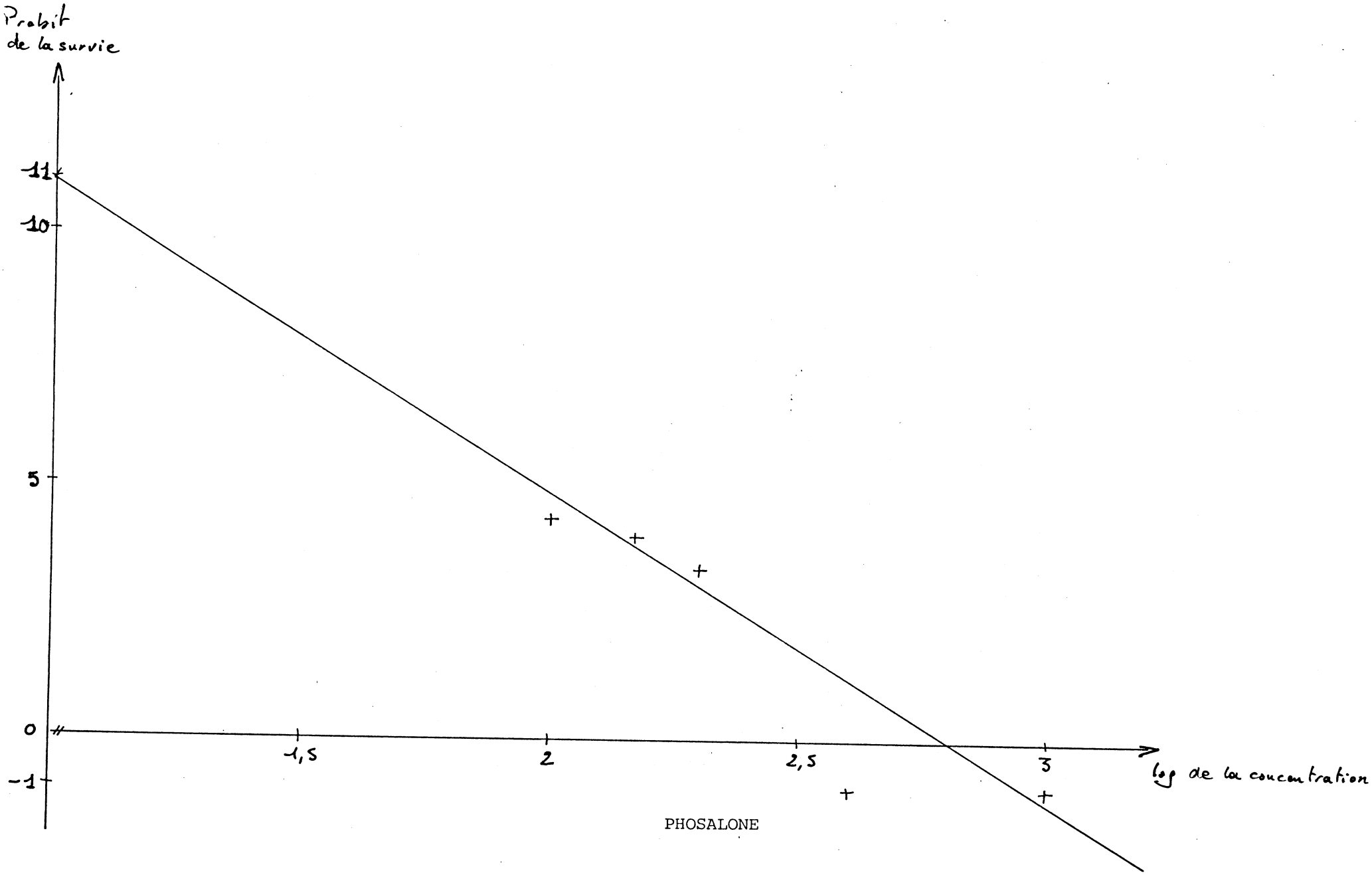
CL50 = 94,320 ppms = 94 ppms

PPCS = 50,72 ppms = 51 ppms

Je n'utilise pas les données fournies par la mesure à 1000 ppms.

Le test F est significatif à 1 %° mais s'applique à trop peu de données.

Des informations devraient pouvoir être obtenues entre 10 et 100 ppms (par exemple : 25, 50 et 75 ppms).




PHOSALONE

## 1.11 - Thiophanate éthyl

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 18 | 16 | 11 | 9 | 4 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 5,26 | 15,78 | 42,10 | 52,63 | 78,94 | 100 |

r = - 0,7811

Y = - 1,441 X + 8,665

F = - 2,502 4 ddl

CL $50_{7j}$ = 343,56 = 350 ppms = 100 ppmh

PPCS = 25,23 = 26 ppms = 7,14 ppmh

Il manque une concentration à effet nul ou faible pour que les conditions établies par Lowy soient parfaitement respectées ici.

Néanmoins le test F est significatif à 5 %.

Je pense qu'il serait souhaitable d'effectuer des essais à 5, 500, 1500 et 2500 ppms pour obtenir une concentration à effet nul et s'assurer des mortalités observées aux environs de 1000 et 2000 ppms. En effet, la CL 50 est nettement inférieure à 1000 ppms malgré les mortalités proches de 50 % que l'on rencontre à 1000 et 2000 ppms.

## 1.12 - Thiophanate méthyl

*Etude bibliographique*

1° BURCHILL R.T (1973)

voir bénomyl 1° auteur

2° COOK M.E. et A.A.J. SWAIT (1975)

Milieu : pommeraie sandy loam

Taxon observé : lombriciens

Traitement : les allées pantées d'arbres sont traitées avec une poudre soluble à 0,05 % de thiophanate méthyl

A = application en juillet, août, septembre avec du dinocap
B = 3 applications en été

Observations :

A = nombre moyen de vers par m2 en mars suivant : 40
témoin : 135 vers/m2

B = litière résiduelle en mars suivant, 122,5 g de matière sèche/m2
témoin : 16,9

3° CROSSE J.E. (1974)

Milieu : verger

Traitement : 3 applications de thiophanate méthyl à 0,05 %

Observations : forte réduction du peuplement de lombriciens.

4° KENNEL W. VON (1972)

voir bénomyl, 6° auteur

5° STRINGER A. et M.A. WRIGHT (1973) in A. STRINGER et C.M LYONS (1974)

voir bénomyl 9° auteur

6° WALLACE E.G.M. (1976)

voir bénomyl 12° auteur

7° TERRY H.J., MAY et BAYER (1973)

Milieu : pommeraie

Traitement des arbres avec du thiophanate méthyl

Observation : dans un site sur 17 : feuilles plus abondantes sur les arbres traités. Peuplement varie beaucoup d'un site à l'autre.

8° WRIGHT M. et A. STRINGER (1973)

voir bénomyl, 9° et 14° auteurs.

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 1000 | 1500 | 2000 | 2500 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 20 | 20 | 14 | 11 | 5 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 0 | 26,31 | 42,10 | 73,68 | 100 |

r = - 0,9451

Y = - 6,024 X + 23,36

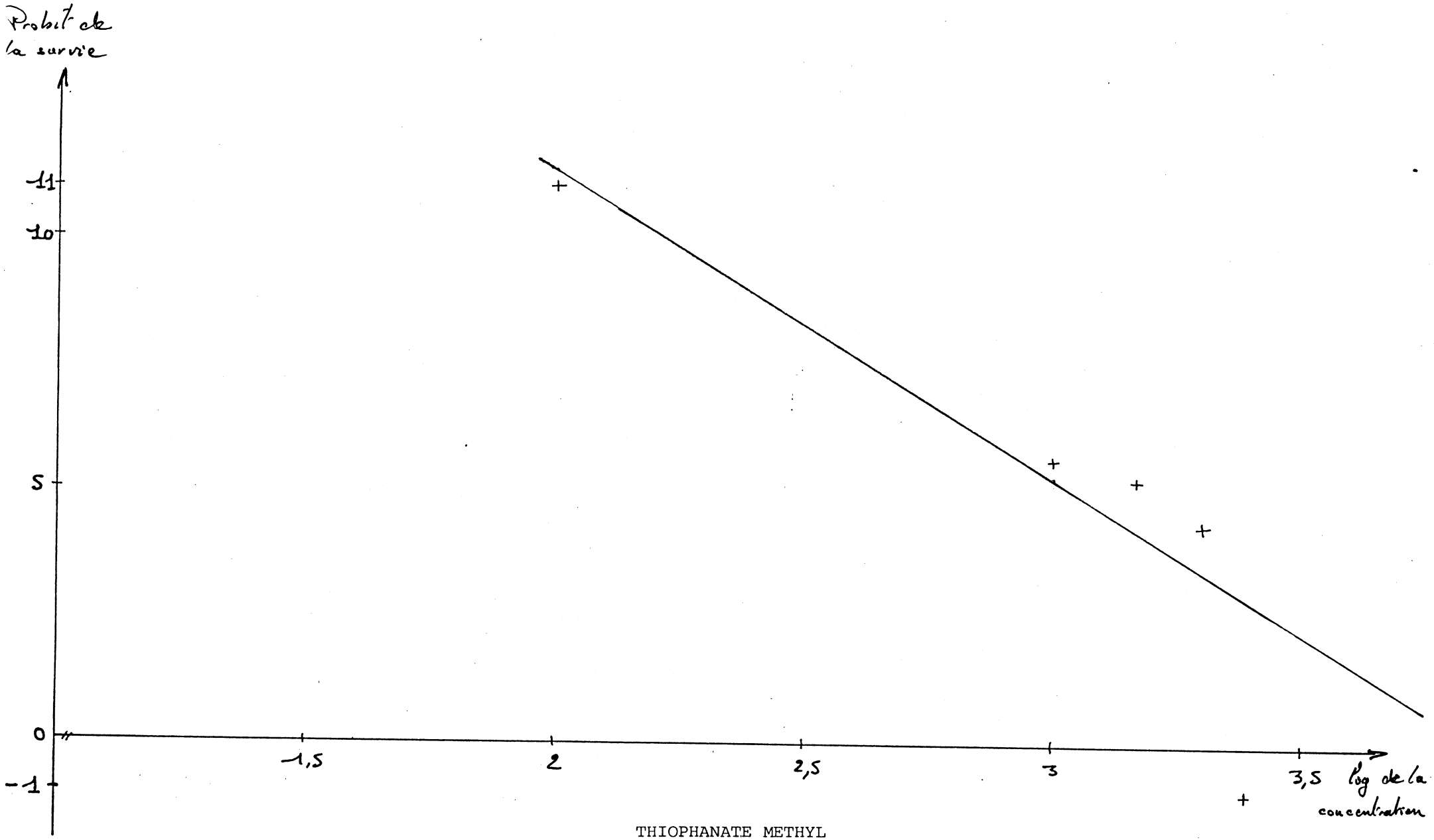
F = - 5,0132 3 ddl

CL $50_{7j}$ = 1116,8 ppms = 1117 ppms = 319,14 ppmh

PPCS = 595,6 ppms = 595 ppms = 170 ppmh

Je n'utilise que les données log et probit correspondant à 10 ppms. Les valeurs de CL 50 et PPCS sont obtenues alors que le test F est significatif à 2,5 %

Le faible nombre de concentrations appelle des essais à des teneurs intermédiaires à celles testées (500, 1250, 1750 et 2250 ppms par exemple).




THIOPHANATE METHYL

71615

## 1.13 - Thirame

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 20 | 40 | 60 | 100 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 15 | 13 | 6 | 2 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 21,05 | 31,57 | 68,42 | 89,47 | 100 | 100 |

r = - 0,904

Y = - 4,404 X + 10,876

F = - 3,671 3 ddl

CL $50_{7j}$ = 21,598 ppms = 22 ppms = 6,28 ppmh

PPCS = 9,135 ppms = 9 ppms = 2,57 ppmh

Je ne tiens pas compte du lot testé à 1000 ppms.

Lié à l'absence de concentrations à effet nul ou faible, ceci explique le niveau auquel le test F est significatif (5 %).

Quelques observations supplémentaires s'imposent : à 5, 30 et 80 ppms par exemple.

## 1.14 - Thiofanox

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 50 | 75 | 100 | 150 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 20 | 12 | 4 | 2 | 1 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 36,84 | 78,94 | 89,47 | 94,73 | 100 |

r = - 0,9843

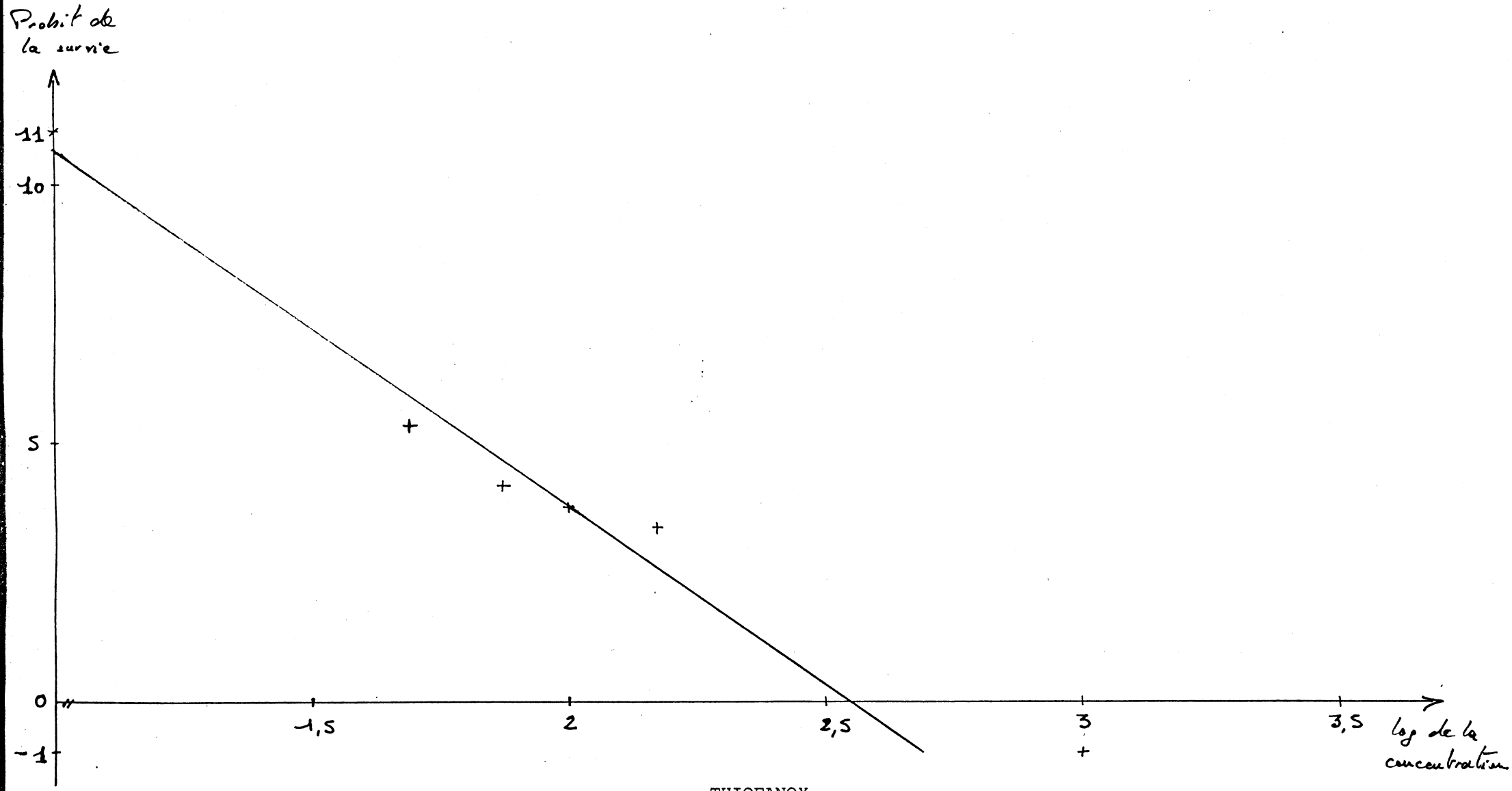
Y = - 6,815 X + 17,459

F = - 6,8946 4 ddl

$CL50_{7j}$ = 81,72 ppms = 82 ppms = 23,42 ppmh

PPCS = 37,502 ppms = 38 ppms = 10,85 ppmh

L'abandon de la mesure à 1000 ppms permet d'obtenir un test F beaucoup plus significatif : 1 % au lieu de 20 %.




THIOFANOX

73 bis

## 1.15 - Triallate

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentration ppms | 0 | 10 | 100 | 200 | 400 | 600 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 17 | 17 | 12 | 5 | 3 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 10,52 | 10,52 | 36,84 | 73,68 | 84,21 | 100 |

Cet essai serait utilement complété par une mesure à 5 ppms afin de rechercher une concentration à effet nul ou faible et par deux mesures pour des concentrations comprises entre 600 et 1000 ppms (700 et 850 ppms par exemple) afin d'obtenir une concentration à effet total ou fort qui soit plus proche de 600 ppms.

En effet, avec les données actuelles, le test F n'est significatif qu'à 10 %.

## 1.16 - 2,4,5-T

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentrations ppms | 0 | 10 | 100 | 1000 | 1500 | 2000 | 2500 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 17 | 19 | 14 | 10 | 4 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 10,52 | 0 | 26,31 | 47,36 | 78,94 | 100 |
| r = - 0,594<br>Y = - 2,034 X + 10,908 | | F = - 1,480 4 ddl<br>CL $50_{7j}$ = 801,09 ppms : 801 ppms = 228,8 ppmh<br>PPCS = 124,55 ppms = 125 ppms = 35,5 ppmh | | | | | |

Les mesures réalisées durant cet essai présentent deux défauts :
- absence de concentration à effet nul ou faible ;
- une mortalité étonnamment faible à 100 ppms. Ceci explique le peu de confiance attaché à l'usage du modèle log probit dans ce cas. Le test F est significatif au seuil de 40 %.

Il conviendrait donc d'effectuer une mesure à 5 ppms, une à 2250 ppms et de répéter 2 ou 3 mesures à 100 ppms.

J'ai remarqué plusieurs fois, lors du comptage des survivants dans les boîtes d'élevage, quelques vers pelotonnés les uns contre les autres. Il est vraisemblable que ces individus soient alors moins soumis aux effets du toxique. Ce phénomène s'est peut-être produit pour le lot soumis à 1100 ppms et explique ainsi en partie la faible mortalité.

## 1.17 - Zirame

*Tests réalisés dans l'artisol*

| Concentrations ppms | 0 | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | 19 | 20 | 20 | 20 | 19 | 12 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 36,84 | 10 | 10 |

r = - 0,902

Y = - 25,496 X + 53,506

F = - 2,958 2 ddl

CL $50_{7j}$ = 79,889 ppms = 80 ppms = 22,86 ppmh

PPCS = 68,86 ppms = 69 ppms = 19,67 ppmh

Dans cet essai, j'ai appliqué le modèle log-probit sur 4 concentrations seulement : 40, 60, 80 et 100 ppms. Le nombre de données est donc insuffisant mais elles présentent une bonne corrélation. Le test F est significatif au seuil de 10 %.

Il est indispensable de réaliser pour ce produit quelques mesures supplémentaires à 70, 85, 90 et 95 ppms par exemple.

## CONCLUSION DES TESTS REALISES DANS L'ARTISOL POUR CES 17 PRODUITS

Pour chacun des produits testés, plus de 50 % des lots présentent une réaction au polluant (dans le cas du zirame, le mauvais choix des concentrations abaisse ce pourcentage à un peu moins de 50 %). Ainsi chacun des produits a une toxicité aiguë vis-à-vis d'Eisenia fetida fetida dans les conditions du test.

Pour chaque produit testé, la mortalité induite croît avec la concentration en pesticide. Pour 8 concentrations, cette règle est contredite ; mais ces 8 concentrations ne constituent que 7,34 % des 109 doses soumises à l'expérience outre les 20 lots témoins ; ou encore 6,2 % de l'ensemble des doses (témoins compris). J'ai d'ailleurs proposé quelques explications (possibles) pour ces anomalies.

Outre un contrôle accru de l'homogénéité entre les lots de vers utilisés (poids, taille, vitalité, même milieu d'origine, homogénéité à l'intérieur du lot, ...), je suggère que les animaux ne soient pas déposés tous ensemble au centre de la surface de l'artisol, comme je l'ai fait, mais parsemés à la surface, ceci afin d'augmenter les chances de les voir se répartir de façon homogène dans le milieu. Il est possible en effet qu'en se pelotonnant les uns contre les autres, ils diminuent leur mortalité en réduisant le contact avec le contaminant, ou au contraire, augmentent leur mortalité lorsque l'un d'eux meurt et se décompose. Je n'ai toutefois pas remarqué ce dernier cas. Par contre, j'ai observé des vers bien portants séparés par quelques millimètres de pâte de lévilite de vers en décomposition.

A partir de quelques essais, il est possible d'établir un premier classement des substances en fonction de leur CL 50. Ce classement demande

à être contrôlé par d'autres mesures (en particulier, par celles que j'ai indiquées) ; il n'est justifié que par la méthode des tests utilisée dans ce travail et demande à être comparé aux classements obtenus au terrain.

Ordre de toxicité décroissante d'après la CL $50_{7j}$ calculée :

| Rang | Produit | CL $50_{7j}$ | PPCS | (x) | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Carbaryl | 11 | 4 | (1) | + |
| 2 | Endosulfan | 12 | 7 | (2) | Δ |
| 3 | Thirame | 22 | 9 | (3) | + |
| 4 | Méthiocarbe | 41 | 10 | (4) | +++ |
| 5 | Thiofanox | 67 | 39 | (8) | ++ |
| 6 | Zirame | 80 | 60 | (10) | Δ |
| 7 | Phosalone | 94 | 51 | (9) | +++ |
| 8 | Triallate | 115 | 20 | (5) | Δ |
| 9 | Bénomyl | 124 | 24 | (6) | + |
| 10 | Diquat | 258 | 110 | (11) | +++ |
| 11 | Bromophos | 263 | 111 | (12) | +++ |
| 12 | Lindane | 311 | 222 | (16) | ++ |
| 13 | Thiophanate éthyl | 350 | 25 | (7) | + |
| 14 | Dazomet | 475 | 151 | (14) | + |
| 15 | Carbendazime | 534 | 172 | (15) | + |
| 16 | 2·4·5-T | 801 | 125 | (13) | Δ |
| 17 | Thiophanate méthyl | 1117 | 595 | (17) | + |

x : rang de toxicité décroissante d'après la PPCS

Δ : valeurs des CL50 et PPCS peu significatives

+: " " " significatives à 2,5 % et 5 %.

++: " " " " à 1 %.

+++: " " " " à moins de 1 %.

## II - Temps létal 50 (TL50) du lindane et du bénomyl

Le temps létal 50 est le temps après lequel, à une concentration donnée, on observe une mortalité de 50 %.

Ces essais sont effectués avec des lots de 20 E. fetida fetida.

### 2.1 - Le lindane

Au moment de la mise en route de cet essai, la valeur de la PPCS que j'avais obtenue était de 114 ppms. C'est elle que j'ai employée.

Résultats

| | | 7è j. | 14è j. | 21è j. | 28è j. |
|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | Lindane 111 ppms | 7 | 8 | 0 | 0 |
| | Témoin 0 ppms | - | - | - | 18 |

La mortalité constatée le 7è jour est supérieure à celle observée durant le test CL 50. Il semble donc que l'effet létal soit exagéré la première semaine.

Dans ces conditions, il est difficile de conclure. Retenons simplement que le TL 50 semble inférieur à 14 jours.

### 2.2 - Le bénomyl

La dégradation du bénomyl en carbendazime et en butyl-isocyanate est responsable de sa toxicité. Cette dégradation chimique n'est pas une hydrolyse. Elle est plus rapide dans certains solvants organiques que dans l'eau et n'est pas enzymatique (Leroux, Phytopharmacie, INRA, Versailles ; communication personnelle).

J'ai voulu observer, en ajoutant un jus de sol non stérile à l'artisol, une activation de la dégradation du bénomyl ; lorsqu'elle se produit, cette activation doit se traduire par une augmentation de la mortalité des vers. C'est pourquoi j'ai réalisé deux séries de 4 boîtes contenant de l'artisol contaminé par du bénomyl à sa PPCS. Dans une série, j'ai ajouté 450 cm3 de jus de sol non stérile au lieu des 450 cm3 d'eau permutée ; ce jus de sol a été obtenu à partir d'un prélevat de terre fait sur une petite zone en friche à l'I.N.R.A. de Dijon. L'eau permutée a migré deux fois à travers cet échantillon avant d'être filtrée, puis additionnée à la lévilite.

J'ai complété chaque série de 4 boîtes par un témoin. Pour l'une, il comporte l'artisol non contaminé, pour l'autre l'artisol non contaminé additionné de jus de sol.

Résultats

| | | 7è j. | 14è j. | 21è j. | 28è j. |
|---|---|---|---|---|---|
| Survivants | Bénomyl 7,43 ppms | 18 | 12 | 8 | 11 |
| | Témoin | - | - | - | 19 |
| | Bénomyl 7,43 ppms + jus de sol | 15 | 13 | 9 | 14 |
| | Témoin + jus de sol | - | - | - | 18 |

Il n'est malheureusement pas possible de conclure sur ces valeurs. Il faudrait répéter cet essai en le prolongeant jusqu'à 8 semaines (voir plus) afin d'en tirer un enseignement.

Ces résultats montrent aucun effet du jus de sol pendant 4 semaines et que le TL 50 du bénomyl est de l'ordre de 28 jours au moins.

## III - Essai portant sur la nature des sols

(Cet essai a été présenté dans la 2ème partie). Les résultats ont été obtenus avec le lindane.

Résultats : nombre de survivants le 7è jour :

| Milieux \ Concentrations en ppms | 0 | 10 | 100 | 250 | 500 | 750 | 1000 | 2000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Artisol | 19 | 19 | 14 | 19 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Argile | 19 | 20 | 3 | 18 | 0 | 7 | 0 | 0 |
| Limon | 19 | 19 | 16 | 16 | 13 | 1 | 0 | 7 |
| Humifère | 19 | 19 | 14 | 15 | 9 | 0 | 0 | 0 |

Ces 4 milieux ont été préparés un mois avant l'introduction des vers de terre. Pendant ce temps, certains boîtes se desséchées un peu. Afin de rétablir l'humidité initiale, je les ai pulvérisées de fines gouttelettes d'eau permutée ; puis, je les ai brassées pour éviter toute hétérogénéité. Cette intervention semble responsable de quelques mortalités anormales :

. artisol à 100 ppms,
. argile à 100, 500 et 750 ppms,
. limon à 2000 ppms,
. humifère à 100 ppms.

De ces mesures, nous tirons les informations suivantes :

ARTISOL

Coefficient de corrélation

$r = - 0,687$

Equation de la droite de régression

$Y = - 4,227 X + 15,454$

Coefficient de Snédécor-Fisher

$F = - 1,642$ significatif au seuil de 20 % 3 ddl

$CL\ 50_{7j}$ = 297,26 ppms = 297 ppms = 84,9 ppmh

PPCS = 121,34 ppms = 121 ppms = 34,6 ppmh

ARGILE

r = - 0,846 Y = - 4,541 X + 15,12 F = - 3,181
significatif au seuil de 5 % 4 ddl

$CL\ 50_{7j}$ = 169,27 ppms = 169 ppms 48,36 ppmh

PPCS = 73,51 ppms = 73 ppms = 21 ppmh

LIMON : il n'est pas possible d'appliquer le modèle log-probit à ses données.

HUMIFERE

r = - 0,930 Y = - 4,446 X + 15,42 F = - 4,388
significatif au seuil de 2,5% 3 ddl

$CL\ 50_{7j}$ = 221,66 ppms = 222 ppms = 63,33 ppmh

PPCS = 94,56 ppms = 95 ppms = 27 ppmh

La comparaison des résulats n'est pratiquement possible qu'entre l'argile et l'humifère. Elle indique que le lindane se montre moins toxique dans le milieu humifère que dans le milieu argile.

## IV - Influence des facteurs "espèces lombriciennes et stade"

J'ai mené ces essais dans l'artisol, pendant une durée de 7 jours, avec le lindane. Au moment de leur utilisation, les L. terrestris étaient affaiblis par une longue attente dans des conditions difficiles.

4.1 - Lumbricus terrestris adultes

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Concentrations en ppms | 150 | 150 | 300 | 300 |
| Proportion de survivants | 2/7 | 1/6 | 0/6 | 0/6 |

J'en déduis que la CL 50 est inférieure à 150 ppms.

4.2 - Lumbricus terrestris sub-adultes

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Concentrations en ppms | Témoin | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 |
| Proportion de survivants | 9/11 | 5/10 | 9/10 | 6/10 | 2/10 | 6/10 |

Il n'est pas possible d'appliquer le modèle log-probit à ces données car aucune concentration ne présente un effet total. La CL 50 se situerait aux environs de 200 ppms.

La vitalité moindre des vers est sans doute la cause de l'irrégularité des résultats.

4.3 - Lumbricus terrestris larves

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Concentrations ppms | 0 | 10 | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 |
| Survivants sur 20 | 19 | 19 | 17 | 14 | 2 | 11 | 0 |
| Mortalité corrigée % | 0 | 0 | 10,52 | 26,31 | 89,47 | 42,10 | 100 |

r = - 0,935

Y = - 4,525 X + 14,90

F = - 5,287 4 ddl

$DL\ 50_{7j}$ = 154,34 ppms = 154 ppms = 44 ppmh

PPCS = 66,84 ppms = 67 ppms = 19 ppmh

Le test indique que les calculs sont significatifs au seuil de 1%.

4.4 - Allolobophora chlorotica

Les animaux ont une bonne vitalité au moment du test.

| | 0 | 10 | 25 | 50 | 100 | 150 | 200 | 400 | 800 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 17 | 18 | 12 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Mortalité corrigée, en % | 0 | 10,52 | 5,26 | 36,84 | 78,94 | 84,21 | 100 | 100 | 100 |

r = - 0,853 F = - 3,270 4 ddl

Y = - 3,503 X + 10,738 CL $50_{7j}$ = 43,49 ppms = 43 ppms = 12,42 ppmh

PPCS = 14,74 ppms = 15 ppms = 4,2 ppmh

Le test F indique que les calculs sont significatifs au seuil de 5 %.

Conclusion

Le lindane est 2 fois plus toxique pour les larves de L. terrestris que pour E. fetida, et 3 fois plus toxique pour A. chlorotica que pour les larves de L. terrestris.

D'une façon générale, le lindane est plus toxique pour L. terrestris que pour E. fetida.

L. terrestris semble peu adapté à l'artisol. Particulièrement, les adultes et les sub-adultes paraissent avoir plus de difficulté pour évoluer entre les billes de verre.

## V - Tests de toxicité aiguë par ingestion du polluant

Ces tests ont été effectués sur E. fetida élevé dans l'artisol non contaminé mais sur lequel est apportée une "litière" de son contenant du lindane.

| Durée | 7 jours | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dose | 0 | 0,1N | N | 2,5N | 5N | 7,5N | 10N |
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 20 | 18 | 19 | 20 | 19 | 19 |
| Son consommé | tout | presque tout | 1/3 | peu | peu | rien | rien |

| Durée | 14 jours | | 21 jours | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Dose | 2,5N | 5N | 2,5N | 5N | témoin |
| Nombre de survivants sur 20 | 19 | 15 | 14 | 17 | 19 |
| Son consommé | peu | peu | peu | peu | 1/2 |

Il est difficile d'apprécier exactement la consommation du son réparti à la surface de l'artisol.

Une mortalité croissante avec le temps semble se dessiner mais elle n'est pas suffisante pour en dégager des caractéristiques.

En répétant cet essai sur une durée plus longue (6 ou 8 semaines), on parviendrait peut-être à observer clairement la progression de la mortalité.

## VI - Dosage des bio-accumulats du lindane

Remarques

1 - Lors de la dissection des lots de survivants issus des tests au lindane, j'ai constaté en observant le contenu de leur tube digestif que :

. E. fetida ingère la lévilite,

. A. chlorotica ingère beaucoup de lévilite,

. L. terrestris larve : ingère la lévilite,
sub-adulte : ingère un peu de lévilite pour 50 % des animaux,
adulte : n'ingère pas de lévilite.

Ceci est en accord avec les observations de Ferrière (sous presse) qui constate une évolution de la spécialisation fonctionnelle de ces animaux avec leur développement.

2 - Parmi les lots disséqués, 22 seulement ont pu être analysés pendant le temps où nous avons utilisé l'appareil. C'est le hasard qui les a désignés, aussi ne reflètent-ils pas un choix judicieux .

Pour chaque échantillon analysé, la surface Y du pic tracé par le chromatographe à capture d'électrons permet de calculer la concentration X en lindane de l' . Connaissant la dilution de l'extrait réalisé et le poids frais des vers qui ont subi l'extraction, on déduit la concentration en lindane de ces vers.

### 6.1 - Eisenia fetida issus des tests de contamination par l'artisol

Les animaux ont séjourné 7 jours dans l'artisol.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Concentration dans l'artisol | en ppms | 200 | 400 | 2000 |
| | en ppmh | 57,142 | 114,28 | 571,48 |
| vers | concentration ppmh | 372,99 | 300,46 | 47,13 |
| | facteur de concent. | 6,53 | 2,63 | 0,082 |

Ces deux mesures indiquent que E. fetida concentre fortement le lindane en 7 jours. Le facteur de concentration décroît étonnamment lorsque la concentration dans le milieu augmente. Ceci peut éventuellement s'expliquer par une activité des animaux qui se réduit avec l'augmentation de la concentration. La valeur obtenue à 2000 ppms est due à un seul animal et doit être jugée avec prudence.

6.2 - E. fetida provenants de l'étude du TL 50

| | | | |
|---|---|---|---|
| Concentration dans l'artisol | ppms | 114 | 114 |
| | ppmh | 32,57 | 32,57 |
| Durée d'exposition | | 7 jours | 17 jours |
| Concentration dans les vers | ppmh | 317,65 | 135,47 |
| Facteur de concentration | | 9,75 | 4,15 |

La forte teneur en lindane des vers après 7 jours explique la forte mortalité constatée. Cela est-il dû à une erreur de manipulation qui aurait abouti à une concentration dans le milieu supérieure à 114 ppms ?, ou à une concentration active de la part des vers particulièrement élevée ?

Nakatsuga et Nelson (1972) émettent l'hypothèse d'une "détoxication" active au niveau cellulaire après une absorption de pesticide.

6.3 - E. fetida provenant de l'étude comparative des 4 sols

...

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Concentration dans le milieu | ppms | 10 | 100 | 200 | 250 | 500 | 750 |
| | ppmh | 2,85 | 28,57 | 57,14 | 71,43 | 142,84 | 214,28 |
| Concentration dans les vers en ppmh | artisol | 22,64<br>7,91x | 86,19<br>3,01x | | | 177,20<br>1,24x | 47,13<br>0,082 x |
| | argile | | | | 176,40<br>2,47x | 388,12<br>2,72 x | |
| | humifère | 8,29<br>2,89 x | | | | | |

x facteur de concentration des vers

Ces résultats confirment le fait que le facteur de concentration dans l'artisol décroît lorsque la concentration en pesticide des vers augmente avec celle du milieu.

Les vers senblent se contaminer plus fortement dans l'argile que dans l'artisol et davantage dans l'artisol que dans l'humifère.

6.4 - Comparaison entre les espèces

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Concentration en lindane dans l'artisol | | ppms | 100 | 150 |
| | | ppmh | 28,57 | 42,85 |
| Concentration *L. terrestris* | Adultes | ppmh | | 156,63<br>3,65 x |
| | Sub-adultes | ppmh | 108,87<br>3,810 x | |
| | Larves | ppmh | 79,50<br>2,78 x | |

Ces valeurs sont trop peu nombreuses pour en dégager un enseignement.

Remarquons seulement qu'elles sont du même ordre de grandeur que celles constatées pour E. fetida élevé dans l'artisol et mis en attente un mois ; néanmoins, elles sont inférieures (compte tenu de la concentration considérée dans le milieu) à celle observée pour E. fetida élevé de suite dans l'artisol contaminé.

6.5 - E. fetida contaminé par la litière

| Durée en semaines | 1 | | | | | | 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dose | 0N | 0,1N | N | 2,5N | 7,5N | 10N | 2,5N |
| teneur du ver en lindane en ppmh | 0 | 23,86 | 42,64<br>32,21 | 4,85 | 9,23 | 10,41 | 42,48 |

Il semble que la bio-accumulation de lindane croisse avec la dose mais soit atténuée par une baisse de la consommation du son à partir de 5N.

# CONCLUSION

La réalisation tout à fait originale d'un milieu d'élevage, à partir d'un substrat chimiquement pur et inerte, a permis d'envisager des expérimentations réellement contrôlées qui varient seulement en fonction de quelques paramètres du milieu où vivent les lombriciens.

Mon objectif était d'utiliser ce milieu pour mettre au point un test des pesticides vis-à-vis des lombriciens. Afin qu'il ait toute sa signification et sa portée, il fallait le normaliser et le rendre reproductible.

Le choix des espèces lombriciennes testées, de la méthode d'élevage et du mode d'apport des polluants devaient se conformer à ces impératifs.

E. fetida fetida a été choisi pour sa facilité d'élevage. Par comparaison aux conditions de terrain, il a été distingué une contamination de la litière et une contamination du substrat. Cette dernière a permis d'observer, au cours des essais d'une durée de 7 jours , que chacun des 17 produits testés a un effet létal sur E. fetida et que cet effet croît avec la concentration présente dans l'artisol. La concentration a donc un effet prépondérant sur la date de la mesure ; le test est reproductible.

De plus, les mortalités constatées en fonction des concentrations en pesticide se prêtent dans la quasi totalité des cas à un traitement statistique selon le modèle log-probit ; ce qui permet de calculer la $CL\ 50_{7}j$ et la $PPCS_{7j}$ avec un degré de confiance que l'on détermine.

Ces valeurs m'ont permis de classer les substances testées en fonction de leur toxicité aiguë. Ce classement mérite d'être étayé par de nouvelles mesures.

J'ai tenté de déterminer le temps létal 50 du lindane et du bénomyl additionnés ou non d'un jus de sol dont j'espérais un effet activateur de la toxicité. Les mesures obtenues ne fournissent guère d'enseignement. Aussi, méritent-elles d'être complétées car elles sont réalisables dans l'artisol avec E. fetida.

La contamination de la litière (son) n'a pas entraîné de mortalité supérieure à 25 % sur une durée de 21 jours.

L'analyse des vers de terre qui ont survécu à une contamination au lindane du substrat ou de la litière m'a permis de constater une bio-accumulation du polluant dans chaque cas et à chaque concentration ou dose. Le nombre d'échantillons de vers soumis à un dosage n'est pas suffisant (22) pour établir des facteurs de concentration fiables. L'analyse des vers mis en attente au congélateur permettra peut-être de le faire. Mais déjà on peut remarquer que les teneurs des vers en lindane sont élevées par rapport à celles de l'artisol ou du son.

J'ai pu effectivement observer l'importance des paramètres : substrat, espèce lombricienne et stade de développement des individus en comparant 3 milieux (argile, limon et humifère) à l'artisol et 2 espèces dont une à 3 niveaux de développement différents (A. chlorotica ; adultes, sub-adultes et larves de L. terrestris). Quelques mesures supplémentaires permettraient de dégager des conclusions plus précises.

Au terme de cette étude, quelques questions se posent :

- comment peut-on expliquer les quelques mesures anormales obtenues dans certains cas ?
- les pesticides se comportent-ils indifféremment vis-à-vis de la lévilite ? (absorption, forces de Van der Walls, moments dipolaires,...)
- quels phénomènes interviennent dans les 4 substrats étudiés pour justifier les variations de mortalité ?
- en quoi la physiologie et le comportement des vers sont-ils modifiés dans l'artisol ?

- ces modifications favorisent-elles plus particulièrement l'expression de la toxicité de certains produits ?

...

Ces questions pourraient faire l'objet d'études ultérieures.

Néanmoins, le travail que j'ai effectué sur 4200 vers de terre prouve que le test défini sur E. fetida fetida avec l'artisol permet des mesures reproductibles de la toxicité aiguë et de la bio-accumulation.

Ce test a l'avantage d'être pratique, rapide et peu coûteux.

Au point de vue scientifique, il peut servir de référence unique pour tout produit. Au point de vue légal, il est reproductible en tout lieu et par quiconque.

Mais, actuellement, il n'est pas possible d'extrapoler au terrain ce test de laboratoire. Un développement conjoint des recherches dans ces deux secteurs permettrait peut-être d'y parvenir.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A.C.T.A., 1977 - Les herbicides et le sol. 143 pp .

A.C.T.A., 1978 - Index phytosanitaire. 400pp.

ANDERLAND E. et H. ASPOCK, 1962 - Cités par E. KLEIN (1977). Impact d'insecticides carbamates sur l'activité pédogénétique des lombriciens. Mémoire univ. cathol. Louvain, lab. écol., 1-138.

ASPOCK H. et E. ANDERLAND, I963 - Cités par C.A EDWARDS(1965). Effects of pesticide résidues on soil invertébrates and plants., 239-261.

ATLAVINYTE O., 1975 - The effect of chemical substances on the activity of lumbricidae in the process of straw desintegration. Progress in soil zoology, 515-519.
Institute of Zoology and Parasitology, Academy of Sciences of the Lithuanian SSR, Vilnus.

BACHELIER G., 1963 - La vie dans les sols, ORSTOM, Paris, 279pp.

BAKER W.L., 1946 - Cité par HOY J.M (1955). Toxicity of some hydrocarbon insecticides to earthworms. N.Z.J. Sci. Sect A., 1955, 37, 367-372.

BARKER Roy J., 1958 - Notes on some ecological effects of DDT sprayed on elms. J. Wildlife Manag, 1958, 22.

BAUDE J. et Al., 1974.- Fate of bénomyl on fiels soil and turf. J. Agr. food chem, 22, 3, 1974, 413-418.

BEUGNOT M., 1978 - Recherches sur la dynamique de production des turricules de vers de terre d'une prairie permanente. Mémoire - Laboratoire de Botanique et d'Ecologie - Faculté des Sciences de la vie et de l'environnement, 55pp.

BOUCHE M.B., 1971 - Relations entre les structures spatiales et fonctionnelles des écosystèmes illustrées par le rôle pédobiologique des vers de terre. In Pesson " La vie dans les sols ", éd. Gauthier-Villars, 187-209.

BOUCHE M.B., 1972 - Lombriciens de France. Ecologie et systématique. Ed. I.N.R.A, Ann. Zool. - écol. anim, numéro spécial, 72 - 2, 1 - 671.

BOUCHE M.B, 1979 - Conséquences de l'apport de contaminants sur les lombriciens. I. Problèmes en cause et méthodologie. Doc. pédozool., 1, 1, 2 - 22.

BURCHILL R.T., 1973 - Fungicides are affecting earthworm activity. January 26, 1973, Commercial grower, 135pp.

COOK M.E et A.A.J SWAIT, 1975 - Effects of some fungicide treatments on earthworm populations and leaf remoual in apple orchards, J. Hort. Sci., I975, 50, 495-499.

CROSSE J.E, 1974 - Plant Pathology - C 757, Rep. E. Malling Res. Stn for 1973-1974, 131-154.

DAVIS B.N.K., 1966 - Soil animals as vectors of organoclorine insecticides for ground-feeding birds, 133-139.

DAVIS B.N.K., 1968 - The soil macrofauna and organochlorine insecticide residues at twelve agricultural sites near Huntingdon. Ann. Appl. Biol., 1968, 61. 29-45.

DAWSON R.C., 1947 - Cité par BACHELIER (1963).

EDWARDS C.A., 1965 - Effects of pesticide residues on soil invertebrates and plants, 239-261.

EDWARDS C.A., 1973 - Some influences of pesticides on the soil fauna, 6, 2, 1973, 87-93.

FAYOLLE L., 1979 - Conseq-ences de l'apport de contaminants sur les lombriciens. Estimation statistique des risques. Doc. pédozool., 1, 1, 24-32, Mai 1979.

FREI, 1948 - Cité par JEANSON (1971).

HEUGENS A., 1969 - L'influence de la fumure et des pesticides, aldrine, carbaryl et DBCP sur la faune du sol dans la culture des azalées. Rev. Ecol. Biol. Sol., I969, T. VI, 2, 131-145.

HOP H. et HOPKINS A.R., 1946 - Cités par E. KLEIN (1977).

HOPKINS A.R et KIRK, 1957 - Cités par S.P DAVEY (1963). Effects of chemicals on earthworms : a review of the litterature U.S.D.A, Special, Sci. rept. Wildlife 74, 1-17.

HOY J.M., 1955 - Toxicity of some hydrocarbon insecticides to earthworms, N.Z.J, Sci. Sect. A, 1955, 37, 367-372.

JEANSON C., 1960 - Etude expérimentale de l'action de L. Herculeus (Savigny), (oligochète lombricide) sur la stabilité structurale des terres, C.R. Acad. Sc. 250, 3041-3048.

JEANSON C., 1971 - Etude expérimentale de l'action des vers de terre sur les sols artificiels. " La vie dans les sols - Aspects nouveaux et études expérimentales " Pesson P., éd. Gauthiers-Villars, Paris, 211-277.

KENNEL W. VON., 1972 - Schadpilze als Objekte integrierter Pflanzerschutzmabnahmen im Obstbau Zeitschrift. F. Pflanrank. V. Pflanzenschuts, 7, 400-406.

KUBIENA W., 1953 - The soil of Europe. Thomas MURBY and Cie, London, 1-318.

LIPA J., 1958 - Effect on earthworm and diptera populations of BHC dust applied to soil. Nature 4612, March 22, 1958, 863pp.

LIPA J., 1958 - Cité par S.P DAVEY (1963). Effects of chemical on earthworms : a review of the litterature U.S.D.A, Special, Sci, rept, Wildlife 74,1-17.

LOWY R., 1977 - Emploi des méthodes statistiques en toxicologie nutritionnelle, Cahiers nutr. diet, 11, 37-43.

LOWY R., 1978 - Toxicologie métabolique (pesticides) 2ème Partie : Evaluation des effets métaboliques des pesticides. IIIème Symposium du comité " Contamination des chaines Biologique " Paris, C.N.A.M. 22, 23 et 24 Février 1978.

MULLER P.E., 1889 - Recherches sur les formes naturelles de l'humus. Ann. Sci. agron. France et Etranger, Nancy 6, 85-423.

NAKATSUGAWA T. et P.A. NELSON, 1972 - Studies of insecticide detoxication in invertebrates, an enzymological approach to the problem of biological magnification. Environmental toxicology of pesticides, Academic Press, New-York and London, 1972, 501-524.

O'BRIEN R.D., 1967 - Insecticides action and metabolism. Acad. Press. N.Y, 1967, 332pp.

POLIVKA S.I., 1953 - Cité par S.P DAVEY (1963). Effects of chemicals on earthworms : a review of the literature, U.S.D.A, Special Sci. Rept. Wildlife 74, 1-17.

PONOMAVERA S.I., 1950 - Le rôle des vers de terre dans la création d'une structure stable dans la rotation des prairies artificiels. Pochvov, 476-486.

PRASAD R. et R.P MOODY, 1974 - Translocation of Bénomyl in ELM (ULMUS AMERICANA L.). IX. Some Ecological consequences of the treatments on population of earthworms (Lumbricus Terrestris L.). Chemical Control Research Institute Ottawa, Ontario, Report C.C-X-81, October 1974, 12pp.

ROSCOE R., J.D BUTLER et T.D HUGHES, 1972 - The effect of pesticides on thach accumulation and earthworm populations in " Kentucky " Bluegrass turf, Hort. Science, 7(1), February 1972, 64-65

SATCHELL J.E., 1955 - Cité par S.P DAVEY (1963). Effects of chemicals on earthworms : a review of the literature U.S.D.A, Spécial Sci. Rept. Wildlife 74, 1-17.

SCHREAD, 1952 - Cité par S.P DAVEY (1963). Effects of chemicals on earthworms : a review of the literature U.S.D.A, Special Sci. Rept. Wildlife 74, 1-17.

STRINGER A. et M.A WRIGHT, 1973 - The effect of Benomyl and some related compounds on Lumbricus Terrestris and other Earthworms, Pestic. Sci. 1973, 4, 165-170.

STRINGER A. et M.A WRIGHT, 1973 - Cités par A. STRINGER et C.H LYONS (1974). The effect of Benomyl and thiophanate-méthyl on earthworm population in apple Orchards, Pestic. Sci. 1974, 5, 189-196.

STRINGER A. et C.H. LYONS, 1974 - The effect of benomyl and thiophanate-méthyl on earthworm populations in apple Orchards. Pestic. Sci. 1974, 5, 189-196.

STRINGER A. et M.A. WRIGHT, 1976 - The toxicity of benomyl and some related 2-substituted Benzimidazoles to the earthworm Lumbricus Terrestris, Pestic. Sci. 1976, 7, 459-464.

STRINGER A. et C.H. LYONS, 1977 - The effect on earthworm populations of methods of spraying benomyl in an apple orchard, Pestic. Sci. 1977,8, 647-650.

SYMONDS B.V., 1975 - Evaluation of potential molluscicides for the control of the field slug, Agriolimax reticulatus (MÜLL.), Pl. Path.1975, 24, 1-9.

TERRY H.J, MAY et BAYER LTD., 1973 - Learning more about the earthworms, Commercial grower.

THOMPSON A.R., 1970 - Effects of nine insecticides on the numbers and biomass of earthworms in pasture, Bulletin of Environmental Contamination et toxicology, 5,6, 1971, 577-586.

THOMPSON A.R., 1973 - Pesticides residues in soil invertebrates. Environmental pollution bu pesticides, C.A EDWARDS, Plenum Press, London and New-York 1973, 87-133.

THOMPSON A.R et W.W SANS., 1973 - Cités par A.D TOWLIN et F.L GORE (1974). Effects of six insecticides and a fungicide on the numbers and biomass of earthworms in pasture. Bulletin of Environmental Contamination et Toxicology, 12, 4, 1974, 487-492.

TOMLIN A.D et F.L GORE., 1974 - Effects of six insecticides and a fungicide on the numbers and biomass of eathworms in pasture. Bulletin of Environmental Contamination et Toxicology, 12, 4, 1974, 487-492.

TOURTE C., 1972 - Insecticides et environnement : résidus et toxicité dans les écosystèmes. Situation actuelle et perspective d'avenir de la lutte contre les insectes, agents et vecteurs de maladies. Thèse 1972, 136pp.

VORONOVA L.D., 1968 - The effect of some pesticides on the soil invertebrate fauna in the south taiga zone in the perm région (USSR), Pedobiologia, Bd. 8, 1968, S. 507-525.

WALLACE E.G.R., 1976 - A comparison of the control pf pithomyces chartarum with three fungicides applied at both the pre-and post danger levels of spores in pasture. N.Z journal of experimental agriculture : 243-7.

WHEATLEY G.A et J.A HARDMAN., 1968 - Organoclorine insecticide residues in earthworms from arable soils. J. Sci. Fd agric., 1968, 19, April, 219-225.

WINSOR P.A., 1973 - Effect of spraying on worm population. Commercial grower, 2 Mars 1973.

WRIGHT M.A et A. STRINGER , 1973 - The toxicity of thiabendazole, benomyl, méthyl benzimidazol-2-yl carbamate and thiophanate-méthyl to the earthworm, lumbricus terrestris. Pestic. SCi.,1973, 4, 431-432.

WRIGHT M.A., 1971 - Cité par M.E COOK et A.A.J SWAIT (1975). Effects of some fungicide treatments on earthworm populations and leaf remoual in apple orchards, J. Hort. Sci., 1975, 50, 495-499.

# ANNEXES

## I. ANALYSE CHIMIQUE DES TERRES UTILISEES

Cette analyse a été réalisée à l'I.N.R.A., Station de Sciences du Sol, 17, rue Sully, 21034 Dijon Cédex.

| PROVENANCE | CHEVIGNY | CHALON | CITEAUX |
|---|---|---|---|
| Profondeur du prélèvement | 0 - 30 cm | 30 cm | 1 m |
| Carbone ‰ | 8,7 | 4,2 | 1,8 |
| Azote organique (Kjeldahl) ‰ | 0,925 | 0,53 | 0,35 |
| C/N | 9,41 | 7,87 | 5,03 |
| M.O. % | 14,96 | 7,4 | 3,0 |

## II. LE MODELE LOG-PROBIT

Afin de visualiser et de pouvoir extrapoler au mieux les résultats obtenus, les représentations graphiques de l'effet par rapport à la dose des différents produits ont été effectuées à l'aide de la transformation log-probit (avec calcul de la mortalité corrigée selon Abbott). Ce modèle, dont Lowy (1977) nous rappelle l'histoire et l'utilité en toxicologie, permet de déterminer facilement la CL 50 (concentration létale 50) et la dose PPDS (dose ayant le plus petit effet significatif au seuil de 5 %).

La caractéristique principale est de linéariser et de rectifier un phénomène suivant une loi sigmoïde.

Résumons tout d'abord les principales étapes du procédé :

. la transformation log-probit n'utilise pas la mortalité réelle observée mais la mortalité corrigée en fonction de celle observée dans les témoins ; on utilise la formule d'Abbott :

$$P'_d = \frac{P_d - P_o}{1 - P_o}$$

avec $P'_d$ : mortalité corrigée

$P_d$ : mortalité réelle observée due au traitement

$P_o$ : mortalité réelle observée dans le témoin

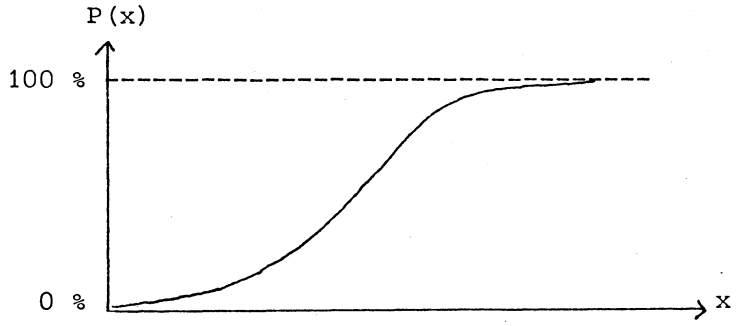
. la mortalité corrigée est alors transformée en survie corrigée (100 % - % mortalité) puis en unités probit conformément à la table p. 71

. une fois obtenues les valeurs des doses en "log" et des pourcentages de survie en "probit", on procède au calcul de la droite de régression qui s'effectue sur une calculatrice programmable ; celle-ci nous fournit donc l'équation de la régression et le coefficient de corrélation, à partir desquels on calculera les tests d'ajustement des points sur la droite théorique obtenue, la CL 50 et la dose PPDS.

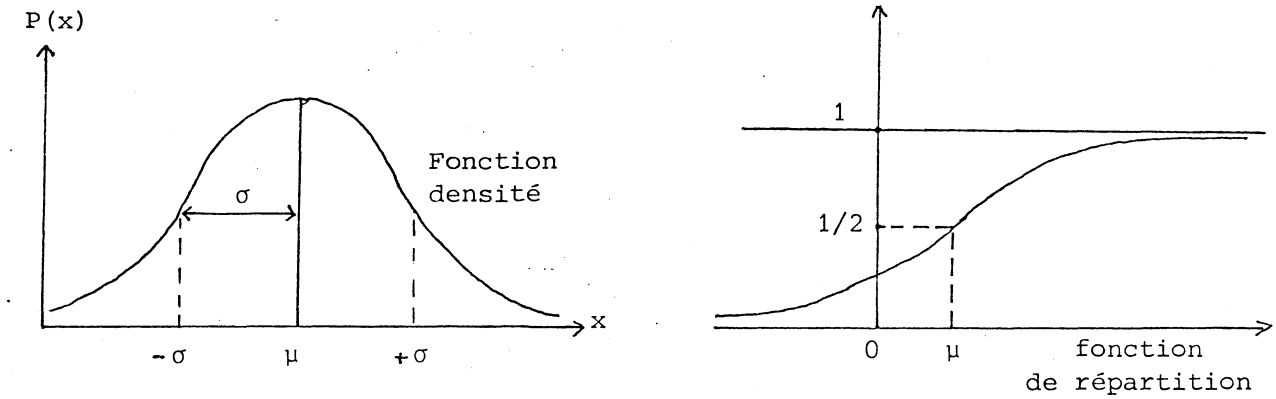
Voyons maintenant plus précisément en quoi consiste la transformation probit.

a) Rappels : soit x un paramètre, c'est-à-dire quelque chose de controlable, par exemple une dose de produit chimique, soit P un pourcentage, par exemple le pourcentage d'in-

sectes tués par la dose de produit x. P est une fonction sigmoïdale de x, cela signifie que le graphe de P a l'allure d'une courbe en S.




Dire que P est de type sigmoïdal, cela signifie que le graphe est du même genre, de même nature qu'une fonction de répartition d'une loi normale.




$X \sim N(\mu, \sigma^2)$ $\begin{cases} \mu = E(X) \\ \sigma^2 = Var(X) \end{cases}$

On modélise en faisant l'hypothèse qu'il existe $X \sim N(\mu, \sigma^2)$ telle que la fonction P(x) soit la fonction de répartition de X, on a alors :

$$P(x) = \Pi\left[\frac{x - \mu}{\sigma^2}\right] = P(X < x)$$

b) La transformation probit

Soit une distribution expérimentale de centre de classe x et avec les fréquences cumulées F(x). On fait l'hypothèse que ces fréquences peuvent être assimilées aux probabilités P(x) de x dans une distribution normale $N(\mu, \sigma)$ donc aux probabilités qui leur sont égales P(X) des variables réduites

$$X = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Connaissant F(x) on trouve P(X)

exemple : si $F(x) = 0,30 \rightarrow P(X) = 0,5 - 0,2$

$X = - 0,52$

$X' = - 0,52 + 5 =$ probit de $X = 4,48$

si $F(X) = 0,70 \rightarrow P(X) = 0,5 + 0,2$

$X = + 0,52$

$X' = 5,52$

Dans une distribution de Laplace Gauss, probit et variable sont liés par la relation :

$$X' - 5 = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

équation d'une droite dite droite de Henry : X' est fonction linéaire de x.

Donc, à toute fréquence cumulée, on peut associer une valeur probit, et, plus généralement, on considère que toute grandeur comprise entre 0 et 1 (des pourcentages de mortalité par exemple) peut être soumise à la transformation probit. C'est ainsi que l'on a dressé des tables de valeur "probit" toutes faites, telle celle dont nous nous sommes servis.

Les chercheurs en toxicologie qui l'ont bâtie, ont adopté une convention spéciale pour les valeurs extrêmes 0 et 1 ; d'après le schéma théorique (p. 74) , on s'aperçoit que la probabilité d'avoir une dose efficace est d'autant plus faible que l'on s'éloigne de la moyenne $\mu$, donc que la probabilité d'avoir une dose non efficace ou nulle est d'autant plus grande.

Pour la valeur 0, déterminée pour une dose sans effet à laquelle on doit attribuer une probabilité de l'effet nul très grande (théoriquement égale à 1-0,5), la valeur probit correspondante est de $+ \infty$. Or, par convention, on admet la valeur probit de 11 pour la valeur 0 et celle de - 1 pour la valeur 1, ce qui correspond au fait que l'on retire dans le premier cas et que l'on ajoute dans l'autre 6 fois la valeur de l'écart type. En effet, plus on s'éloigne de la valeur moyenne $\mu$, plus on a de chance d'affirmer avec sécurité que l'on a une dose nulle ou une dose à effet total.

| % | Probit | % | Probit | % | Probit |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 11,0000 | 34 | 5,4125 | 68 | 4,5323 |
| 1 | 7,3263 | 35 | 5,3853 | 69 | 4,5041 |
| 2 | 7,0537 | 36 | 5,3585 | 70 | 4,4756 |
| 3 | 6,8808 | 37 | 5,3319 | 71 | 4,4466 |
| 4 | 6,7507 | 38 | 5,3055 | 72 | 4,4172 |
| 5 | 6,6449 | 39 | 5,2793 | 73 | 4,3872 |
| 6 | 6,5548 | 40 | 5,2533 | 74 | 4,3567 |
| 7 | 6,4758 | 41 | 5,2275 | 75 | 4,3255 |
| 8 | 6,4051 | 42 | 5,2019 | 76 | 4,2937 |
| 9 | 6,3408 | 43 | 5,1764 | 77 | 4,2612 |
| 10 | 6,2816 | 44 | 5,1510 | 78 | 4,2278 |
| 11 | 6,2265 | 45 | 5,1257 | 79 | 4,1936 |
| 12 | 6,1750 | 46 | 5,1004 | 80 | 4,1584 |
| 13 | 6,1264 | 47 | 5,0753 | 81 | 4,1221 |
| 14 | 6,0803 | 48 | 5,0502 | 82 | 4,0846 |
| 15 | 6,0364 | 49 | 5,0251 | 83 | 4,0458 |
| 16 | 5,9945 | 50 | 5,0000 | 84 | 4,0055 |
| 17 | 5,9542 | 51 | 4,9749 | 85 | 3,9636 |
| 18 | 5,9154 | 52 | 4,9498 | 86 | 3,9177 |
| 19 | 5,8779 | 53 | 4,9247 | 87 | 3,8736 |
| 20 | 5,8416 | 54 | 4,8996 | 88 | 3,8250 |
| 21 | 5,8064 | 55 | 4,8743 | 89 | 3,7735 |
| 22 | 5,7722 | 56 | 4,8490 | 90 | 3,7184 |
| 23 | 5,7388 | 57 | 4,8236 | 91 | 3,6592 |
| 24 | 5,7063 | 58 | 4,7981 | 92 | 3,5949 |
| 25 | 5,6745 | 59 | 4,7725 | 93 | 3,5242 |
| 26 | 5,6433 | 60 | 4,7464 | 94 | 3,4452 |
| 27 | 5,6128 | 61 | 4,7207 | 95 | 3,3551 |
| 28 | 5,5828 | 62 | 4,6945 | 96 | 3,2493 |
| 29 | 5,5534 | 63 | 4,6681 | 97 | 3,1192 |
| 30 | 5,5244 | 64 | 4,6415 | 98 | 2,9463 |
| 31 | 5,4959 | 65 | 4,6147 | 99 | 2,6737 |
| 32 | 5,4677 | 66 | 4,5875 | 100 | -1,0000 |
| 33 | 5,4399 | 67 | 4,5601 | | |

TABLE DES VALEURS "PROBIT" : la valeur des probits correspondant à chaque proportion a été calculée à l'aide d'une calculatrice Programme 652 Olivetti, programmée par Lowy (Laboratoire de biologie du C.N.A.M., Paris).

# V. TABLE DE LA DISTRIBUTION DE $t$

| Degrés de liberté | Probabilité d'avoir une valeur supérieure, quel que soit le signe | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.500 | 0.400 | 0.200 | 0.100 | 0.050 | 0.025 | 0.010 | 0.005 | 0.001 |
| 1 | 1.000 | 1.376 | 3.078 | 6.314 | 12.706 | 25.452 | 63.657 | | |
| 2 | 0.816 | 1.061 | 1.886 | 2.920 | 4.303 | 6.205 | 9.925 | 14.089 | 31.598 |
| 3 | .765 | 0.978 | 1.638 | 2.353 | 3.182 | 4.176 | 5.841 | 7.453 | 12.941 |
| 4 | .741 | .941 | 1.533 | 2.132 | 2.776 | 3.495 | 4.604 | 5.598 | 8.610 |
| 5 | .727 | .920 | 1.476 | 2.015 | 2.571 | 3.163 | 4.032 | 4.773 | 6.859 |
| 6 | .718 | .906 | 1.440 | 1.943 | 2.447 | 2.969 | 3.707 | 4.317 | 5.959 |
| 7 | .711 | .896 | 1.415 | 1.895 | 2.365 | 2.841 | 3.499 | 4.029 | 5.405 |
| 8 | .706 | .889 | 1.397 | 1.860 | 2.306 | 2.752 | 3.355 | 3.832 | 5.041 |
| 9 | .703 | .883 | 1.383 | 1.833 | 2.262 | 2.685 | 3.250 | 3.690 | 4.781 |
| 10 | .700 | .879 | 1.372 | 1.812 | 2.228 | 2.634 | 3.169 | 3.581 | 4.587 |
| 11 | .697 | .876 | 1.363 | 1.796 | 2.201 | 2.593 | 3.106 | 3.497 | 4.437 |
| 12 | .695 | .873 | 1.356 | 1.782 | 2.179 | 2.560 | 3.055 | 3.428 | 4.318 |
| 13 | .694 | .870 | 1.350 | 1.771 | 2.160 | 2.533 | 3.012 | 3.372 | 4.221 |
| 14 | .692 | .868 | 1.345 | 1.761 | 2.145 | 2.510 | 2.977 | 3.326 | 4.140 |
| 15 | .691 | .866 | 1.341 | 1.753 | 2.131 | 2.490 | 2.947 | 3.286 | 4.073 |
| 16 | .690 | .865 | 1.337 | 1.746 | 2.120 | 2.473 | 2.921 | 3.252 | 4.015 |
| 17 | .689 | .863 | 1.333 | 1.740 | 2.110 | 2.458 | 2.898 | 3.222 | 3.965 |
| 18 | .688 | .862 | 1.330 | 1.734 | 2.101 | 2,445 | 2.878 | 3.197 | 3.922 |
| 19 | .688 | .861 | 1.328 | 1.729 | 2.093 | 2.433 | 2.861 | 3.174 | 3.883 |
| 20 | .687 | .860 | 1.325 | 1.725 | 2.086 | 2.423 | 2.845 | 3.153 | 3.850 |
| 21 | .686 | .859 | 1.323 | 1.721 | 2.080 | 2.414 | 2.831 | 3.135 | 3.819 |
| 22 | .686 | .858 | 1.321 | 1.717 | 2.074 | 2.406 | 2.819 | 3.119 | 3.792 |
| 23 | .685 | .858 | 1.319 | 1.714 | 2.069 | 2.398 | 2.807 | 3.104 | 3.767 |
| 24 | .685 | .857 | 1.318 | 1.711 | 2.064 | 2.391 | 2.797 | 3.090 | 3.745 |
| 25 | .684 | .856 | 1.316 | 1.708 | 2.060 | 2.385 | 2.787 | 3.078 | 3.725 |
| 26 | .684 | .856 | 1.315 | 1.706 | 2.056 | 2.379 | 2.779 | 3.067 | 3.707 |
| 27 | .684 | .855 | 1.314 | 1.703 | 2.052 | 2.373 | 2.771 | 3.056 | 3.690 |
| 28 | .683 | .855 | 1.313 | 1.701 | 2.048 | 2.368 | 2.763 | 3.047 | 3.674 |
| 29 | .683 | .854 | 1.311 | 1.699 | 2.045 | 2.364 | 2.756 | 3.038 | 3.659 |
| 30 | .683 | .854 | 1.310 | 1.697 | 2.042 | 2.360 | 2.750 | 3.030 | 3.646 |
| 35 | .682 | .852 | 1.306 | 1.690 | 2.030 | 2.342 | 2.724 | 2.996 | 3.591 |
| 40 | .681 | .851 | 1.303 | 1.684 | 2.021 | 2.329 | 2.704 | 2.971 | 3.551 |
| 45 | .680 | .850 | 1.301 | 1.680 | 2.014 | 2.319 | 2.690 | 2.952 | 3.520 |
| 50 | .680 | .849 | 1.299 | 1.676 | 2.008 | 2.310 | 2.678 | 2.937 | 3.496 |
| 55 | .679 | .849 | 1.297 | 1.673 | 2.004 | 2.304 | 2.669 | 2.925 | 3.476 |
| 60 | .679 | .848 | 1.296 | 1.671 | 2.000 | 2.299 | 2.660 | 2.915 | 3.460 |
| 70 | .678 | .847 | 1.294 | 1.667 | 1.994 | 2.290 | 2.648 | 2.899 | 3.435 |
| 80 | .678 | .847 | 1.293 | 1.665 | 1.989 | 2.284 | 2.638 | 2.887 | 3.416 |
| 90 | .678 | .846 | 1.291 | 1.662 | 1.986 | 2.279 | 2.631 | 2.878 | 3.402 |
| 100 | .677 | .846 | 1.290 | 1.661 | 1.982 | 2.276 | 2.625 | 2.871 | 3.390 |
| 120 | .677 | .845 | 1.289 | 1.658 | 1.980 | 2.270 | 2.617 | 2.860 | 3.373 |
| ∞ | .6745 | .8416 | 1.2816 | 1.6448 | 1.9600 | 2.2414 | 2.5758 | 2.8070 | 3.2905 |

* Une partie de cette table est reproduite, avec l'autorisation de R.A. Fisher, de *Statistical Methods for Research Workers*, publiée par Oliver and Boyd, Edimbourg (1925-1950) ; de Maxine Merrington « *Table of percentage Points of the t Distribution* » Biometrika, 32 : 300 (1942) et de Bernard Ostle « *Statistics in Research* », Iowa State University Press (1954).